



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

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
I) ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΑ II) ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Μελέτη της επίδρασης του ξεφυλλίσματος στα φαινολικά συστατικά της σταφυλής τεσσάρων γηγενών οινοποιήσιμων ποικιλιών, Ασύρτικο, Ροδίτη, Μοσχοφίλερο και Βιδιανό

Ελένη Ν. Γκλιάρα

Επιβλέπων καθηγητής:
Γιώργος Κοτσερίδης, Καθηγητής ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ
2024**

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

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Μελέτη της επίδρασης του ξεφυλλίσματος στα φαινολικά συστατικά της σταφυλής τεσσάρων γηγενών οινοποιήσιμων ποικιλιών, Ασύρτικο, Ροδίτη, Μοσχοφίλερο και Βιδιανό

Study of the effect of leaf removal on the phenolic components of the grapes of four indigenous wine-making varieties, Assyrtiko, Roditi, Moschofilero and Vidiano

Ελένη Ν. Γκλιάρα

Εξεταστική Επιτροπή:

Γιώργος Κοτσερίδης, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Σταματίνα Καλλίθρακα, Καθηγήτρια ΓΠΑ

Στέφανος Κουνδουράς, Καθηγητής ΑΠΘ

Μελέτη της επίδρασης του ξεφυλλίσματος στα φαινολικά συστατικά της σταφυλής τεσσάρων γηγενών οινοποιήσιμων ποικιλιών, Ασύρτικο, Ροδίτη, Μοσχοφίλερο και Βιδιανό

*ΠΜΣ Σύγχρονη Τεχνολογία Τροφίμων Ι) Γαλακτοκομία ΙΙ) Οινολογία
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου
Εργαστήριο Οινολογίας & Αλκοολούχων Ποτών*

Περίληψη

Η συγκεκριμένη μεταπτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, σε συνεργασία με το εργαστήριο Αμπελουργίας του Τμήματος Γεωπονίας του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης τη χρονιά 2022-2023. Μελετήθηκε η επίδραση του ξεφυλλίσματος στα φαινολικά συστατικά κατά τον περκασμό σε τέσσερις γηγενείς, λευκές οινοποιήσιμες ποικιλίες, το Ασύρτικο, τον Ροδίτη, το Μοσχοφίλερο και το Βιδιανό ως προς τα σταφύλια. Σε αμπελώνες της περιοχής της Νεμέας εφαρμόστηκε αφαίρεση των φύλλων (ξεφύλλισμα). Μερικά από τα φυτά χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες και δεν έγινε αφαίρεση φύλλων, ενώ στα υπόλοιπα έγινε εντατικό ξεφύλλισμα, κατά το διάστημα του περκασμού. Έγιναν μετρήσεις για την μεταβολή του μεγέθους των ραγών και των σταφυλών. Επίσης έγιναν μετρήσεις για την ενεργό οξύτητα (pH), την ολική ογκομετρούμενη οξύτητα και τα ολικά διαλυτά στερεά (Brix). Στη συγκεκριμένη εργασία μελετήθηκαν και έγιναν αναλύσεις για τα φαινολικά συστατικά των ποικιλιών μετά το ξεφύλλισμα. Ο προσδιορισμός των φαινολικών συστατικών πραγματοποιήθηκε σε λυοφιλωμένους φλοιούς σταφυλιών σε σύστημα LC-QTOF. Οι δυνατότητες του σύγχρονου συστήματος LC-QTOF δίνουν την δυνατότητα ανάπτυξης μιας διευρυμένης μεθοδολογίας που επιτρέπει την ταυτοποίηση πιθανών δευτερογενών μεταβολιτών σε μια ενιαία χρωματογραφική ανάλυση. Στις 4 ποικιλίες εντοπίστηκαν και ταυτοποιήθηκαν συγκεκριμένες ομάδες φαινολικών, και στην κάθε ποικιλία ξεχωριστά παρατηρήθηκαν κάποιες αλλαγές στην συγκέντρωσή τους μετά την εφαρμογή της μεθόδου του ξεφυλλίσματος. Στα φαινολικά συστατικά παρουσιάστηκαν ιδιαίτερες μεταβολές, συγκρινόμενα με ή χωρίς την εφαρμογή του ξεφυλλίσματος. Σημαντικά ήταν τα αποτελέσματα που προέκυψαν για την ισοραμνετίνη, μια ένωση που απασχόλησε και τις 4 ποικιλίες, καθώς υπήρχαν διάφορες αυξομειώσεις. Σαν συμπέρασμα από την παρούσα μελέτη προέκυψε, ότι το ξεφύλλισμα κατά του στάδιο του περκασμού, δεν είναι απαραίτητο να οδηγήσει τελικά σε αποδοτικότερα σταφύλια, όσον αναφορά τα φαινολικά συστατικά, και τελικά και σε αποδοτικότερους παραγόμενους οίνους.

Επιστημονική περιοχή: Αμπελουργία

Λέξεις κλειδιά: Ξεφύλλισμα, Ασύρτικο, Μοσχοφίλερο, Βιδιανό, Ροδίτης, φαινολικά συστατικά, ράγες, LC-QTOF

Study of the effect of leaf removal on the phenolic components of the grapes of four indigenous wine-making varieties, Assyrtiko, Roditi, Moschofilero and Vidiano

*MSc Current Food Technology. I) Dairy Science & Technology II) Oenology
Department of Food Science & Human Nutrition
Laboratory of Oenology & Alcoholic Drinks*

Abstract

This master's thesis was prepared at the Agricultural University of Athens, in collaboration with the Viticulture Laboratory of the Department of Agriculture of the Aristotle University of Thessaloniki in the year 2022-2023. The effect of leaf removal on the phenolic constituents during veraison was studied in four indigenous white wine grape varieties, Assyrtiko, Roditis, Moschofilero and Vidiano in terms of grapes. Leaf removal was applied to vineyards in the Nemea region. Some plants were used as a control and no leaves were removed, while the rest were intensively defoliated during the period of veraison. Measurements were made in the vineyard for the water potential of the leaves and for the change in the size of the vines and grapes. Measurements were also made for active acidity (pH), total volumetric acidity and total soluble solids (Brix). In this work, were studied and analyzed the phenolic components of the cultivars after the defoliation. Their content in the grapes depends on the variety, but is also influenced by the growth environment of the stems, cultivation techniques and the stage of ripening of the grapes. The determination of phenolic components was performed on freeze-dried grape skins in an LC-QTOF system. The capabilities of the modern LC-QTOF system enable the development of an expanded methodology that allows the identification of potential secondary metabolites in a single chromatographic analysis. In the 4 varieties, some specific groups of phenolics were detected and identified, and in each variety separately, some changes in their concentration were observed after the application of the defoliation method. The phenolic components showed particular changes, compared with or without the application of defoliation. Important were the results obtained for isorhamnetin, a compound that occupied all 4 varieties, as there were various fluctuations. As a conclusion from the present study, it emerged that defoliation against the veraison stage does not necessarily lead to more efficient grapes, as far as the phenolic components are concerned, and ultimately to more efficient produced wines.

Scientific area: Viticulture

Key words: Defoliation, veraison, Assyrtiko, Roditis, Moschofilero, Vidiano, phenolic content, berries, LC-QTOF

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη	3
Abstract	4
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	5
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1.1 Ιστορικές πληροφορίες	9
1.2 Δομή σταφυλιού.....	9
1.3 Ανάπτυξη της ράγας	11
1.4 Συστατικά των ραγών	13
1.4.1 Οργανικά Οξέα	13
1.4.2 Σάκχαρα	14
1.4.3 Αζωτούχες ενώσεις	14
1.4.4 Αρωματικές ενώσεις	14
1.5 Παρουσία φαινολικών συστατικών στο σταφύλι	15
1.5.1 Τανίνες.....	16
1.5.2 Ανθοκυάνες.....	16
1.5.3 Φλαβονόλες.....	17
1.5.4 Υδροξυκιναμμωμικά οξέα	18
1.5.5 Στιλβένια.....	19
1.6 Καλλιεργητικές επεμβάσεις	19
1.6.1 Πυκνότητα φύτευσης- Συστήματα διαμόρφωσης.....	20
1.6.2 Κλάδεμα.....	20
1.6.3 Βλαστολόγημα	21
1.6.4 Κορυφολόγημα	21
1.7 Ξεφύλλισμα.....	21
1.7.1 Χρόνος εφαρμογής ξεφυλλίσματος	22
1.7.2 Επίδραση του ξεφυλλίσματος στα σταφύλια.....	24
1.8 Λευκή οινοποίηση.....	26
1.9 Οι ποικιλίες	27
1.9.1 Ασύρτικο	27
1.9.2 Ροδίτης	29
1.9.3 Μοσχοφίλερο	30

1.9.4 Βιδιανό.....	31
1.10 Υγρή χρωματογραφία	32
1.11 Φασματομετρία μαζών.....	32
1.11.1 Αναλυτές μαζών.....	33
1.11.2 Αναλυτής μαζών «χρόνου πτήσης» (Time of Flight-TOF)	34
1.12 Παράμετροι αξιολόγησης αναλυτικής μεθόδου	35
1.12.1 Γραμμικότητα	35
1.12.2 Ευαισθησία – Όρια Ευαισθησίας: Όριο ανίχνευσης (LOD) και όριο ποσοτικής αποτίμησης (LOQ)	36
1.12.3 Επίδραση υποστρώματος (matrix effect).....	36
1.12.4 Ανάκτηση (recovery) μεθόδου	37
1.13 Σκοπός της μελέτης.....	37
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	38
2.1 Δειγματοληψίες.....	38
2.2 Προετοιμασία λυοφιλωμένων δειγμάτων φλοιών και σάρκας	38
2.3 Αντιδραστήρια	39
2.4 Όργανα και συσκευές	39
2.5 Λυοφιλίωση ή κρυοξήρανση	39
2.5.1 Συνθήκες λυοφιλίωσης	40
2.5.2 Εφαρμογές της λυοφιλίωσης	41
2.6 Εκχύλιση των φαινολικών συστατικών	41
2.6.1 Πρωτόκολλο εκχύλισης φαινολικών συστατικών	42
2.6.2 Ποσοτικός προσδιορισμός φαινολικών	43
2.6.3 Μέθοδος χρωματογραφικής ανάλυσης LC-QTOF-MS/MS	43
2.7 Βασικές αναλύσεις γλεύκους.....	44
2.7.1 Ενεργός οξύτητα (pH)	44
2.7.2 Ολική ογκομετρούμενη οξύτητα	44
2.7.3 Ολικά διαλυτά στερεά (Brix).....	45
2.8 Στατιστική ανάλυση.....	45
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	46
3.1 Φαινολικά πριν την εφαρμογή του ξεφυλλίσματος.	50
3.1.1. Φαινολικά στο Ασύρτικο.	50
3.1.2. Φαινολικά στο Μοσχοφίλερο.	51
3.1.3 Φαινολικά στον Ροδίτη	51

3.1.4 Φαινολικά στο Βιδιανό	52
3.2. Περιεκτικότητα (%) φαινολικών ενώσεων	53
3.3. Διαφορές των φαινολικών πριν και μετά το ξεφύλλισμα	54
3.4. Ποσοστά κατηγοριών των φαινολικών πριν και μετά το ξεφύλλισμα.	59
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	61
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	62
5.1 Διεθνής βιβλιογραφία	62
5.2 Ελληνική βιβλιογραφία.....	66
5.3 Ιστοσελίδες	66

Ευχαριστίες

Για την ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους ανθρώπους του Εργαστηρίου Οινολογίας και πιο συγκεκριμένα τον καθηγητή και επιβλέποντα της μελέτης, κ. Κοτσερίδη Γεώργιο. Επίσης τον καθηγητή κ. Κουνδουρά Στέφανο για την στήριξη κατά την εργασία και την παραχώρηση του εργαστηρίου αμπελουργίας του τμήματος της Γεωπονίας του ΑΠΘ, καθώς και την κα. Καλλίθρακα Σταματίνα για όλη την υποστήριξη. Φυσικά ένα ευχαριστώ στην κα. Προξενιά Νίκη για την συνεχή βοήθεια στο εργαστήριο και στην μετέπειτα ολοκλήρωση της εργασίας, αλλά και ένα μεγάλο ευχαριστώ στην υποψήφια διδάκτωρ Καραδήμου Χριστίνα για την καθοδήγηση, την υπομονή και τη στήριξη σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης και συγγραφής της εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου για τη δύναμη και την βοήθεια που μου προσφέρουν σε κάθε μου βήμα.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ιστορικές πληροφορίες

Το φυτό της αμπέλου ανήκει στην οικογένεια των φυτών *Vitaceae*, από την οποία το πιο σημαντικό είδος είναι το *Vitis vinifera* απ' όπου προέρχεται το 90% της συνολικής παγκόσμιας παραγωγής σταφυλιών. Η άμπελος, όπως αποδεικνύεται από το γεγονός ότι η καλλιέργειά της ξεκίνησε πριν από 6000 χρόνια πριν, ήταν, αν όχι το πρώτο, από τα πρώτα φυτά που καλλιέργησε ο άνθρωπος (Soleas et al.,1997).

Έρευνες και αναλύσεις δείχνουν ότι η καλλιέργεια του αμπελιού ξεκίνησε σε δύο διαφορετικά σημεία, στη Δυτική Ασία και τον Νότιο Καύκασο, με τη δεύτερη περιοχή να είναι αυτή που πρωταγωνίστησε στην διεθνή εξημέρωση του αμπελιού. Στη χώρα μας η πρώτη καλλιέργεια αμπελιού έγινε στην Κρήτη, ενώ σύμφωνα με κάποιους άλλους ερευνητές πραγματοποιήθηκε στη Θράκη. Ο Όμηρος κατά τα ομηρικά χρόνια κάνει συχνές αναφορές στο αμπέλι καθώς και στο κρασί, το οποίο καταναλώνονταν συχνά στα συμπόσια και τις γιορτές των ηρώων, όπως μπορούμε να δούμε μέσα στα έργα του την Ιλιάδα και την Οδύσσεια.

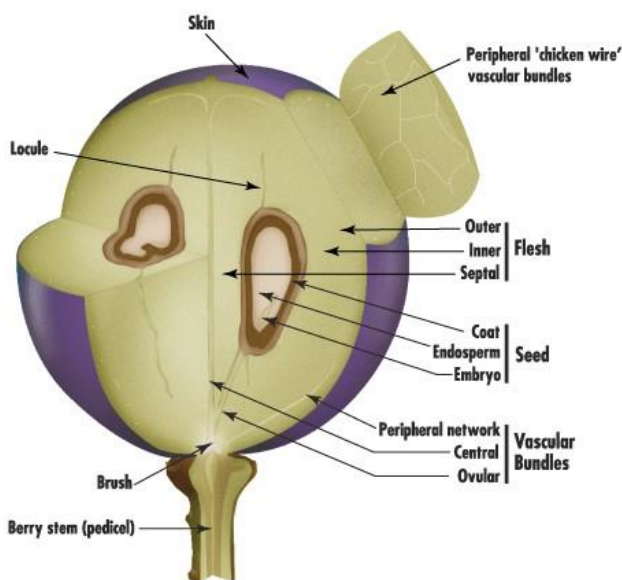
Οι Ρωμαίοι γνώρισαν και εξοικειώθηκαν με το κρασί χάρη στους Έλληνες αποίκους και τους γηγενείς Ετρούσκους. Η Ρώμη όμως κατέρρευσε και οι λαοί άρχισαν να μεταναστεύουν, έτσι και η αμπελουργία πέρασε από μια περίοδο ύφεσης. Η αμπελουργία διασώθηκε καθώς βασίστηκε σε κληρικούς και μοναχούς, οι οποίοι είχαν ανάγκη το κρασί για τελετουργικούς σκοπούς. Τελικά, την εποχή του Μεσαίωνα η τέχνη του κρασιού γνώρισε και πάλι ανοδική πορεία (Soleas et al.,1997). Στα Βυζαντινά χρόνια στους μοναχούς και κατ' επέκταση στην Εκκλησία ανήκε το μεγαλύτερο ποσοστό από τις εκτάσεις γης με αποτέλεσμα αυτοί να είναι οι μεγαλύτεροι καλλιεργητές αμπελιών και επομένως και παραγωγής κρασιού. Στη Δυτική πλευρά κατά τη διάρκεια του 16^{ου} αιώνα το κρασί έχει μεγάλη απήχηση και ξεκινάει η εξάπλωσή του σε διάφορες χώρες όπως για παράδειγμα η Γαλλία και η Ισπανία. Την ίδια στιγμή στο κρασί γίνονται διάφορες καινοτόμες αλλαγές, με το να χρησιμοποιούνται φιάλες από γυαλί για την αποθήκευσή του ή ακόμα κάνει και ο φελλός την εμφάνισή του. (Τσακίρης & Παπούλιας, 1996).

Τη σήμερον ημέρα, σε κάθε άκρη του κόσμου, η καλλιέργεια του αμπελιού έχει ως στόχο να παράξει σταφύλια με την υψηλότερη δυνατή ποιότητα σε όσο το δυνατόν γίνεται μικρές στρεμματικές αποδόσεις. Οι ποικιλίες μπορεί να είναι παραδοσιακές ή και διεθνείς. (Fregoni, 2013).

1.2 Δομή σταφυλιού

Το σταφύλι, ή αλλιώς ράγα, αποτελεί τον καρπό του αμπελιού. Ράγα, ως όρος της βοτανικής, αναφέρεται ένας καρπός ο οποίος προέρχεται από κάποιο άνθος που περιέχει μία ωοθήκη. Ο καρπός της ράγας μπορεί να έχει ένα ή και περισσότερα σπέρματα. Κατά τα λεγόμενα της Pratt (1971), η ράγα του σταφυλιού δημιουργείται από τα γίγαρτα και το περικάρπιο. Πιο συγκεκριμένα το δεύτερο, είναι το κομμάτι του καρπού από την εξωτερική πλευρά του μέχρι και τα γίγαρτα και αποτελείται, από έξω προς τα μέσα, από πέντε μέρη: 1) την επιδερμίδα, 2) το υπόδερμα, 3) το εξωτερικό τοίχωμα, 4) το εσωτερικό τοίχωμα και 5) την εσωτερική επιδερμίδα. Από την άλλη

πλευρά και σύμφωνα με μία άλλη άποψη, κατά τον Fournioux (1982) ο καρπός (εικόνα 1.) αποτελείται από 3 τμήματα: 1) το περικάρπιο ή αλλιώς φλοιό, το οποίο με τη σειρά του αποτελείται στην ουσία από την εφυμενίδα, την επιδερμίδα και το υπόδερμα, 2) το μεσοκάρπιο ή σάρκα και 3) το ενδοκάρπιο το οποίο και αποτελεί το εσωτερικό της σάρκας και βρίσκεται κοντά στα γίγαρτα (Mullins et al., 1990).



Εικόνα 1: Δομή ώριμης ράγας σταφυλιού (Kennedy, 2002)

A. ΦΛΟΙΟΣ

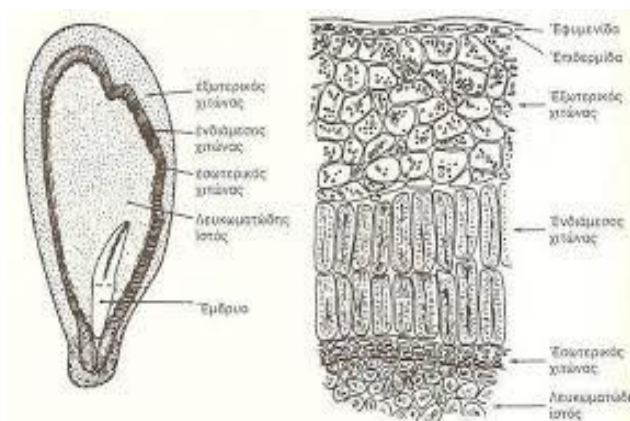
Ο φλοιός, το εξωτερικό της ράγας, συμμετέχει στο 5-10% του συνολικού βάρους μιας ράγας σταφυλιού. Εμβαθύνοντας, η εφυμενίδα του φλοιού κατά κύριο λόγο αποτελείται από κηρώδεις ουσίες, οι οποίες με τη σειρά τους συνιστούν τη κηρώδη ανθηρότητα. Οι ιστοί του φλοιού, είναι γενικότερα πιο πλούσιοι σε βιταμίνη C και σε αυτόν κυρίως εμπεριέχονται, οι χρωστικές ουσίες, που δίνουν το χρώμα τελικά στα ροζέ και ερυθρά κρασιά, οι αρωματικές ενώσεις καθώς και ενώσεις που ευθύνονται για τη γεύση (Mullins et al., 1990). Η επιδερμίδα αποτελείται από μία στιβάδα λεπτών κυττάρων και είναι πλούσια σε αρωματικές και πρόδρομες αρωματικές ενώσεις. Οι ενώσεις αυτές είναι μοναδικές και χαρακτηριστικές για την κάθε ποικιλία στην οποία τελικά δίνουν τα μοναδικά της αρώματα. Τέλος, το υπόδερμα συνίσταται από στιβάδες κυττάρων με λεπτά τοιχώματα, όπου εκεί εμπεριέχονται οι ανθοκυάνες, υπεύθυνες για το χρώμα των κρασιών.

B. ΣΑΡΚΑ

Η σάρκα αποτελείται από κάποιες στιβάδες κυττάρων, με επίσης λεπτά τοιχώματα, και διαχωρίζεται στο μεσοκάρπιο, αποτελούμενο από παρεγγυματικά κύτταρα (Hardie et al., 1996) πλούσια σε φαινολικά (Jackson et al., 2000) και σάκχαρα κατά το στάδιο της ωρίμανσης του σταφυλιού, και το ενδοκάρπιο, το οποίο περικλείει τα γίγαρτα και είναι πλούσια σε οξέα. Τα τοιχώματα των κυττάρων της σάρκας είναι αρκετά λεπτά, ιδίως στις οινοποιήσιμες ποικιλίες, προκειμένου εύκολα να μπορεί να απελευθερώνεται ο χυμός της σταφυλής κατά το στάδιο της πίεσης.

Γ. ΓΙΓΑΡΤΑ

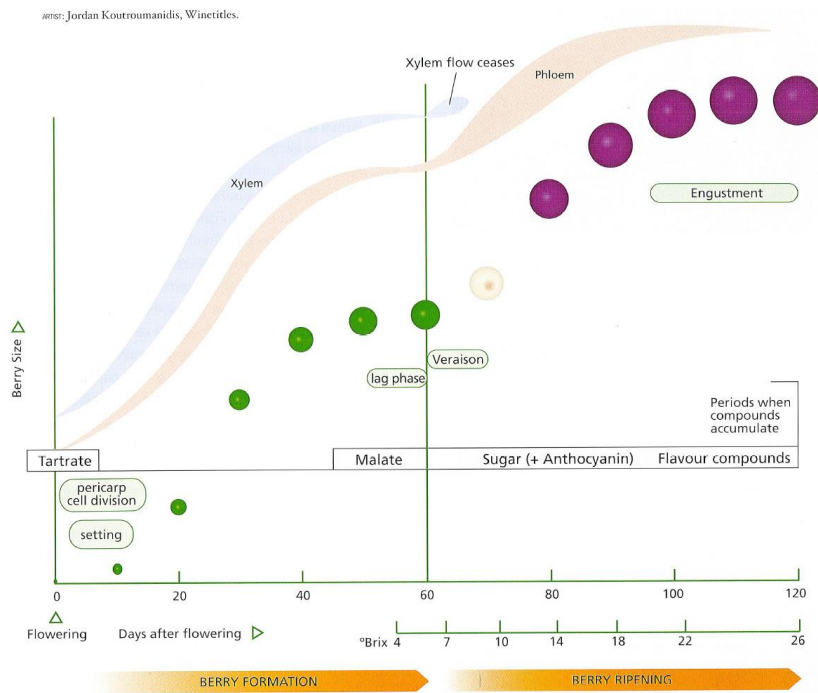
Τα γίγαρτα αποτελούν τους σπόρους της αμπέλου και σε κάθε ράγα μπορεί να υπάρχουν μέχρι 4 γίγαρτα (Keller et al., 2015), ενώ αποτελούν το 10% του βάρους της ράγας. Τα γίγαρτα αποτελούνται από το οξύ μέρος αυτών, το οποίο ονομάζεται ράμφος, και από το ωοειδές τμήμα, που ονομάζεται σώμα. Κάνοντας μία τομή σε ένα γίγαρτο (εικόνα 2), γίνεται αντιληπτό ότι αυτό αποτελείται από ένα ζωντανό τμήμα, που καλείται σάρκα και το οποίο εξωτερικά προστατεύεται από το κέλυφος. Στο εσωτερικό της σάρκας του γιγάρτου υπάρχει το έμβρυο, που θα δώσει ένα νέο φυτό αμπέλου (Σουφλερός, 2012). Το κέλυφος του γιγάρτου αποτελείται από τρία στρώματα. Το εξωτερικό είναι μαλακό, αποτελεί το φλοιό του γιγάρτου. Το μεσαίο στρώμα είναι σκληρό, συνίσταται από 2-3 στοιβάδες κυττάρων, με πολύ παχιά τοιχώματα και πλούσια σε τανίνες. Το στρώμα αυτό είναι αδιαπέραστο στο νερό. Τέλος, το εσωτερικό στρώμα του κελύφους συντελείται από 2-3 στοιβάδες κυττάρων με μαλακά τοιχώματα και περιέχει λίγο άμυλο. Η σάρκα του γιγάρτου είναι πλούσια σε ελαιώδεις ουσίες, ρόδινο ή φαιού χρώματος. Τα γίγαρτα ανέρχονται σε 38-52 % σε ξηρή ύλη, αποτελώντας σημαντικό ποσοστό του βιομηχανικού υποπροϊόντος της διαδικασίας οινοποίησης. Συνολικά 36 ενώσεις γιγάρτων καταναμημένες σε τρεις μεγάλες κατηγορίες έχουν αναλυθεί στο σταφύλι, οι οποίες κατηγορίες είναι α) τα φαινολικά οξέα γιγάρτων, β) φλαβονοειδή (φλαβάν-3-όλη, προκυανιδίνες και άλλα φλαβονοειδή), και γ) άλλες ενώσεις (Σουφλερός, 2012). Είναι γνωστό ότι τα γίγαρτα αποτελούν πλούσια πηγή τανίνης. Η συγκέντρωση τανινών των γιγάρτων μειώνεται με την αλλαγή του χρώματος της ράγας. Τα έλαια των γιγάρτων παραλαμβάνονται με διάφορα εκχυλιστικά μέσα.



Εικόνα 2: Διατομή γιγάρτου και απεικόνιση κελύφους (Levadoux, 1951)

1.3 Ανάπτυξη της ράγας

Μετά την καρπόδεση η ανάπτυξη του καρπού του αμπελιού ακολουθεί μια σιγμοειδή καμπύλη (εικόνα 3), η οποία αποτελείται από 3 διαφορετικές φάσεις (Jackson et al., 2000). Κάθε φάση έχει διαφορετική επιρροή στην τελική διαμόρφωση της ράγας αλλά και της συγκέντρωσης όλων των συστατικών της. Η ράγα, κατά τη συνολική διάρκεια και των 3 φάσεων, αυξάνει σε όγκο, βάρος, αλλάζουν τα φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά της και γενικά υπόκειται σε πολλές αλλαγές φυσικές και χημικές, όπως προαναφέρθηκε.



Εικόνα 3: Στάδια ανάπτυξης ράγας (Kennedy, 2002)

Α. ΦΑΣΗ

Η πρώτη φάση χαρακτηρίζεται ως περίοδος ταχύτατης ανάπτυξης. Διαρκεί από το στάδιο της καρπόδεσης έως το στάδιο του περκασμού, της αλλαγής δηλαδή του χρώματος της ράγας, και η διάρκειά της είναι 40-60 ημέρες. Κατά την διάρκειά της παρατηρείται έντονη κυτταρική διαίρεση η οποία κρατάει περίπου 5-6 εβδομάδες μετά την άνθιση. Σχεδόν δύο εβδομάδες μετά την άνθιση παρατηρείται επίσης αύξηση του μεγέθους της ράγας η οποία συνεχίζεται μέχρι το τέλος της α φάσης. Η ράγα αυξάνεται σε μέγεθος και συσσωρεύει διαλυτές ουσίες όπως το τρυγικό και μηλικό οξύ, ενώ η συσσώρευση των σακχάρων είναι χαμηλή. Το τρυγικό και το μηλικό οξύ συσσωρεύονται στον φλοιό και στη σάρκα των ραγών αντίστοιχα. Οι τανίνες επίσης συσσωρεύονται κατά την πρώτη φάση της ανάπτυξης των ραγών και παρουσιάζονται τόσο στον φλοιό όσο και στα γίγαρτα των ραγών (Kennedy, 2002). Προς το τέλος της α φάσης τα γίγαρτα έχουν ήδη αποκτήσει σχεδόν το τελικό τους μέγεθος.

Β. ΦΑΣΗ

Η δεύτερη φάση χαρακτηρίζεται ως φάση μείωσης του ρυθμού ανάπτυξης των ραγών αλλά αύξησης των γιγάρτων. Η συγκεκριμένη φάση ξεκινάει 35-60 μέρες μετά την άνθιση και διαρκεί 7-40 ημέρες. Η μεγάλη απόκλιση στα νούμερα, καθώς και το πόσο θα διαρκέσει η φάση αυτή, οφείλεται στο αν μια ποικιλία είναι πρώιμη ή όψιμη με γίγαρτα ή χωρίς καθώς φυσικά και από τον χρόνο άνθισης. Στο τέλος αυτής της φάσης οι ράγες έχουν αποκτήσει το τελικό τους μέγεθος σχεδόν, ενώ η οξύτητά τους έχει φτάσει στο μέγιστο (Mullins et al., 1990).

Γ. ΦΑΣΗ

Τέλος, η γ φάση διαρκεί 35-55 ημέρες και εδώ παρατηρείται μια γρήγορη αλλαγή της ράγας τόσο ως προς τη δομή αλλά και την εμφάνιση. Εδώ υπάρχει αλλαγή στο χρώμα των ραγών, στην ελαστικότητα τους, αυξάνονται τα σάκχαρα σε σημαντικό βαθμό, ενώ μειώνονται τα οξέα. Αυξάνονται επίσης οι ανθοκυάνες, οι χρωστικές και αρωματικές ενώσεις, ενώ μειώνονται το μηλικό οξύ, η αναπνοή των ραγών. Στο τελικό στάδιο

ανάπτυξης των ραγών, διπλασιάζεται το μέγεθος τους και παίρνουν το τελικό τους χρώμα. Οι ράγες φτάνουν στο τελικό τους μέγεθος περίπου 30 μέρες πριν τον τρύγο (Keller,2010).

Συμπερασματικά αν και η α φάση είναι η πιο σημαντική για την τελική ποιότητα της ράγας, στη γ φάση παρατηρείται μια μαζική αύξηση κάποιων συστατικών, όπως των σακχάρων, η οποία είναι το ίδιο σημαντική τελικά για την ποιότητα αλλά και την ανάπτυξη του καρπού της ράγας (Conde et al., 2007).

1.4 Συστατικά των ραγών

Καθ' όλη τη διάρκεια ανάπτυξης της ράγας παρατηρούνται διάφορες μεταβολές στη συσσώρευση των συστατικών- μεταβολιτών της. Η ράγα περιέχει διάφορους μεταβολίτες, οι οποίοι σε όλες τις φάσεις που προαναφέρθηκαν μεταβάλλεται η περιεκτικότητά τους, κάποιοι αυξάνονται, ενώ κάποιοι άλλοι μειώνονται με το πέρασμα του χρόνου.

1.4.1 Οργανικά Οξέα

Τα δύο από τα κυριότερα οξέα που απαντώνται στη ράγα είναι το τρυγικό και το μηλικό οξύ (Kanellis et al., 1993) και συνιστούν το 90% της συνολικής οξύτητας των ώριμων σταφυλιών. Αυτά είναι τα κυριότερα και στη μεγαλύτερη ποσότητα, υπάρχουν όμως και άλλα σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις όπως είναι το κιτρικό οξύ, το φουμαρικό οξύ, το γαλακτικό οξύ κ.ά. Μία σημαντική διευκρίνηση είναι πως το τρυγικό οξύ δεν συναντάται γενικώς στη φύση, αλλά μόνο στις ράγες τις αμπέλου, καθώς το φυτό της αμπέλου είναι το μοναδικό στην Ευρώπη που το συγκεντρώνει στους καρπούς της σε τόσο υψηλές συγκεντρώσεις (Νικολάου, 2011). Αντιθέτως, το μηλικό είναι αυτό που απαντάται σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς. Η συγκέντρωση των οργανικών οξέων γενικότερα φτάνει στα ανώτερα επίπεδα στο στάδιο αλλαγής του χρώματος της ράγας (περκασμός), καις τη συνέχεια παρατηρείται η πτώση τους, καθώς προχωράμε στο στάδιο της ωρίμανσης και αυξάνονται τα σάκχαρα.

Η συγκέντρωση του τρυγικού οξέος αυξάνεται μέχρι το στάδιο του περκασμού και έπειτα ξεκινάει η μείωσή του, μέχρι η ράγα να φτάσει στην ωρίμανση. Αυτή η πτώση αποδίδεται κατά μεγάλο ποσοστό στην αύξηση της αναπνευστικής δραστηριότητας (Mullins et al., 1990). Το μηλικό οξύ κάποιες εβδομάδες μετά τον περκασμό αρχίζει να φθίνει. Η μείωση του μηλικού οξέος από τη μία πλευρά μπορεί να αποδίδεται σε κάποια φυσικά φαινόμενα, όπως είναι η αύξηση του μεγέθους της ράγας, και από τη άλλη στον μεταβολισμό του (Harris et al., 1971). Το μηλικό οξύ για παράδειγμα είναι υπεύθυνο για την αύξηση της οξύτητας των κρασιών, διότι κατά τη μηλογαλακτική ζύμωση μετατρέπεται σε γαλακτικό, οξύ που δεν είναι τελικά τόσο όξινο όσο το μηλικό, και ως αποτέλεσμα αυτού αν γίνει μηλογαλακτική ζύμωση έχουμε τελικά μείωση της οξύτητας των κρασιών. Εκτός των δύο παραπάνω, το κιτρικό οξύ είναι ιδιαίτερα σημαντικό και μαζί με το τρυγικό και το μηλικό είναι τα τρία που καθορίζουν την ολική οξύτητα στο γλεύκος. Τη συγκέντρωση όλων αυτών είναι πολλοί παράγοντες που την καθορίζουν σε όλα τα στάδια ανάπτυξης της ράγας, μπορεί να είναι φυσιολογικοί παράγοντες, οι οποίοι δεν επιδέχονται μεταβολές καθώς εξαρτώνται από τις συνθήκες του περιβάλλοντος, αλλά μπορεί να είναι και παράγοντες παρεμβολής του ανθρώπου, γεγονός που σημαίνει ότι υπάρχει ανθρώπινη παρέμβαση.

1.4.2 Σάκχαρα

Τα σάκχαρα εντοπίζονται κυρίως στα φύλλα του φυτού είτε σε άλλα όργανα, όπως τις ρίζες. Οι ράγες της αμπέλου συγκεντρώνουν αρκετά σάκχαρα καθ' όλη τη διάρκεια ωρίμανσης τους. Αρχικά, μέχρι το στάδιο του περκασμού τα σάκχαρα συμβάλλουν αμελητέα στο βάρος των ραγών, ενώ όσο προχωράει η ωρίμανση τους και μέχρι το στάδιο του τρύγου, η συμμετοχή αυτή αυξάνεται σημαντικά ως προς το συνολικό νωπό βάρος τους. Τα σάκχαρα διακρίνονται σε αναγωγικά σάκχαρα, όπου συμπεριλαμβάνονται τα ζυμώσιμα σάκχαρα (εξόζες) και τα μη ζυμώσιμα (πεντόζες), και στα μη αναγωγικά, όπου υπάρχουν οι πολυσακχαρίτες των σταφυλιών και οι πολυσακχαρίτες των μικροοργανισμών (ζύμες). Σημαντικές χημικές ιδιότητες των αναγωγικών σακχάρων είναι: α) υδρολύονται σε όξινα pH, β) ισομερίζονται σε αλκαλικό περιβάλλον, γ) συμμετέχουν στις αντιδράσεις Maillard, οπότε παράγονται ενώσεις με οσμή και χρώμα και δ) οξειδώνονται. Η D- γλυκόζη και η D-φρουκτόζη είναι οι δύο πιο σημαντικές εξόζες που απαντώνται στα κύτταρα της ράγας (Νικολάου, 2011). Ο λόγος G/F είναι περίπου 1,5 στο στάδιο του περκασμού, ενώ όσο πλησιάζει η ωρίμανση ο λόγος αυτός φτάνει κοντά στο 1 και κατά την αλκοολική ζύμωση πέφτει κάτω από το 1. Η συγκέντρωση των σακχάρων σε μια ποικιλία δεν είναι πάντα σταθερή, επηρεάζεται όμως από παράγοντες, όπως είναι το κλίμα, η σύσταση του εδάφους, οι καλλιεργητικές τεχνικές, το υποκείμενο κ.ά. (Νικολάου, 2011). Το επίπεδο των υπολειπόμενων σακχάρων είναι αυτό που θα χαρακτηρίσει έναν οίνο τελικά ως ξηρό, ημίξηρο, ημίγλυκο ή γλυκό. Υπάρχουν και άλλα σημαντικά σάκχαρα, όπως η αραβινόζη και ξυλόζη (πεντόζες) ή η σακχαρόζη (δισακχαρίτης).

1.4.3 Αζωτούχες ενώσεις

Στις ράγες τα αζωτούχα συστατικά εντοπίζονται στις ανόργανες (αμμωνιακά άλατα) ή στις οργανικές μορφές τους (πρωτεΐνες, αμινοξέα). Τα αμινοξέα αποτελούν το 90-95% των αζωτούχων συστατικών στις ράγες των σταφυλιών, με κύριο τη γλουταμίνη (50%). Τα πιο σημαντικά ελεύθερα αμινοξέα είναι η προλίνη, η αργινίνη και ακολουθούν με χαμηλότερες συγκεντρώσεις η αλανίνη, το ασπαρτικό οξύ και το γλουταμικό οξύ. Η συγκέντρωση της προλίνης γίνεται κοντά στην ωρίμανση, 2 εβδομάδες νωρίτερα, ενώ η συγκέντρωση της αργινίνης ξεκινά πριν τον περκασμό και συνεχίζει μέχρι την ωρίμανση.

Το αμμωνιακό άζωτο υπερτερεί στις ράγες των σταφυλιών, όμως μετά το στάδιο της ωρίμανσης αρχίζει να μειώνεται και τελικά κατά την πλήρη ωρίμανση αντιπροσωπεύει μόνο το 10% του συνολικού αζώτου (Conde et al., 2007), ενώ τα αμινοξέα στην ώριμη ράγα αυξάνονται (Millery 1988) μέχρι και 5 φορές και καταλαμβάνουν το 30-40% του συνολικού αζώτου. Στην περίοδο της ωρίμανσης παρατηρείται και μια σύνθεση πρωτεϊνών, όπου το μέγιστό της πραγματοποιείται λίγο πριν την πλήρη ωρίμανση.

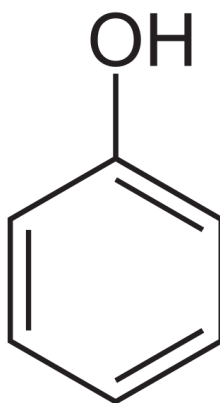
1.4.4 Αρωματικές ενώσεις

Το άρωμα θα έλεγε κανείς, πως είναι το πρώτο πράγμα που παρατηρεί κάποιος, μετά την εικόνα φυσικά, ενός σταφυλιού ή ενός κρασιού. Το άρωμα έρχεται πολύ πριν τη γεύση, είναι απόρροια πολλών χημικών ενώσεων, των οποίων η συγκέντρωση ποικίλει. Το πόσο πολύπλοκα είναι τα αρώματα σχετίζεται με πολλούς παράγοντες που μπορεί να ξεκινάνε από την ποικιλία, τις καλλιεργητικές τεχνικές, τις χημικές μεταβολές, μέχρι και τον τύπο και το είδος του βαρελιού που χρησιμοποιείται για την ωρίμανση του οίνου. Οι πιο συνήθεις ενώσεις που έχουν μελετηθεί για το φυτό της αμπέλου, είναι τα

τερπένια, που πρόκειται για αλκοόλες με 10 άτομα άνθρακα. Οι αρωματικές ενώσεις βρίσκονται στον φλοιό των ραγών. Οι πρόδρομες ουσίες για τη σύνθεσή τους βρίσκονται στα φύλλα, όμως η σύνθεση τους πραγματοποιείται μέσα στις ράγες (Mullins et al., 1990).

1.5 Παρουσία φαινολικών συστατικών στο σταφύλι

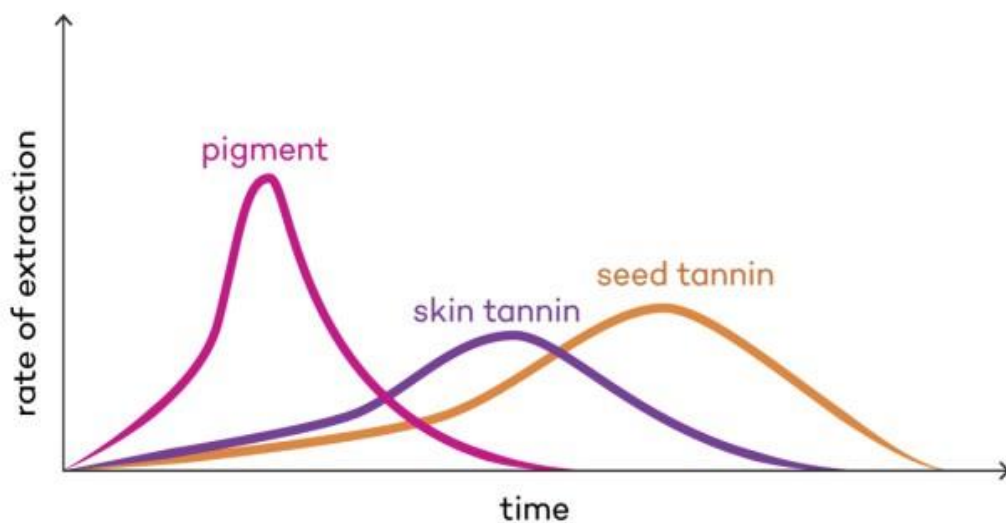
Αρχικά σε δείγματα μαρτύρων έπρεπε να μελετηθούν τα φαινολικά συστατικά πριν πραγματοποιηθεί η εφαρμογή της τεχνικής του ξεφυλλίσματος, ώστε να μπορέσουν να διαπιστωθούν τυχόν διαφορές. Τα φαινολικά συστατικά που εντοπίστηκαν στα προς μελέτη δείγματα, ανήκαν στα υδροξυκιναμωμικά οξέα (πρωτοκατεχικό οξύ, βανιλλικό οξύ, καφεϊκό οξύ, p-κουμαρικό οξύ, φερουλικό οξύ, συριγγικό οξύ, trans-καφαρικό οξύ, trans-φερταρικό οξύ), στα στυλβένια (trans- ρεσβερατρόλη) και στις άγλυκες φλαβονόλες (μυρικήτινη, ισοραμνετίνη).



Εικόνα 4: Δομή φαινολικής ένωσης.

Τα φαινολικά συστατικά ίσως και να είναι οι καθοριστικοί παράγοντες για την ποιότητα των προϊόντων της αμπέλου, αναφερόμενων του χρώματος, της γεύσης ή του αρώματος των σταφυλιών αλλά και την ποιότητα των παραγόμενων οίνων. Φαινολικές ονομάζονται οι ενώσεις, στις οποίες τα μόρια αποτελούνται από μία ή περισσότερες φαινολικές ομάδες. Φαινόλες δηλαδή, είναι τα υδροξυλιωμένα παράγωγα των αρωματικών υδρογονανθράκων, όπου περιέχουν ένα ή περισσότερα υδροξύλια (εικόνα 4). Έχουν αντιοξειδωτικές δράσεις και υπάρχουν σε διαφορετικά σημεία της ράγας. Τα φαινολικά συστατικά χωρίζονται σε δύο μεγάλες και βασικές κατηγορίες τα φλαβονοειδή και τα μη-φλαβονοειδή. Στην πρώτη κατηγοριοποιούνται οι προανθοκυανιδίνες (τανίνες), οι ανθοκυάνες και οι φλαβονόλες, ενώ στη δεύτερη τα φαινολικά οξέα (Hernandez-Jimenez et al, 2009), τα οποία βρίσκονται γενικότερα σε αρκετά χαμηλές συγκεντρώσεις εξαιρουμένων των υδροξυκιναμωμικών οξέων (Conde et al., 2007).

Οι φαινολικές ενώσεις βρίσκονται στον φλοιό και στα γίγαρτα των καρπών της αμπέλου. Σύμφωνα με την εικόνα 5 φαίνεται πως τα φαινολικά συστατικά των φλοιών εκχυλίζονται πρώτα και πιο γρήγορα από αυτά των γιγάρτων, τα οποία εκχυλίζονται ιδιαίτερα μετά το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης (Harbertson et al, 2009). Επίσης η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών παρουσιάζει μια αύξηση μέχρι το στάδιο του περκασμού, ενώ αντιθέτως μειώνεται έπειτα και μέχρι την ωρίμανση της σταφυλής.



Modification of figure profile of phenolic extraction (Cheynier et al. 1997b, Gonzalez-Manzano et al. Koyama et al. 2007)

Εικόνα 5: Εκχύλιση φαινολικών ενώσεων.

1.5.1 Τανίνες

Οι τανίνες είναι συσσωματώματα φαινολικών ουσιών, τα οποία προκύπτουν από πολυμερισμό μορίων με φαινολικά χαρακτηριστικά. Υπάρχουν κατά κύριο λόγο στα γίγαρτα, έπειτα στους φλοιούς και σε ένα πολύ μικρό ποσοστό στη σάρκα της ράγας. Οι τανίνες έχουν σημαντικό ρόλο για κάποια από τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων οίνων και διακρίνονται σε μονομερείς, ολιγομερείς και πολυμερείς τανίνες. Οι πιο γνωστές είναι οι ολιγομερείς και πολυμερείς τανίνες, γνωστές και ως συμπυκνωμένες τανίνες ή προανθοκυανιδίνες, υπεύθυνες και για την πικρή γεύση και την στυπτικότητα των οίνων και εντοπίζονται στον φλοιό και στα γίγαρτα (Kallithraka et al., 1998). Οι τανίνες των φλοιών και των γιγάρτων διαφέρουν ως προς το μέγεθός τους, τον βαθμό πολυμερισμού τους και την ποσότητα περιεκτικότητας του γαλλικού οξέος. Αυτές των φλοιών είναι περισσότερο πολυμερισμένες, άρα μεγαλύτερες, είναι πιο στυπτικές, επομένως αυξάνουν την αίσθηση της στυπτικότητας και μειώνουν την αίσθηση του πικρού. Αυτά οδηγούν στο συμπέρασμα, πως ο προσδιορισμός των προανθοκυανιδών παίζει ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και μπορούν να καθορίσουν τον τρύγο των ραγών των σταφυλιών, καθώς και την οινοποίηση των κρασιών. Οι τανίνες σχηματίζονται μετά την καρπόδεση και φθάνουν σε ένα μέγιστο στο στάδιο του περκασμού. Κατά την ωρίμανση οι τανίνες των φλοιών παραμένουν σταθερές, ενώ σε αντίθεση αυτές των γιγάρτων μειώνονται. Σύμφωνα με έρευνα (Downey et al., 2003) η μέγιστη συγκέντρωση τανινών στα γίγαρτα παρατηρήθηκε μία εβδομάδα μετά την αλλαγή του χρώματος των ραγών, ενώ στους φλοιούς παρατηρήθηκε πριν τον περκασμό.

1.5.2 Ανθοκυάνες

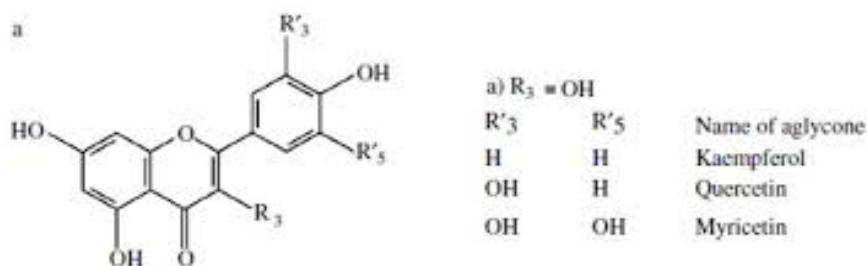
Πρόκειται για φλαβονοειδή, κατηγορία των φαινολικών ενώσεων, με τη διαφορά από τα υπόλοιπα ότι πρόκειται για κατιόντα, βρίσκονται στις 2-3 πρώτες στιβάδες κυττάρων του υποδόριου της ράγας και είναι υπεύθυνες για το ερυθρό χρώμα των οίνων. Το προφίλ των ανθοκυανών που υπάρχουν σε κάθε ποικιλία αμπέλου, αποτελεί

μοναδικό χαρακτηριστικό της και ως αποτέλεσμα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την κατηγοριοποίηση των διαφόρων ποικιλιών του φυτού (Makris et al., 2006). Κάθε είδος, αλλά και η συγκέντρωση των ανθοκυανών, θα καθορίσει και είναι υπεύθυνες για το μπλε, πορτοκαλί, μωβ, κόκκινο χρώμα, και όλες τις άλλες αποχρώσεις που θα πάρει ο οίνος από την κάθε ποικιλία κατά την διαδικασία οινοποίησης αλλά και ωρίμανσης του. Εκτός όμως από τη συγκέντρωση, η εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας για το χρώμα των οίνων. Γενικότερα όσο ωριμάζουν οι ράγες, η εκχυλισματικότητα αυξάνεται, διότι μειώνεται η ελαστικότητα του φλοιού και είναι πιο εύκολο να εκχυλιστούν οι ανθοκυάνες από τον φλοιό προς τον παραγόμενο οίνο. Υπάρχουν 5 βασικές ανθοκυάνες, η συγκέντρωσή τους φθάνει στο ανώτατο όριο κατά την περίοδο του τρύγου, καθώς τότε η ράγα έχει τα κατάλληλα επίπεδα σε όλα τα συστατικά τους, επομένως και το ιδανικό χρώμα για να τρυγηθούν. Τέλος, η σύνθεση των ανθοκυανών επηρεάζεται και καθορίζεται από ένζυμα τα οποία με τη σειρά τους μπορούν να επηρεαστούν από παράγοντες, όπως είναι η ηλιακή ακτινοβολία και η θερμοκρασία (Downey et al., 2003). Από αυτό προκύπτει πως οποιαδήποτε αλλαγή στο μικροκλίμα των σταφυλιών, όπως το ξεφύλλισμα, το κορυφολόγημα, μπορούν να οδηγήσουν σε σημαντικές αλλαγές στη σύνθεση και στη συγκέντρωση των ανθοκυανών στις ράγες.

1.5.3 Φλαβονόλες

Στη ράγα, αυτές οι ενώσεις παρουσιάζονται σε μια γλυκοζυλιωμένη μορφή, όπου το μόριο της φαινόλης συνδέεται με ένα μόριο μονοσακχαρίτη στη θέση 3 του κεντρικού δακτυλίου. Οι φλαβονόλες είναι χρωστικές ενώσεις που είναι κίτρινες και διακρίνονται μεταξύ τους ανάλογα με τους υποκαταστάτες που περιέχουν στον δακτύλιο C, όπως η καμφερόλη, η κερκετίνη και η μυρικετίνη. Αυτές συναντώνται στο υπόδερμα του φλοιού των ραγών και στις πρώτες στοιβάδες των κυττάρων. Οι ποικιλίες αμπέλου με χονδρό φλοιό ή μικρόραγες (με μεγάλο ποσοστό φλοιών σε σχέση με τη σάρκα) περιέχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση φλαβονολών, οι οποίες συμβάλλουν στη σταθερότητα του χρώματος του παραγόμενου οίνου (McDonald et al., 1998).

Η παρουσία κερκετίνης και μυρικετίνης στη ράγα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ποικιλία της αμπέλου. Αντίθετα, η περιεκτικότητα σε καμφερόλη είναι πάντα χαμηλότερη. Οι λευκές ποικιλίες αμπέλου συνήθως περιέχουν μικρές ποσότητες μυρικετίνης. Κάθε ποικιλία έχει μια χαρακτηριστική σύνθεση φλαβονολών, τόσο σε ποιοτικό όσο και σε ποσοτικό επίπεδο, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ταξινομηθούν οι ποικιλίες (Iacopini P., 2008). Σύμφωνα με τους Mattivi et al., 2006, η περιεκτικότητα σε φλαβονόλες στη ράγα κυμαίνεται μεταξύ 2 και 30 mg/kg για τις λευκές ποικιλίες και 4 έως 78 mg/kg για τις ερυθρές ποικιλίες. Εκτός από την ποικιλία και τους γενετικούς παράγοντες, η περιεκτικότητα σε φλαβονόλες στη ράγα επηρεάζεται επίσης από το στάδιο ανάπτυξης και διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η ηλιοφάνεια, οι βροχοπτώσεις, η θερμοκρασία κ.λπ. Η βιοσύνθεση των φλαβονολών λαμβάνει χώρα κατά τα στάδια της άνθισης, του περκασμού και κυρίως κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης της σταφυλής. Κατά την ωρίμανση, παρατηρείται απότομη αύξηση στην περιεκτικότητα των φλαβονολών ανά ράγα. Στα αντίστοιχα στάδια όπου η ράγα εξακολουθεί να είναι πράσινη, η ποσότητα των φλαβονολών που εντοπίζεται είναι πολύ μικρή (Terrier N., 2009).



Εικόνα 6: Χημική δομή φλαβονόλης και φλαβονολών.

1.5.4 Υδροξυκιναμμομικά οξέα

Τα υδροξυκιναμμομικά οξέα αποτελούν σημαντικά φαινολικά οξέα που συχνά συναντώνται στα σταφύλια και στο κρασί. Το π-κουμαρικό, το καφεϊκό, το φερουλικό και το σιναπικό οξύ αποτελούν μερικά από τα πιο διαδεδομένα. Αυτά τα κιναμμομικά οξέα συνδέονται επίσης με τη διαδικασία αμαύρωσης των κρασιών, ενώ είναι επίσης πρόδρομα πτητικών φαινολικών ενώσεων. Τα κιναμμομικά οξέα μπορεί να υπάρχουν σε *cis* ή *trans* ισομερείς μορφές, με τις *trans* μορφές να είναι ιδιαίτερα κοινές στη φύση. Αυτά τα ισομερή μπορούν να μετατραπούν μεταξύ τους είτε με ενζυμικούς μηχανισμούς είτε μέσω της επίδρασης του φωτός (Baderschneider et al., 2001) (Kallithraka et al., 2009).

Τα φυσικά υδροξυκιναμμομικά οξέα συνήθως παρουσιάζονται ως εστέρες και διαστέρες του τρυγικού οξέος, ενώ λιγότερο συχνά ως εστέρες του κιτρικού οξέος ή της γλυκόζης. Τα κύρια υδροξυκιναμμομικά οξέα που βρίσκονται στα σταφύλια και στα κρασιά, ως εστέρες του τρυγικού οξέος, περιλαμβάνουν το καφταρικό οξύ, το p-κουμαρικό οξύ και το φερταρικό οξύ. Η παρουσία ενός διπλού δεσμού στην πλευρική ομάδα οδηγεί στην ύπαρξη δύο ισομερών μορφών: *cis* και *trans*. Στα σταφύλια, το καφταρικό και το φερταρικό οξύ βρίσκονται κυρίως στην μορφή *trans*, ενώ μία πολύ μικρή ποσότητα της μορφής *cis* έχει ανιχνευθεί για το p-κουμαρικό οξύ (Buiarelli et al., 2010). Οι μορφές *trans* του καφταρικού και του φερταρικού οξέος, εντοπίζονται κυρίως στην πούλπα των σταφυλιών και απελευθερώνονται γρήγορα στον χυμό κατά τη διάρκεια της πίεσης των σταφυλιών. Αντίθετα, οι μορφές *trans* και *cis* του p-κουμαρικού οξέος εκχυλίζονται σε μικρότερο βαθμό, καθώς κατά κύριο λόγο βρίσκονται στον φλοιό των σταφυλιών. Αυτές οι ενώσεις, είναι ευρέως γνωστό ότι είναι μερικώς υπεύθυνες για τις στυπτικές ιδιότητες των σταφυλιών και τελικά και των κρασιών.

Παρόλο που τα λευκά κρασιά έχουν συνήθως χαμηλότερη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων, σε σύγκριση με τα κόκκινα, τα οποία κόκκινα κρασιά περιλαμβάνουν έναν υψηλό βαθμό εστέρων τρυγικού οξέος και υδροξυκιναμμομικών οξέων, όπως για παράδειγμα το καφταρικό οξύ, τα υδροξυκιναμμομικά οξέα και οι τρυγικοί εστέρες, αποτελούν τελικά τις φαινολικές ενώσεις όπου παραμένουν η κύρια κατηγορία στα λευκά κρασιά (Clifford et al., 2000). Αυτές αποτελούν επίσης την κύρια κατηγορία μη φλαβονοειδών φαινολικών στα κόκκινα κρασιά (Vanzo et al., 2007).

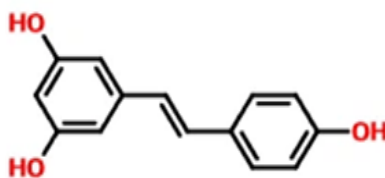
Στα σταφύλια και τα κρασιά, συνήθως δεν εντοπίζονται τα υδροξυκιναμμομικά οξέα υπό ελεύθερη μορφή, αλλά σε ανθοκυάνες, οι οποίες δημιουργούνται κυρίως μέσω εστεροποίησης του καφεϊκού και του p-κουμαρικού οξέος με τη γλυκόζη, ενός

μονογλυκοζίτη, δημιουργώντας έτσι ακυλιωμένες ανθοκυάνες. Σε εστέρες του τρυγικού οξέος με το καφεϊκό, το p-κουμαρικό και το φερουλικό οξύ, δημιουργώντας καφταρικό, κουταρικό και φερταρικό οξύ αντίστοιχα και τέλος, εμφανίζονται υπό την ελεύθερη μορφή αυτών των οξέων, συνήθως όμως εμφανίζονται σε χαμηλή συγκέντρωση.

1.5.5 Στιλβένια

Στα σταφύλια και στους οίνους περιέχεται μια πολύπλοκη ομάδα μη φλαβονοειδών πολυφαινόλων, γνωστή ως στιλβένια, η οποία αντικατοπτρίζεται και στα προϊόντα τους. Αυτές οι ουσίες έχουν μια βασική δομή που αποτελείται από δύο βενζοϊκούς δακτυλίους που ενώνονται μεταξύ τους μέσω μιας αλυσίδας αιθανίου ή μεθανίου. Τα στιλβένια παρουσιάζονται σε διάφορα φυτά, αλλά τα σταφύλια και οι οίνοι θεωρούνται η σημαντικότερη πηγή αυτών των ενώσεων στη διατροφή του ανθρώπου. Έχουν επίσης αντιοξειδωτικές και αντικαρκινικές ιδιότητες, κάτι που τους καθιστά σημαντικούς συνεισφέροντες στην υγεία (Buiarelli F., Coccioni F. κ.ά., 2007). Τα στιλβένια ανήκουν στην κατηγορία των φυτοαλεξινών, οι οποίες αποτελούν έναν μηχανισμό άμυνας των φυτών έναντι ασθενειών, κυρίως μυκητολογικών και σε μικρότερο βαθμό βακτηριακών. Εκτός από τις μυκητολογικές και βακτηριολογικές προσβολές, η περιεκτικότητα των στιλβενίων στα σταφύλια εξαρτάται από ποικίλους άλλους παράγοντες όπως οι κλιματικές συνθήκες, η ποικιλία της αμπέλου, η UV ακτινοβολία και η παρουσία ιόντων βαρέως μετάλλου. Η συγκέντρωση των φυτοαλεξινών μειώνεται με την έναρξη της ωρίμανσης, ενώ η συγκέντρωση των ανθοκυανών αυξάνεται. Αναφορά γίνεται στο γεγονός, ότι σε ποικιλίες της ευρωπαϊκής αμπέλου υπάρχει πολύ μικρός βαθμός συσχέτισης της περιεκτικότητας των ολικών ανθοκυανών με τις φυτοαλεξίνες (Jeandet et al., 1995).

Η ρεσβερατρόλη, γνωστή επίσης ως 3,5,4'-τριυδροξυστιλβένιο, αποτελεί τη σημαντικότερη φυτοαλεξίνη στην άμπελο και βρίσκεται κυρίως στα κύτταρα του φλοιού σε συγκεντρώσεις 1-3 mg/L. Η παρουσία της ρεσβερατρόλης ενισχύεται ως αντίδραση σε καταπονήσεις των βλαστών, όπως οι μυκητολογικές προσβολές από *Botrytis cinerea* ή η έντονη ξηρασία. Η ρεσβερατρόλη μπορεί να βρεθεί σε ελεύθερη μορφή με δύο ισομερή (cis και trans) και ως β-γλυκοζίτες. Οι 3-O-β-D-γλυκοζίτες της cis και trans ρεσβερατρόλης είναι γνωστοί ως piceid (Rentsch M., Wilkens A., Winterhalter P., 2009).



Εικόνα 7: Χημική δομή ρεσβερατρόλης.

1.6 Καλλιεργητικές επεμβάσεις

Η άμπελος είναι ένα φυτό, το οποίο χρειάζεται φροντίδα και περιποίηση. Υπάρχουν διάφορες καλλιεργητικές τεχνικές, οι οποίες ως στόχο έχουν α) την παραγωγή, ανάλογα με τη γονιμότητα των οφθαλμών, β) την ωρίμανση των σταφυλιών, γ) τη μείωση των

προσβολών από τα διάφορα παθογόνα, δ) τη διατήρηση του σχήματος διαμόρφωσης και ε) τη διευκόλυνση των εργασιών εργασίας και τελικά τη μείωση του κόστους παραγωγής. Όλο αυτό επιτυγχάνεται μέσα από τον έλεγχο της ζωηρότητας του φυτού της αμπέλου. Στόχος, όταν πραγματοποιείται μια παρέμβαση στο φυτό είναι να βελτιωθεί η θερμοκρασία, η ηλιοφάνεια, γενικότερα το μικροκλίμα των αμπελώνων, να ελεγχθεί η ζωηρότητα των πρέμων και τελικά να επιτευχθούν και οι στόχοι που προαναφέρθηκαν (Νικολάου, 2011).

Οι καλλιεργητικές παρεμβάσεις για τη ζωηρότητα της αμπέλου χωρίζονται σε μόνιμες και σε εποχιακές. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν το σύστημα διαμόρφωσης που δίνεται σε έναν αμπελώνα, ανάλογα με τον στόχο που θέλει να πετύχει ο κάθε παραγωγός και τις συνθήκες του περιβάλλοντος κάθε αμπελώνα, το υποκείμενο που θα επιλεγεί και η πυκνότητα φύτευσης μεταξύ των φυτών, όπου με τη σειρά της η πυκνότητα μπορεί να φανεί αποτελεσματική σχετικά με τη ζωηρότητα των πρέμων και όχι μόνο. Χαρακτηρίζονται ως μόνιμες επεμβάσεις, διότι οι αποφάσεις πρέπει να παρθούν πριν καν ακόμα τη φύτευση ολόκληρου του αμπελώνα και δύσκολα αλλάζουν στην πορεία ανάπτυξης και παραγωγής, καθώς εξαρτώνται από μόνιμους παράγοντες όπως μπορεί να είναι το κλίμα και ο καιρός. Από την άλλη πλευρά, στη δεύτερη κατηγορία ανήκουν οι εποχιακές παρεμβάσεις. Αυτές περιλαμβάνουν το χειμερινό κλάδεμα, τις θερινές παρεμβάσεις στη βλάστηση και την παραγωγή, την άρδευση, την λίπανση και τη διαχείριση του εδάφους (Νικολάου 2011). Σε αντίθεση με τις μόνιμες, οι εποχιακές παρεμβάσεις, μπορούν να αλλάζουν σε κάθε καλλιεργητική χρονιά.

1.6.1 Πυκνότητα φύτευσης- Συστήματα διαμόρφωσης

Όταν το έδαφος στο οποίο πρόκειται να εγκατασταθεί ο αμπελώνας, είναι υψηλής γονιμότητας και υψηλών προδιαγραφών, προτιμάται να υπάρχει μικρή πυκνότητα φύτευσης των φυτών, περίπου 200-250 φυτά το στρέμμα, όταν πρόκειται για επιτραπέζιες ποικιλίες, και 350-400 φυτά ανά στρέμμα, για τις οινοποιήσιμες ποικιλίες. Από την άλλη πλευρά, στα εδάφη με όχι τόσο μεγάλη γονιμότητα και γενικότερα υψηλές δυνατότητες, τα φυτά τοποθετούνται σε μικρότερες αποστάσεις φύτευσης, προκειμένου να αξιοποιήσουν όσο το δυνατό περισσότερο, τα συστατικά του εδάφους (νερό, οργανική ουσία, κ.ά.), τα οποία δεν βρίσκονται και σε τόσο μεγάλες ποσότητες (Νικολάου, 2011).

Αφού εγκατασταθούν τα φυτά, σειρά έχει να αποφασισθεί το κατάλληλο σύστημα διαμόρφωσης για κάθε ένα φυτό του αμπελώνα. Τα συστήματα διαμόρφωσης είναι ποικίλα και το ποιο θα επιλέξει ο αμπελουργός εξαρτάται από το κλίμα, το έδαφος, την κλίση του εδάφους, τα παθογόνα που μπορεί να υπάρχουν, τους πιθανούς παγετούς της περιοχής και ένα πλήθος ακόμα συνόλου παραγόντων, που μπορεί να επηρεάσουν την επιλογή του συστήματος διαμόρφωσης.

1.6.2 Κλάδεμα

Το κλάδεμα ορίζεται ως η αφαίρεση ζωντανών ξυλοποιημένων τμημάτων του φυτού, και όχι η αφαίρεση ενός αποξηραμένου τμήματος με απώτερο σκοπό αρχικά να διατηρήσει το σχήμα του συστήματος διαμόρφωσης του φυτού και την ακροτονία του (είναι η προτεραιότητα στην εκβλάστηση των οφθαλμών της κορυφής της κληματίδας), για να ανανεώσει τις καρποφόρες μονάδες της αμπέλου, να μπορέσει να κατανεμηθεί σωστά το δυναμικό της βλάστησης και έπειτα της παραγωγής και τέλος να ρυθμιστεί η πυκνότητα των βλαστών. Χειμερινό, είναι το κλάδεμα που

πραγματοποιείται κατά τη χειμερινή αγρανάπαυση, ενώ σε αντίθεση αυτά που γίνονται κατά τη βλαστική περίοδο σε ποώδη τμήματα, ονομάζονται θερινά κλαδέματα (Νικολάου, 2011). Υπάρχει και η έννοια του κλαδέματος καρποφορίας που σχετίζεται με τα κλαδέματα που πραγματοποιούνται κάθε χρονιά και σκοπεύουν στη ρύθμιση της παραγωγής και στη διατήρηση ενός σταθερού σχήματος. Η επιρροή του κλαδέματος στην ποσότητα και την ποιότητα, ήταν γνωστή ήδη από τα αρχαία χρόνια.

1.6.3 Βλαστολόγημα

Ως βλαστολόγημα εννοείται η αφαίρεση νεαρών βλαστών, αφού έχουν βλαστήσει, οι οποίοι αναπτύσσονται σε μη κατάλληλες θέσεις και δεν είναι αναγκαίοι και απαραίτητοι για το φυτό (Νικολάου, 2011). Το βλαστολόγημα γίνεται ως μια παρέμβαση διορθωτική του κλαδέματος και εφαρμόζεται μόνο χειρωνακτικά. Σε φυτά που έχουν μπει σε κανονική καρποφορία αφαιρούνται βλαστοί που προέρχονται από κοιμώμενους οφθαλμούς σε διάφορα σημεία του φυτού. Η αφαίρεση των βλαστών αυτών αυξάνει τη ζωηρότητα των βλαστών που παραμένουν στο φυτό. Σε περιπτώσεις όμως υψηλής ζωηρότητας του φυτού, η αφαίρεση ενός πολύ μεγάλου τμήματος βλαστών, έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ζωηρότητας των βλαστών που παραμένουν και αυτή με τη σειρά της μπορεί να είναι υπεύθυνη για τη νέκρωση ταξιανθιών γνωστή ως «πρώιμη νέκρωση των ταξιανθιών». Το βλαστολόγημα επίσης, αν δεν εφαρμοστεί σωστά μπορεί να οδηγήσει στην κακή κατανομή της ισχύος του πρέμνου, καθώς και στο δυσμενές μικροκλίμα με απόρροια επίσης πολλών αρνητικών παραγόντων για το φυτό (Νικολάου, 2011).

1.6.4 Κορυφολόγημα

Το κορυφολόγημα αποτελεί μία από τις σπουδαιότερες παρεμβάσεις που πραγματοποιούνται στον αμπελώνα κατά τη βλαστική περίοδο. Συνίσταται στην αφαίρεση ενός τμήματος του βλαστού με μήκος 2cm από την κορυφή, ή ενός μεγαλύτερου τμήματος που ίσως φθάνει μέχρι το μεσογονάτιο διάστημα πάνω από την τελευταία ταξιανθία. Εξαιτίας του κορυφολογήματος γίνεται ολόκληρη ανακατανομή της ζωηρότητας του πρέμνου. Μπορεί να γίνει πριν ή μετά την άνθιση. Αν γίνει πριν την άνθιση, επιτυγχάνεται προσωρινό σταμάτημα της αύξησης των βλαστών (καλύτερες τροφικές συνθήκες για τις ταξιανθίες: καλύτερη καρπόδεση, ιδιαίτερα σε ποικιλίες που ανθορροούν), καθώς και διέγερση για την παραγωγή ταχυφύων βλαστών (αύξηση αναλογίας δευτερεύοντος φυλλώματος). Αν γίνει μετά την άνθιση γίνεται ρύθμιση του ύψους του βλαστικού τείχους, αύξηση μεγέθους ράγας (μη επιθυμητό σε ερυθρές οινοποιήσιμες ποικιλίες) αλλά και υποβοήθηση ωρίμανσης ραγών. Για ένα ισορροπημένο πρέμνο, 1-2 κορυφολογήματα αρκούν, ώστε να προκύψει ένα καλό δευτερεύον φύλλωμα (Νικολάου, 2011).

1.7 Ξεφύλλισμα

Το ξεφύλλισμα είναι και η μελέτη της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Πρόκειται για μια καλλιεργητική παρέμβαση που έχει να κάνει με την αφαίρεση φύλλων-ταχυφύων βλαστών από τη βάση των βλαστών στο περιβάλλον των σταφυλιών με στόχο αρχικά τη βελτίωση του μικροκλίματος των σταφυλιών, έπειτα την τροποποίηση σχετικά με το πώς κατανέμονται τα προϊόντα από τη φωτοσύνθεση προς τα σταφύλια, αλλά και το να διευκολυνθούν οι καλλιεργητικές εργασίες, όπως για παράδειγμα όλοι

οι διενεργούμενοι ψεκασμοί και ο τρύγος στο τέλος της καλλιεργητικής περιόδου, καθώς θα είναι πιο εύκολο να εφαρμοστούν οι απαραίτητοι ψεκασμοί αλλά και να τρυγηθούν οι ράγες των σταφυλιών.

Είναι προτιμότερο η τεχνική του ξεφυλλίσματος να πραγματοποιείται κατά την έναρξη της ωρίμανσης, για τον λόγο ότι τα φύλλα της βάσης του φυτού είναι έτσι και αλλιώς «ηλικιωμένα», οπότε σαν αποτέλεσμα η φωτοσυνθετική τους ικανότητα είναι ήδη μειωμένη (Νικολάου, 2011). Όταν η τεχνική του ξεφυλλίσματος γίνεται πριν την καρπόδεση ονομάζεται πρώιμο, ενώ αν γίνει μετά τον περκασμό, χαρακτηρίζεται όψιμο. Ανάλογα με τον αριθμό των φύλλων που αφαιρούνται διαφέρει και κατά την ένταση του. Ως ήπιο ή ελαφρύ ξεφύλλισμα καλείται η επέμβαση κατά την οποία δεν αφαιρούνται όλα τα φύλλα κάτω από την πρώτη σταφυλή, αλλά διατηρούνται 1-2 φύλλα, ενώ από την άλλη όταν αφαιρούνται όλα τα φύλλα κάτω από την πρώτη σταφυλή και 1-2 φύλλα πάνω από την πρώτη σταφυλή τότε το ξεφύλλισμα ονομάζεται εντατικό ή αυστηρό. Η παρέμβαση του ξεφυλλίσματος υπάρχει η πιθανότητα να είναι μονόπλευρο ή αμφίπλευρο, ανάλογα με το αν εφαρμόζεται στη μία ή και στις δύο πλευρές του πρέμνου αλλά και στον τρόπο εφαρμογής του, αν δηλαδή γίνει με μηχανικό τρόπο ή αν γίνει χειρωνακτικά.

Η τροποποίηση του μικροκλίματος επιτυγχάνεται, καθώς με το ξεφύλλισμα επηρεάζεται η έκθεση των σταφυλιών στο φως και η έκθεση με τη σειρά της επηρεάζει τη σύνθεση σπουδαίων συστατικών της ράγας. Μέσω της σύνθεσης των συστατικών, θα επηρεαστούν τελικά οι μεταβολικές διεργασίες των ραγών και επομένως θα υπάρχουν επιπτώσεις τόσο στη σύσταση όσο και στην ποιότητά τους (Baino et al., 2015) (Raynolds et al., 1996). Η έκθεση των σταφυλιών στο ηλιακό φως, είναι αν όχι ο βασικότερος, ένας από τους πιο βασικούς σκοπούς της εφαρμογής του ξεφυλλίσματος. Για παράδειγμα, σύμφωνα με έρευνα του Melino et al., 2011, η έκθεση των σταφυλιών στο φως είχε ως αποτέλεσμα στην ποικιλία Syrah να μειωθεί το pH, αφού αυξήθηκαν τα επίπεδα του τρυγικού οξέος και μειώθηκαν του μηλικού. Με άλλη έρευνα των Yuan & Qian, 2015, η έκθεση στο φως αύξησε τα επίπεδα β-damascenone σε ράγες Pinot noir, ενώ από την άλλη πλευρά οι Merais et al., 1994, έδειξαν πως το φως επηρέασε αρνητικά τα αρωματικά συστατικά που δίνουν φυτικά αρώματα, όπως οι μεθοξυπυραζίνες και οι θειόλες. Στη συνέχεια, η αφαίρεση φύλλων στο περιβάλλον των σταφυλιών στην αρχή της περιόδου επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τη συνολική φωτοσύνθεση του πρέμνου. Το αντίθετο συμβαίνει όσο οψιμότερα, δηλαδή πιο αργά πραγματοποιείται το ξεφύλλισμα (Τσακίρης, 1996).

1.7.1 Χρόνος εφαρμογής ξεφυλλίσματος

Το ξεφύλλισμα μπορεί να εφαρμοστεί σε διαφορετικές χρονικές περιόδους κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου. Πιο συγκεκριμένα, μπορεί να γίνει προανθικά (εικόνα 6), μπορεί να γίνει ύστερα από την καρπόδεση (εικόνα 7), μέχρι το στάδιο που η ράγα θα είναι σαν μπιζέλι, ενώ τέλος μπορεί να γίνει και μετά το στάδιο του περκασμού ως τον τρύγο (εικόνα 8). Όσο προωμότερα πραγματοποιηθεί το ξεφύλλισμα, τόσο ενισχύεται η επίδρασή του στην ανακατανομή της ισχύος του πρέμνου. Οψιμότερη εφαρμογή επιδρά κυρίως στο μικροκλίμα των σταφυλιών. Η χρονική στιγμή κατά την οποία εφαρμόζεται το ξεφύλλισμα, εξαρτάται από παράγοντες, όπως η ποικιλία του αμπελικού φυτού, η περιοχή φύτευσης και ο στόχος παραγωγής οίνου. Η χρονική διαφοροποίηση στην εφαρμογή της διαδικασίας αυτής θα οδηγήσει σε διαφορετικά αποτελέσματα, επηρεάζοντας το τελικό αποτέλεσμα του παραγόμενου οίνου (Νικολάου, 2011).



Εικόνα 8: Προανθικό στάδιο αμπελιού.



Εικόνα 9: Καρπόδεση.



Εικόνα 10: Ωρίμανση αμπελιού.

Αν το ξεφύλλισμα εφαρμοστεί προανθικά, με μεγάλη ένταση είτε μονόπλευρα είτε αμφίπλευρα, επιδρά αρνητικά στη φωτοσύνθεση με την απομάκρυνση φύλλων, προκαλώντας μείωση του ποσοστού καρποδέσης, ταυτόχρονα όμως προάγει την αύξηση του αριθμού των σταφυλιών και των ραγών. Επιπλέον, προκαλεί τη διέγερση της παραγωγής ταχυφών βλαστών, γνωστών ως δευτερογενές φύλλωμα. Συμπερασματικά το προανθικό ξεφύλλισμα τροποποιεί το μικροκλίμα, μειώνει το μέγεθος και την πυκνότητα της σταφυλής, μειώνει το μέγεθος της ράγας, κάνει πιο παχύ τον φλοιό της ράγας και υπάρχει καλύτερη φωτοσυνθετική δραστηριότητα κατά την ωρίμανση, για τον λόγο ότι τα φύλλα βρίσκονται στη βέλτιστη ηλικία τους εξαιτίας

του δευτερογενούς φυλλώματος. Σημαντική διευκρίνιση αποτελεί, ότι η πρόωρη εφαρμογή του ξεφυλλίσματος σε προανθικό στάδιο συνέβαλε σημαντικά στην αντιμετώπιση του κινδύνου καψίματος των ραγών από την έκθεσή τους στην ηλιακή ακτινοβολία (Verdenal et al., 2019).

Η δεύτερη πιθανή περίπτωση είναι το ξεφύλλισμα να γίνει μετά την καρπόδεση και πριν το στάδιο της αλλαγής του χρώματος της ράγας, όπου είναι και η πιο πιθανή και συχνή εφαρμογή της τεχνικής του ξεφυλλίσματος. Η αφαίρεση φύλλων κατά το στάδιο αυτό αφαιρεί φωτοσυνθετικά φύλλα επηρεάζοντας την αύξηση της ράγας και της σταφυλής, σε μικρότερα όμως επίπεδα απ' ότι αν εφαρμοστεί προανθικά. Στην περίπτωση αυτή της χρονικής στιγμής του ξεφυλλίσματος κατά κύριο λόγο τροποποιείται το μικροκλίμα και εν συνεχεία επηρεάζεται το μέγεθος της ράγας και το πάχος του φλοιού. Δεδομένου επίσης ότι σε αυτό το σημείο η άμπελος είναι ακόμα σε φάση ανάπτυξης είναι και πιο επιρρεπές και ευαίσθητο στις μυκητολογικές και γενικά στις ασθένειες, επομένως όσο πιο εντατικό είναι το ξεφύλλισμα τόσο πιο αποτελεσματικό προς τις ασθένειες των μυκήτων είναι (Κουνδουράς, 2018).

Τρίτη και τελευταία περίπτωση χρονικής εφαρμογής του ξεφυλλίσματος είναι μετά τον περκασμό και ως τον τρύγο. Σε αυτή τη φάση υπάρχει μικρότερη επίδραση στη βιοχημεία του σταφυλιού, τροποποιείται το μικροκλίμα μέσω της ενίσχυσης του δευτερογενούς μεταβολισμού και ακόμα βελτιώνεται το φωτοσυνθετικό ισοζύγιο, εξαιτίας της αφαίρεσης ηλικιωμένων φύλλων. Προσοχή όμως, καθώς η απότομη έκθεση των σταφυλιών στον ήλιο μπορεί να επιφέρει αρνητικές συνέπειες, όπως η καθυστέρηση της ωρίμανσής τους και η αύξηση των ενδείξεων ηλιακού καψίματος και αυτό εξαιτίας της απότομης έκθεσης των σταφυλιών ξαφνικά στην ηλιακή ακτινοβολία (Κουνδουράς, 2018).

Για την σωστή πρακτική της έντασης του ξεφυλλίσματος λαμβάνονται υπόψιν, αρχικά η περιοχή. Λιγότερο ξεφύλλισμα σε θερμές περιοχές προκειμένου να μην εκτεθούν τα σταφύλια, και περισσότερο σε περιοχές με πιο ήπιο κλίμα. Στη συνέχεια η ποικιλία και συνίσταται περισσότερο ξεφύλλισμα για όψιμες και ερυθρές ποικιλίες, ενώ λιγότερο για πρώιμες και λευκές ιδίως αυτές που έχουν φυτικό αρωματικό χαρακτήρα. Επίσης πιο έντονο ξεφύλλισμα προτιμάται για τις ποικιλίες που είναι ευαίσθητες στις σήψεις, ενώ αντίθετα πιο ήπιο στις ποικιλίες που είναι ευαίσθητες στα ηλιοκαύματα. Τέλος, λαμβάνεται υπόψιν, το προϊόν. Πιο έντονο ξεφύλλισμα για οίνους με πλούσια γεύση, ενώ λιγότερο για οίνους οι οποίοι προορίζονται για άμεση κατανάλωση (Κουνδουράς, 2018).

1.7.2 Επίδραση του ξεφυλλίσματος στα σταφύλια

Το ξεφύλλισμα μπορεί να επιφέρει αισθητές αλλαγές στα φυσικά χαρακτηριστικά των σταφυλιών που παράγονται. Οι επιπτώσεις αυτές εξαρτώνται από την ποικιλία, τις κλιματολογικές συνθήκες, τον βαθμό έντασης του ξεφυλλίσματος και το χρονικό σημείο εφαρμογής. Συγκεκριμένα, μπορεί να επηρεάσει το μέγεθος και το βάρος των σταφυλιών, καθώς και τη συνολική παραγωγή, ενώ ταυτόχρονα μπορεί να επηρεάσει το πάχος των φλοιών. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως το ξεφύλλισμα ανάλογα με τη στιγμή που πραγματοποιείται επηρεάζει λιγότερο ή περισσότερο κάποιους παράγοντες.

Η εφαρμογή της τεχνικής του ξεφυλλίσματος μπορεί να επηρεάσει το βάρος των ραγών και τη συνολική παραγωγή ανά πρέμνο. Σύμφωνα με έρευνες, η αφαίρεση λιγότερων από έξι φύλλων κατά τη διάρκεια της διαδικασίας δεν φαίνεται να επηρεάζει τον

συνολικό όγκο παραγωγής ανά πρέμνο σε φυτά συγκεκριμένης ποικιλίας. Αντίθετα, η πρόωρη εφαρμογή της τεχνικής αυτής σε φυτά της ποικιλίας Carignan έχει ως αποτέλεσμα μείωση της συνολικής παραγωγής ανά πρέμνο (Tardaquila et al., 2010), ενώ σε φυτά της ποικιλίας Sangiovese παρατηρείται μείωση του βάρους των σταφυλιών (Intrieri et al., 2008).

Η διαδικασία του ξεφυλλίσματος κοντά στην περίοδο της άνθισης, με στόχο την αφαίρεση παλαιότερων φύλλων κοντά στη βάση του βλαστού, προκαλεί μείωση στο μέγεθος των ραγών, σύμφωνα με μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί. Ενώ ορισμένες έρευνες, (Raynolds et al., 1996), δεν επέδειξαν σημαντικές αλλαγές στο μέγεθος των ραγών μετά το ξεφύλλισμα, άλλες έρευνες έχουν δείξει ότι η περιορισμένη ανάπτυξη των ραγών οφείλεται στην πρόωμη εφαρμογή της διαδικασίας και στον αριθμό των φύλλων που αφαιρέθηκαν (Caspari and Lang, 1996).

Αν το ξεφύλλισμα εφαρμοστεί προανθικά, επηρεάζεται επίσης και το πάχος του φλοιού της ράγας, ο φλοιός είναι πιο παχύς και προκύπτουν σταφύλια με πιο χοντρή φλούδα. Στις άλλες δυο χρονικές περιόδους εφαρμογής του ξεφυλλίσματος, το πάχος του φλοιού επηρεάζεται σε μικρότερο βαθμό. Γενικότερα, όπως έχει προαναφερθεί, πρέπει να δίνεται μεγάλη προσοχή στην ένταση του ξεφυλλίσματος, προκειμένου να αποφεύγεται η έντονη και ξαφνική έκθεση των ραγών στην ηλιακή ακτινοβολία και τις υψηλές θερμοκρασίες, παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν και αρνητικά την ποσότητα, αλλά και την ποιότητα των σταφυλιών και γενικότερα του παραγόμενου προϊόντος (Downey et al., 2006).

Το ξεφύλλισμα όμως, εκτός από τις επιδράσεις που μπορεί να έχει στα φυσικά χαρακτηριστικά των σταφυλιών, μπορεί να τα επηρεάσει και ως προς τη χημική τους σύσταση. Η συσσώρευση των σακχάρων στο φυτό προκύπτει από τη φωτοσύνθεση, ενώ τα αρχικά σάκχαρα εκπορεύονται από τα ξυλώδη μέρη του φυτού. Παρότι η συνθήκη αυτή συμμετέχει στην συνολική ποσότητα σακχάρων, η πλειονότητα προέρχεται από τα φύλλα του φυτού. Κυρίαρχα στοιχεία αυτής της συσσώρευσης είναι η γλυκόζη και η φρουκτόζη, τα οποία αποτελούν και τα κυρίαρχα ζυμώσιμα συστατικά του γλεύκους. Σημαντικό είναι να σημειωθεί ότι το πολύ πρόωμο ξεφύλλισμα, εκτός από τη μείωση του ρυθμού φωτοσύνθεσης, καθώς αφαιρούνται φύλλα, επιφέρει επίσης μείωση στη συγκέντρωση σακχάρων στα σταφύλια (Franzone et al., 2011).

Η συνολική οξύτητα του οίνου αποτελείται από το άθροισμα των ελεύθερων καρβοξυλομάδων των οξέων, είτε αυτά βρίσκονται σε διάλυση είτε όχι, με κύρια οργανικά οξέα που παρατηρούνται στο οίνο να είναι τα μηλικό και το τρυγικό, (Σουφλερός 2015, Νικολάου 2011). Σε σχέση με την ποικιλία Cabernet Sauvignon, έχει δειχθεί ότι το ξεφύλλισμα μπορεί να προκαλέσει μείωση στη συνολική οξύτητα των ραγών (Petrie et al., 2006).

Παρόλο που τα περισσότερα αρώματα στα κρασιά προκύπτουν από τη διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης, τα λεγόμενα δευτερογενή αρώματα, τα αρώματα που απορρέουν από τα ίδια τα σταφύλια, γνωστά ως πρωτογενή αρώματα, αναδεικνύουν την ποικιλιακή ταυτότητά τους και καθορίζουν την ποιότητα του οίνου (Ribereau-Gayon et al, 2006). Οι κλιματικές συνθήκες, η θερμοκρασία κατά την ωρίμανση και η έκθεση των σταφυλιών στην ηλιακή ακτινοβολία έχουν σημαντική επίδραση στα ποικιλιακά αρώματα των σταφυλιών (Giovannelli et al., 2007). Σε πείραμα με την ποικιλία Cabernet Sauvignon, τα σταφύλια και τα προκύπτοντα κρασιά από φυτά που δεν υποβλήθηκαν σε ξεφύλλισμα παρουσίασαν υψηλότερη συγκέντρωση β-δαμασκηνόνης σε σχέση με τα φυτά που υποβλήθηκαν σε ξεφύλλισμα κατά την καρπόδεση (Lee et al., 2007).

Το ξεφύλλισμα αναδεικνύεται ευεργετικό σε ψυχρές κλιματικές συνθήκες, καθώς διευκολύνει την έκθεση των σταφυλιών στο φως του ηλίου, ενισχύοντας το σύνολο των φαινολικών συστατικών και των ανθοκυανών. Σε μια σχετική έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Diago et al (2012), παρατηρήθηκε ότι το πρώιμο ξεφύλλισμα οδηγεί σε αυξημένες συγκεντρώσεις ανθοκυανών και φλαβονολών στα σταφύλια της ποικιλίας Tempranillo, βελτιώνοντας τη φαινολική σύσταση και το χρώμα των παραγόμενων οίνων. Στην ίδια έρευνα επισημαίνει ότι η μηχανική μέθοδος ξεφυλλίσματος είχε μεγαλύτερη επίδραση στη φαινολική σύσταση των οίνων σε σύγκριση με το χειροκίνητο ξεφύλλισμα. Ωστόσο, σε πιο ζεστά κλίματα και ειδικά στον ελληνικό αμπελώνα, το ξεφύλλισμα δεν αποτελεί πάντοτε ευεργετική πρακτική. Η παρατεταμένη έκθεση των σταφυλιών στο φως του ηλίου μπορεί να αυξήσει τη θερμοκρασία στη ράγα, με αποτέλεσμα τη μείωση της βιοσύνθεσης ανθοκυανών και τη δημιουργία εγκαυμάτων στις σταφυλές (Petrooulos et al., 2011).

1.8 Λευκή οινοποίηση

Η οινοποίηση αποτελεί συνδυασμό τέχνης και επιστήμης, πλούσια σε πολλές παραμέτρους, ενώ κάθε περιοχή, ποικιλία σταφυλιού και είδος οίνου διακρίνονται από μοναδικές απαιτήσεις. Ο όρος "μούστος ή γλεύκος" αναφέρεται στον χυμό του σταφυλιού, ο οποίος, με τη διαδικασία της ζύμωσης, μετατρέπεται στον τελικό οίνο. Τα "στέμφυλα" αναφέρονται στις ράγες των σταφυλιών μετά την αφαίρεση του μούστου. Ο όρος "σταφυλοπολτός" περιγράφει το γλεύκος που συνοδεύεται από τα στέμφυλα.

Οι ράγες των σταφυλιών περιέχουν σάκχαρα, κυρίως γλυκόζη και φρουκτόζη, τα οποία, με τη διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης, μετατρέπονται σε αλκοόλη. Η αλκοολική ζύμωση προκαλείται από τις ζύμες, μονοκύτταρους οργανισμούς που βρίσκονται στο φλοιό του σταφυλιού και μεταφέρονται στον χυμό. Οι αποδοτικότερες ζύμες ανήκουν στο γένος *Saccharomyces*. Για τους λευκούς οίνους, μπορεί να χρησιμοποιούνται λευκά ή και πιο σπάνια ερυθρά σταφύλια. Η ποιότητα του κρασιού εξαρτάται σημαντικά από τη σύνθεση του σταφυλιού σε σάκχαρα και οξέα, επηρεαζόμενη από παράγοντες όπως η ποικιλία, το έδαφος, οι κλιματικές συνθήκες και ο χρόνος του τρύγου. Σε κρασιά υψηλής ποιότητας, όπως οι "Οίνοι Ποιότητας Παραγόμενοι σε Καθορισμένη Περιοχή" (Π.Ο.Π που σημαίνει προστατευόμενη ονομασία προέλευσης ή Π.Γ.Ε. ως προστατευόμενη γεωγραφική ένδειξη), η επιλογή του αμπελιού υπόκειται σε αυστηρά κριτήρια που περιλαμβάνουν την ποικιλία, την τοποθεσία, την καλλιεργητική τεχνική και τη στρεμματική απόδοση, ενώ οι επιτραπέζιοι οίνοι δεν υπόκεινται σε τόσο αυστηρούς νομικούς περιορισμούς (Σουφλερός, 2015)

ΓΛΕΥΚΟΠΟΙΗΣΗ

Μετά τη συλλογή των σταφυλιών, είναι απαραίτητο να μεταφερθούν άμεσα στο πατητήρι όπου θα πραγματοποιηθεί η εκχύλιση του χυμού, γνωστού ως γλεύκος ή μούστος. Η διαδικασία αυτή συνήθως εκτελείται με χρήση μηχανημάτων που συνθλίβουν τα σταφύλια μεταξύ περιστρεφόμενων κυλίνδρων. Μετά την έκθλιψη, κατά την οποία εξάγεται ο μούστος, συνήθως χρησιμοποιούνται διάφορα μηχανήματα για την παραλαβή των συνθλιμμένων σταφυλιών. Στη συνέχεια, πριν από την αλκοολική ζύμωση, ο μούστος υποβάλλεται στη διαδικασία της απολάσπωσης, κατά την οποία αφαιρούνται όλα τα αιωρούμενα σωματίδια ξεχωρίζοντας τον καθαρό χυμό, επιτυγχάνοντας έτσι τη διαύγεια του μούστου. Επιτυγχάνεται συνήθως μέσα σε

ψυχόμενες δεξαμενές, όπου η θερμοκρασία του νερού που ρέει επιτρέπει αυτόν τον διαχωρισμό, τη λεγόμενη απολάσπωση.

ΖΥΜΩΣΗ

Όπως προαναφέρθηκε, το οινόπνευμα που περιέχεται στο κρασί παράγεται από τα σάκχαρα του μούστου, κυρίως γλυκόζη και φρουκτόζη, κατά τη διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης. Οι ζύμες, που βρίσκονται αδρανοποιημένες στο φλοιό των σταφυλιών, ενεργοποιούνται κατά την επαφή τους με το μούστο. Για να επιτευχθεί αποτελεσματική αλκοολική ζύμωση, είναι αναγκαίο να περάσουν τουλάχιστον τρεις ημέρες από τη βροχή, εάν έχει βρέξει, πριν γίνει η συγκομιδή των σταφυλιών. Κατά το διάστημα αυτό, αναπτύσσονται εκ νέου οι ζυμομύκητες που είναι απαραίτητοι για την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης. Οι ζύμες πολλαπλασιάζονται και προκαλούν τη ζύμωση, δημιουργώντας αιθυλική αλκοόλη, διοξείδιο του άνθρακα και θερμότητα. Η θερμότητα διατηρείται σε επιθυμητά επίπεδα για να διασφαλιστεί η αποτελεσματική ζύμωση και η διατήρηση των αρωμάτων στο κρασί

Η διάρκεια της ζύμωσης δεν είναι σταθερή, καθώς επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Σημαντικοί παράγοντες περιλαμβάνουν την αρχική συγκέντρωση σακχάρων στον μούστο, τη θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, τη διαθεσιμότητα οξυγόνου για τις ζύμες, καθώς και το επιθυμητό είδος του κρασιού που παράγεται. Γενικώς, όταν η ζύμωση διαρκεί περισσότερο, το κρασί αποκτά περισσότερα αρώματα που προέρχονται από τη ζύμωση. Ειδικά στα λευκά κρασιά, πολλοί οινοποιοί ρυθμίζουν τη θερμοκρασία της ζύμωσης σε χαμηλά επίπεδα (περίπου 15-20 βαθμούς Κελσίου) με τη χρήση τεχνητών μέσων, προκειμένου να επιβραδύνουν τη διαδικασία, επιτρέποντας έτσι την ανάπτυξη περισσότερων αρωμάτων κατά τη διάρκειά της.

Μετά το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης, όπου το σύνολο των σακχάρων έχει μετατραπεί σε αλκοόλ, το κρασί μεταφέρεται σε δεξαμενές αποθήκευσης. Εκεί, με την πάροδο του χρόνου, το κρασί υποστηρίζει διαδικασία ωρίμανσης που του επιτρέπει να αποκτήσει την επιθυμητή ποιότητα και αρώματα, κατασταλάζοντας σε μια κατάσταση ιδανική για κατανάλωση (Σουφλερός, 2015).

1.9 Οι ποικιλίες

Κάθε ποικιλία της αμπέλου έχει τα δικά της χαρακτηριστικά. Σε κάθε έδαφος, κλίμα κ.ά. επιλέγεται το κατάλληλο υποκείμενο και ποικιλία, προκειμένου να είναι ανθεκτικά στη φυλλοξήρα, στο συγκεκριμένο κλίμα και στη συγκεκριμένη σύσταση του εδάφους.

1.9.1 Ασύρτικο

Είναι μια λευκή ποικιλία με παγκόσμια εμβέλεια και ανήκει στις σπουδαιότερες ποικιλίες της Μεσογείου. Καλλιεργείται κυρίως στις Κυκλάδες, με κύρια έκταση στη Σαντορίνη (Ασύρτικο Σαντορίνης), αλλά έχει εξαπλωθεί σε ολόκληρη την Ελλάδα. Αποτελεί μία από τις σημαντικότερες γηγενείς ποικιλίες όσον αφορά την ποιότητα. Πρόκειται για μεσοπρώιμη ποικιλία, ζωηρή και υψηλής παραγωγικότητας. Παράγει κυρίως λευκά ξηρά κρασιά, με μεγάλη ικανότητα ωρίμανσης και σε βαρέλι. Το Ασύρτικο επίσης συμμετέχει και στην παραγωγή του διάσημου φυσικού γλυκού οίνου

Vinstanto, το οποίο προέρχεται από λιαστά σταφύλια της ποικιλίας Ασύρτικο. Η συγκεκριμένη ποικιλία πρόκειται για μια ξεχωριστή και ιδιαίτερα εκλεκτή ελληνική ποικιλία, διότι το γλεύκος χαρακτηρίζεται από υψηλές συγκεντρώσεις σακχάρων αλλά και οργανικών οξέων, γεγονός που αποτελεί τον τέλειο συνδυασμό για την παραγωγή εκλεκτών οίνων (Νικολάου,2012). Τα λευκά κρασιά από τη συγκεκριμένη ποικιλία μπορούν να παραμείνουν για 5-10 χρόνια για επιπλέον παλαιώση στο μπουκάλι, ενώ τα γλυκά κρασιά μπορούν να ζήσουν για πάντα.

Οι οφθαλμοί της βάσης της κληματίδας (τυφλός και πρώτος λανθάνων) δεν είναι γόνιμοι. Κάθε καρποφόρος βλαστός παράγει δύο σταφύλια. Διακρίνεται για την αντοχή της στην ξηρασία, τον περονόσπορο και το ωίδιο. Ένα εξαιρετικό χαρακτηριστικό είναι η διατήρηση υψηλών επιπέδων οξύτητας κατά την ωρίμανσή της, κάτι που την καθιστά υπερέχουσα σε σχέση με πολλές άλλες ποικιλίες.



Εικόνα 11: Η ποικιλία Ασύρτικο σε κουλούρα.

Οι ισχυροί άνεμοι της Σαντορίνης ανάγκασαν τους καλλιεργητές να προσαρμόσουν το Ασύρτικο σε έναν μοναδικό τρόπο, όπως φαίνεται στην εικόνα (εικόνα 11), γνωστό ως "καλάθι" ή "κουλούρα". Οι κληματίδες τυλίγονται μεταξύ τους, δημιουργώντας έναν προστατευτικό περίβολο για τα φυτά. Σε αυτήν την προσέγγιση, τα φυτά φυτεύονται σε αραιές σειρές, ενώ οι κληματίδες, ακόμη και τα παλαιότερα κομμάτια του φυτού, διαμορφώνονται ώστε να μοιάζουν με φωλιά πτηνών. Το σύστημα αυτό διαθέτει μακριά κλάδευση καρποφορίας, με αμολυτές που φέρουν 8-15 οφθαλμούς, ή μικτή κλάδευση με κεφαλές που έχουν 2 οφθαλμούς και αμολυτές με 6-8 οφθαλμούς, τυλιγμένους σε κύκλο. Με αυτόν τον τρόπο, προστατεύονται τα φυτά και, ειδικά, τα σταφύλια από την άμμο και το χόμα λόγω των έντονων ανέμων στη Σαντορίνη. Ταυτόχρονα, διασφαλίζεται η απαιτούμενη ποσότητα νερού χωρίς την ανάγκη ποτίσματος. Λόγω του αμμώδους εδάφους, η φυλλοξήρα δεν παρουσιάζεται ποτέ στο νησί, και τα φυτά είναι αυτόρριζα. Επιπλέον, λόγω της μεγάλης ηλικίας των πρέμων, έχουν αναπτύξει ένα βαθύ ριζικό σύστημα που τους παρέχει αντοχή στην ξηρασία (Νικολάου,2012).

Διαθέτει ράγες με χοντρό φλοιό και εμφανίζει σημαντική ανθεκτικότητα σε ποικίλες ασθένειες που επηρεάζουν τις αμπελώνες, όπως το ωίδιο, ο περονόσπορος και ο βοτρυτής. Αυτή η ανθεκτικότητα οδήγησε στην κυριαρχία της στη Σαντορίνη, αντικαθιστώντας τη λεπτόφλουδη ποικιλία Αθήρι. Το Αθήρι είναι πιο ευαίσθητο στο ωίδιο και τον βοτρυτή, ενώ εκδηλώνει μικρότερη ανθεκτικότητα στην ξηρασία. Γενικότερα στον κάθε βλαστό υπάρχουν 2 σταφυλές, όπου η καθεμία είναι μεγάλη με

κωνικό σχήμα και πυκνόρραγη. Η κάθε σταφυλή έχει μέτριο αριθμό ραγών. Η ράγα τώρα, είναι μικρή με φλοιό κιτρινοπράσινου χρώματος, ομοιομορφία μεταξύ των ραφών στη σταφυλή. Η σάρκα στο εσωτερικό της ράγας δεν έχει πολύ χυμό, έχει γλυκιά γεύση χωρίς όμως ιδιαίτερα αρωματικά χαρακτηριστικά, Μέσα στη ράγα υπάρχουν 2-3 γίγαρτα μεσαίου βάρους και γενικότερα μεγέθους.

1.9.2 Ροδίτης

Σε συνδυασμό με το Σαββατιανό, αποτελούν τις δύο κορυφαίες ποικιλίες του ελληνικού αμπελώνα, καταλαμβάνοντας σήμερα ποσοστό 14,3% (το Σαββατιανό 16,5%) της συνολικής έκτασης, έναντι του 5,3% που αντιστοιχεί στο Αγιωργίτικο, την τρίτη ποικιλία με βάση την έκταση. Συμμετέχουν επίσης στην παραγωγή ρητινίτη οίνου. Είναι γνωστή και ως Ρογδίτης, Ροϊδίτης, Αλεπού, Ροδομούσι, Σουρβιώτης, Βιολεντό. Η καλλιέργειά της εκτείνεται από άκρη σε άκρη της ηπειρωτικής χώρας και εμφανίζεται σε πολλές κλωνικές παραλλαγές, με ράγες που κυμαίνονται από λευκές έως βαθιά ερυθρώπες.

Πρόκειται για μια υψηλά παραγωγική ποικιλία με μεγάλα σταφύλια (εικόνα 12), εμφανίζοντας ζωνρότητα και εξαιρετική προσαρμοστικότητα (Σταυρακάκης 2010). Είναι μέσης εποχής ωρίμανσης, ενώ είναι ευαίσθητη στα ηλιακά καψίματα. Παρουσιάζει επίσης ευαισθησία στον περονόσπορο, το ωίδιο και ιδιαίτερα υψηλή ευαισθησία στον μολυσματικό εκφυλισμό. Η ποικιλία αυτή ευδοκιμεί σε γόνιμα, δροσερά και αρδευόμενα αργιλοασβεστώδη εδάφη (Σταυρακάκης 2010). Οι εδαφοκλιματικές συνθήκες και η αμπελοκομική τεχνική, σε συνδυασμό με την επιλεγόμενη ποικιλία του κλώνου, έχουν σημαντική επίδραση στην ποιότητα του παραγόμενου οίνου. Ειδικότερα, η ποιότητα του οίνου είναι υποδεέστερη σε πεδινούς, γόνιμους και αρδευόμενους αμπελώνες, όπου η παραγωγικότητα είναι υψηλή, ενώ είναι ανώτερη σε ορεινούς και ημιορεινούς αμπελώνες με ελαφριά εδάφη.



Εικόνα 12: Η ποικιλία Ροδίτης.

Παρουσιάζει αρκετή ευαισθησία στην ανθόρροια, η οποία μπορεί να διαχειριστεί με ελαφρύ κλάδεμα καρποφορίας και απαλό κορυφολόγημα, σε συνδυασμό με μείωση της λίπανσης και της άρδευσης. Το κλάδεμα καρποφορίας πραγματοποιείται σε 2-3 οφθαλμούς, ανάλογα με τη ζωνρότητα του πρέμνου. Χρησιμοποιείται για την παραγωγή ποικιλίας γνωστών οίνων, είτε μονοποικιλιακών είτε πολυποικιλιακών, σε συνδυασμό με άλλες ποικιλίες. Συμμετέχει επίσης στην παραγωγή παραδοσιακών επιτραπέζιων οίνων, όπως η ρετσίνα και το κοκκινέλι.

Η ράγα είναι μικρή και σφαιρική με φλοιό χρώματος πράσινο έως ρόδινο. Οι ράγες δεν έχουν ομοιομορφία μεταξύ τους όσον αφορά τον χρωματισμό τους, καθώς κάποιες είναι πιο έντονα ρόδινες, ενώ κάποιες άλλες όχι. Η σάρκα στο εσωτερικό δεν έχει κάποιο συγκεκριμένο χρώμα, είναι μέτρια μαλακή και με όχι ιδιαίτερα πολύ χυμό. Η ποικιλία Ροδίτης, όπως και το Ασύρτικο, έχει γλυκιά γεύση αλλά όχι κάποιο ιδιαίτερο αρωματικό χαρακτηριστικό. Η κάθε ράγα περιέχει 2-3 γίγαρτα, είναι μεσαίου μεγέθους και μικρού βάρους.

1.9.3 Μοσχοφίλερο

Πρόκειται για μια ποικιλία (εικόνα 13) με έντονη χρωματική ποικιλομορφία. Το Μοσχοφίλερο αναπτύσσεται κυρίως στην Πελοπόννησο, και συγκεκριμένα στη Μεσσηνία, τη Λακωνία, τα νησιά του Ιονίου Πελάγους, τη Πρέβεζα, τη Μαγνησία, και πρόσφατα στη Φλώρινα. Ωστόσο, η κύρια περιοχή καλλιέργειας είναι το Αρκαδικό οροπέδιο, ιδίως στην περιοχή της Μαντινείας, όπου έχει ενσωματωθεί με την τοπική γη. Κατατάσσεται στην ομάδα των "Φιλέρια", μιας ποικιλιακής ομάδας που έχει εξελιχθεί σε πολλές υποποικιλίες, όπως το Μαυροφίλερο, το Κοκκινοφίλερο, το Ασπροφίλερο, κ.ά. Το Μοσχοφίλερο θεωρείται η ανώτερη ποικιλία αυτής της ομάδας λόγω των εξαιρετικά αρωματικών του χαρακτηριστικών (Νικολάου, 2012).



Εικόνα 13: Η ποικιλία Μοσχοφίλερο.

Το Μοσχοφίλερο είναι μια πολυδύναμη ποικιλία που προσφέρει πληθώρα δυνατοτήτων στην παραγωγή κρασιών. Από αυτή την ποικιλία προκύπτουν διάφορα είδη κρασιών, όπως ξηρά λευκά, ροζέ, αφρώδη ή ακόμη και γλυκά κρασιά. Η βλάστησή του ξεκινά τον Απρίλιο και η ωρίμανσή του συμβαίνει από τα τέλη Σεπτεμβρίου έως τις αρχές Οκτωβρίου. Κάθε καρποφόρα κληματίδα φέρει 1-2 μέτρια έως μεγάλα σταφύλια. Η ανθόρροια εμφανίζεται ειδικά όταν η καλλιέργεια γίνεται σε γόνιμα εδάφη, σε συνθήκες υψηλής ζωηρότητας και υπό την επίδραση βροχοπτώσεων και χαμηλών θερμοκρασιών κατά την περίοδο της άνθησης. Πρόκειται για ζοηρή και παραγωγική ποικιλία που ευδοκιμεί σε βαθιά εδάφη με μέση γονιμότητα, τα οποία διατηρούν υγρασία και εξασφαλίζουν την καλή απόδοσή της στην κρίσιμη περίοδο. Επιπλέον, παρουσιάζει εξαιρετική συγγένεια με ποικίλα υποκείμενα και αποδέχεται κλάδεμα σε ύψος 2-3 ματιών.

Η ράγα του φυτού είναι μικρή και σφαιρική με το χρώμα του φλοιού να είναι ερυθροπράσινο έως πράσινο. Και σε αυτή την περίπτωση της ποικιλίας, το χρώμα στις ράγες δεν είναι ομοιόμορφο, καθώς κάποιες μπορεί να είναι πιο κοκκινωπές από κάποιες άλλες. Η σάρκα της ράγας δεν είναι χρωματισμένη, είναι μαλακή σε μέτριο επίπεδο με μέτρια περιεκτικότητα χυμού. Η γεύση της είναι υπόξινη και εδώ υπάρχει ένα σχετικά μοσχάτο άρωμα. Η κάθε ράγα κατά κύριο λόγο έχει 2 γίγαρτα και γενικά είναι μέσου μεγέθους και βάρους (Νικολάου, 2012).

1.9.4 Βιδιανό.

Το Βιδιανό είναι μια λευκή ποικιλία αμπέλου (εικόνα 14), όπου προέρχεται από την Κρήτη και χρησιμοποιείται για την παραγωγή λευκών ξηρών οίνων, οι οποίοι καμιά φορά ωριμάζουν σε βαρέλια. Αν και οι αμπελώνες με Βιδιανό είναι λίγοι, οι παραγωγοί συμφωνούν για τις εξαιρετικές δυνατότητες που προσφέρει αυτή η ποικιλία, και η ιστορία της αναγράφεται τα τελευταία χρόνια. Οι αμπελώνες με Βιδιανό, κυρίως εντοπίζονται γύρω από το Ρέθυμνο στην Κρήτη, καλύπτοντας μικρές εκτάσεις, ενώ υπάρχουν επίσης λίγοι αμπελώνες πιο ανατολικά, κοντά στο Ηράκλειο. Τα κρασιά που προκύπτουν από το Βιδιανό είναι κιτρινοπράσινα, πλούσια σε αρώματα που θυμίζουν ώριμο ροδάκινο και βερίκοκο, με νύξεις αρωματικών βοτάνων και ορυκτής προέλευσης. Στο στόμα είναι γεμάτα με υψηλή αλκοολική δύναμη, η οποία ισορροπείται ικανοποιητικά από τη μετρίως υψηλή οξύτητα. Το στυλ του Βιδιανού μπορεί να είναι πλούσιο, διατηρώντας παράλληλα τη φρεσκάδα και τη ζωντάνια. Οι παραγωγοί επιχειρούν να αναδείξουν το δυναμικό του σταφυλιού, φυτεύοντάς το σε δροσερούς αμπελώνες μεγάλου υψόμετρου ή συνδυάζοντάς το με άλλες ποικιλίες, όπως η Βηλάνα (Νικολάου, 2012).

Το Βιδιανό είναι μια ποικιλία αμπέλου που αντέχει στη ζέστη και την ξηρασία, διατηρώντας τον αρωματικό του χαρακτήρα σε άριστο επίπεδο. Οι αμπελώνες της περιοχής των Δαφνών βρίσκονται βορειοανατολικά του Ψηλορείτη. Το ανάγλυφο της ευρύτερης περιοχής σχηματίζεται από περίπου τρεις κύριες λοφοσειρές, σχεδόν παράλληλες μεταξύ τους, εκτείνονται από το βόρειο τμήμα του νομού προς το νότο, με υψόμετρο 300-500μ. Στις πλαγιές αυτών των λοφοσειρών φυτεύονται τα αμπέλια των Δαφνών, κυρίως με ανατολικό ή δυτικό προσανατολισμό. Οι επιμήκεις κοιλάδες που δημιουργούνται ανάμεσα στις λοφοσειρές λειτουργούν σαν φυσικά κανάλια, διοχετεύοντας το δροσερό αέρα από το κρητικό πέλαγος προς το κέντρο του νομού, τηρώντας τη θερμοκρασία σε πολύ ευχάριστα επίπεδα το καλοκαίρι. Οι βροχοπτώσεις είναι σπάνιες κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού, εξασφαλίζοντας την υγεία των φυτών και των σταφυλιών. Σε αυτό το μοναδικό μικροκλίμα οφείλεται η καλλιέργεια του αμπελιού στην περιοχή για αιώνες, ξεκινώντας από την εποχή της Ενετοκρατίας (13ος - 17ος αιώνας) (Νικολάου, 2012).

Οι ράγες της ποικιλίας Βιδιανό είναι μετρίου μεγέθους, λαμπερές και έχουν ελλειμοειδές σχήμα. Ο φλοιός της ράγας είναι χαρακτηριστικά παχύς και ανθεκτικός, ενώ διακρίνεται από το έντονο πρασινοκίτρινο χρώμα του. Η σάρκα της ράγας είναι μαλακή, εξαιρετικά γλυκιά, παρουσιάζοντας έντονο και λεπτό άρωμα. Κάθε ράγα έχει 2 γίγαρτα, μεγάλα και με κοντό ράμφος.



Εικόνα 14: Η ποικιλία Βιδιανό.

1.10 Υγρή χρωματογραφία

Η χρωματογραφία αναφέρεται σε μια ευρεία γκάμα μεθόδων ανάλυσης, οι οποίες επιτρέπουν στον χημικό αναλυτή να διαχωρίσει ουσίες με παρόμοιες χημικές ιδιότητες εντός πολύπλοκων μιγμάτων. Σε κάθε χρωματογραφικό διαχωρισμό, το δείγμα κινείται μέσα σε μια κινητή φάση, η οποία μπορεί να είναι αέριο, υγρό ή υπερκρίσιμο ρευστό. Στη συνέχεια, η κινητή φάση αναγκάζεται να περάσει μέσα από μια στατική φάση, η οποία είναι ακίνητη σε μια στήλη ή σε μια στερεή επιφάνεια.

Στην υγρή χρωματογραφία, η κινητή φάση είναι υγρή. Οι δύο φάσεις επιλέγονται έτσι ώστε τα συστατικά του δείγματος να κατανέμονται διαφορετικά μεταξύ της κινητής και της στατικής φάσης. Τα συστατικά που ανακτώνται πιο ισχυρά από τη στατική φάση κινούνται αργά κατά τη ροή της κινητής φάσης, ενώ τα ασθενέστερα κινούνται πιο γρήγορα. Αποτέλεσμα αυτών των διαφορών στην κινητικότητα είναι η διάκριση των συστατικών σε ξεχωριστές ζώνες, όπου στη συνέχεια είναι δυνατόν να προσδιοριστούν ποιοτικά ή/και ποσοτικά (Skoog et al., 2005).

1.11 Φασματομετρία μαζών

Η φασματομετρία μάζας αναφέρεται σε μια ομάδα τεχνικών που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό δομής και την ποσοτική ανάλυση ενώσεων και στοιχείων. Αυτές οι τεχνικές βασίζονται στον ιονισμό ατόμων ή μορίων, ή στην παραγωγή ιοντικών θραυσμάτων μορίων, με την καταγραφή της σχετικής έντασης του ιοντικού ρεύματος ανάλογα με τον λόγο μάζας προς φορτίο (m/z), γνωστό ως φάσμα μάζας.

Στο φάσμα μάζας, το σήμα που λαμβάνεται ονομάζεται κορυφή, και η θέση της κορυφής αντιπροσωπεύει τον λόγο m/z του ιόντος. Η ένταση της κορυφής αντιστοιχεί στην ποσότητα του ιόντος στον χώρο ανίχνευσης, με τη βασική κορυφή να έχει συνήθως 100% της έντασης. Οι υπόλοιπες κορυφές εκφράζονται ως ποσοστό της έντασης της βασικής κορυφής. Συνήθως, η κορυφή που βρίσκεται στο υψηλότερο m/z προκύπτει από το μοριακό ιόν και ακολουθείται από αρκετές κορυφές σε μικρότερα

m/z, οι οποίες αντιστοιχούν σε ιόντα-θραύσματα του μοριακού ιόντος (Θωμαΐδης 2015).

1.11.1 Αναλυτές μαζών

Ένας ιδανικός αναλυτής μαζών θα πρέπει να είναι ικανός να διακρίνει μικρές διαφορές στις μάζες, επιτρέποντας παράλληλα τη διέλευση πολλών ιόντων για να παράγει ένα συνεχές, μετρήσιμο ρεύμα ιόντων. Οι αναλυτές μαζών μπορούν να κατηγοριοποιηθούν στην κατηγορία των συνεχών αναλυτών μάζας, όπου η ανάλυση επικεντρώνεται στην ακριβή μέτρηση του λόγου μάζας προς φορτίο (m/z) των ιόντων που προέρχονται από την πηγή ιόντων, όπως το τετράπολο (Q) και στους παλμικούς αναλυτές μάζας, όπου η ανάλυση εστιάζεται σε ομάδες ιόντων, γνωστές ως παλμοί, που δημιουργούνται στην ίδια την πηγή ιόντων. Αυτοί οι παλμικοί αναλυτές μπορεί να περιλαμβάνουν αναλυτές χρόνου πτήσης (TOF), όπου η ανάλυση βασίζεται στο χρόνο που χρειάζεται για να φτάσουν τα ιόντα από την πηγή στον ανιχνευτή (Θωμαΐδης, 2015).

Ο ιοντισμός με ηλεκτροψεκασμό για τη φασματομετρία μαζών (ESI/MS) πρωτοπαρουσιάστηκε το 1984 και από τότε έχει γίνει μία από τις κυριότερες τεχνικές για την ανάλυση βιομορίων, όπως πολυπεπτίδια, πρωτεΐνες και ολιγονουκλεοτίδια με μοριακά βάρη άνω των 100.000 Da. Επιπλέον, αυτή η τεχνική έχει αρχίσει να χρησιμοποιείται για τον χαρακτηρισμό ανόργανων ουσιών και συνθετικών πολυμερών. Η διαδικασία του ιοντισμού με ηλεκτροψεκασμό λαμβάνει χώρα σε περιβάλλον ατμοσφαιρικής πίεσης και θερμοκρασίας. Το δείγμα αντλείται μέσω μιας ανοξείδωτης τριχοειδούς βελόνας με ταχύτητα μερικών μικρολίτρων ανά λεπτό. Η βελόνα τίθεται υπό δυναμικό τάσης αρκετών χιλιοβολτ ως προς ένα κυλινδρικό ηλεκτρόδιο που περικλείει τη βελόνα. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας, φορτισμένες μικρές σταγόνες διαμορφώνονται και διέρχονται μέσω ενός τριχοειδούς, όπου ο διαλύτης εξατμίζεται και τα μόρια του αναλύτη φορτίζονται. Καθώς οι σταγόνες σμικρύνονται εξαιτίας της εξάτμισης του διαλύτη, η πυκνότητα του φορτίου αυξάνεται, προκαλώντας την εκρόφιση των ιόντων στο περιβάλλον αέρα. Ένα επιπλέον χαρακτηριστικό του ιοντισμού με ηλεκτροψεκασμό είναι η ευκολία προσαρμογής του σε συστήματα άμεσης εισαγωγής δείγματος από στήλες υγρής χρωματογραφίας και ηλεκτροφόρησης σε τριχοειδές (Skoog et al., 2007).

Το σύστημα LCQTOF (Liquid Chromatography Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometer) είναι ένας σύνθετος αναλυτής μάζας που συνδυάζει δύο βασικούς τύπους αναλύσεων: την υγρή χρωματογραφία (LC) και τον αναλυτή μάζας (TOF).

1. **Υγρή Χρωματογραφία (LC):** Η LC είναι μια τεχνική διαχωρισμού ουσιών βασισμένη στη διάλυση του δείγματος σε ένα υγρό και στην παρεμβολή του μεταξύ διαφορετικών φάσεων (συνήθως μια σταθερή φάση και μια κινητή φάση) για να προκαλέσει τον διαχωρισμό των συστατικών του.
2. **Αναλυτής Μάζας (TOF):** Ο αναλυτής TOF απομονώνει τα ιόντα με βάση τον χρόνο που χρειάζονται για να διανύσουν ένα καθορισμένο διάστημα, αντί για την θέση τους στο χώρο. Κατά τη διαδικασία αυτή, τα ιόντα επιταχύνονται σε μια περιοχή με ηλεκτρικό πεδίο γνωστής αντοχής, που ονομάζεται "σωλήνας πτήσης". Η διάκριση των ιόντων επιτυγχάνεται μέσω της μέτρησης της διαφοράς χρόνου που χρειάζεται κάθε ιόν να διανύσει τον σωλήνα πτήσης από την ιοντική πηγή μέχρι τον ανιχνευτή. Η ταχύτητα των ιόντων εξαρτάται από

τον λόγο της μάζας προς το φορτίο τους, με τα βαρύτερα ιόντα του ίδιου φορτίου να έχουν χαμηλότερες ταχύτητες, ενώ τα ιόντα με υψηλότερη φόρτιση έχουν μεγαλύτερες ταχύτητες. Έτσι, ο χρόνος που απαιτείται για να φτάσει κάθε ιόν στον ανιχνευτή είναι ανάλογος του λόγου της μάζας προς το φορτίο του. Από αυτήν την αναλογία και τις πειραματικές παραμέτρους, μπορεί να αναγνωρισθεί το ιόν (Θεοδωρίδης, 2015).

Ένας αναλυτής LC/QTOF συνδυάζει αυτές τις δύο τεχνικές (την LC και το TOF), για να προσφέρει υψηλή ανάλυση, ακρίβεια και ευαισθησία. Η ταχύτητα του αναλυτή TOF συνδυάζεται με την ικανότητα της LC για διαχωρισμό, επιτρέποντας την ανίχνευση και ανάλυση σύνθετων μειγμάτων. Το QTOF (quadrupole–time-of-flight) είναι ένα υβριδικό όργανο που επιβάλλεται για τη διερεύνηση διαδοχικών φασματομετρικών μετρήσεων μάζας, προσφέροντας εξαιρετικές δυνατότητες ανίχνευσης και αναγνώρισης ενώσεων σε ευρύ φάσμα μαζών, σε διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες. Αυτό συμβαίνει λόγω της υψηλής διακριτικής ικανότητας στη μέτρηση της ακριβούς μάζας του προδρόμου και των παραγόμενων ιόντων (Lianda et al., 2012).

Το QTOF αποτελείται από τρία συνεχόμενα τμήματα: Ένα τετράπολο (quadrupole, Q) που ελέγχει τη μάζα των ιόντων, μια κυψελίδα συγκρούσεων (collision cell) όπου προκαλούνται συγκρούσεις για τον διαχωρισμό των ιόντων, και έναν αναλυτή μάζας χρόνου πτήσης (time of flight, TOF) που μετρά το χρόνο που απαιτείται για να φτάσουν τα ιόντα από την πηγή στον ανιχνευτή.

Αυτός ο τύπος αναλυτή χρησιμοποιείται ευρέως σε πολλούς τομείς, όπως η ανάλυση πρωτεϊνών, και η μελέτη βιομορφικών δειγμάτων.

1.11.2 Αναλυτής μαζών «χρόνου πτήσης» (Time of Flight-TOF)

Ο αναλυτής μάζας "χρόνου πτήσης" λειτουργεί με έναν σωλήνα πορείας ή "πτήσης". Στην πηγή ιοντισμού, δημιουργούνται ιόντα που επιταχύνονται σε ένα παλμικό ηλεκτρικό πεδίο με τάση 10^3 - 10^4 V και συχνότητα παλμού που ταιριάζει με τον παλμό που προκαλεί τον ιοντισμό.

Τα επιταχυνόμενα ιόντα διασχίζουν ένα σωλήνα πορείας, με μήκος περίπου ένα μέτρο και απαλλαγμένο από πεδία. Καθώς όλα τα ιόντα έχουν την ίδια κινητική ενέργεια κατά την είσοδό τους στο σωλήνα, οι ταχύτητές τους στον σωλήνα είναι αντιστρόφως ανάλογες με τις μάζες τους ($K=1/2mu^2$). Τα ελαφρύτερα σωματίδια φτάνουν στον ανιχνευτή νωρίτερα σε σχέση με τα βαρύτερα. Οι συνήθεις χρόνοι πτήσης κυμαίνονται από 1 έως 30 μ s (Skoog et al., 2005).

Τα πιο προηγμένα όργανα TOF βασίζονται στην τεχνική αντανάκλασης (Reflectron TOF-MS). Σε αυτά, εφαρμόζεται υψηλής τάσης ηλεκτρικός παλμός για την επιτάχυνση των ιόντων προς τον σωλήνα "πτήσης" με ορθογώνια κατεύθυνση. Η λειτουργία αντανάκλασης δεν αποσκοπεί μόνο στον διπλασιασμό του μήκους της πορείας πτήσης για επίτευξη μεγαλύτερων χρόνων πτήσης και, συνεπώς, υψηλότερης ανάλυσης. Επιπλέον, προωθεί τη βαθύτερη διείδυση των ιόντων με μεγαλύτερη κινητική ενέργεια. Οι αναλυτές TOF λειτουργούν με τον εξής τρόπο: τα ιόντα επιταχύνονται σε μια περιοχή με ηλεκτρικό πεδίο, γνωστή ως "σωλήνας πτήσης". Η διαχωριστική ικανότητα επιτυγχάνεται με τη μέτρηση του χρόνου που απαιτείται για να διανύσουν τα ιόντα την απόσταση από την ιονική πηγή έως τον ανιχνευτή.

Η ταχύτητα του ιόντος εξαρτάται από τον λόγο της μάζας προς το φορτίο του. Ιόντα με μεγαλύτερη μάζα ή μικρότερο φορτίο έχουν χαμηλότερες ταχύτητες, ενώ ιόντα με

υψηλότερο φορτίο έχουν υψηλότερες ταχύτητες. Ο χρόνος που απαιτείται για να φτάσει ένα ιόν στον ανιχνευτή είναι ανάλογος του λόγου μάζας προς φορτίο. Συνδυάζοντας αυτήν τη σχέση με πειραματικές παραμέτρους, είναι δυνατόν να αναγνωρισθεί το ιόν και να προκύψουν πληροφορίες για τη σύνθεση του (Θεοδωρίδης, 2015).

Η βαθύτερη διείσδυση οδηγεί σε μεγαλύτερες διαδρομές των ιόντων. Ο ανιχνευτής, τοποθετημένος στο τέλος της πορείας πτήσης, καταγράφει τον χρόνο άφιξης και τον αριθμό των εισερχομένων ιόντων. Το τετράγωνο του χρόνου πτήσης σχετίζεται με το m/z (μάζα προς φορτίο) του ανιχνευόμενου ιόντος, επιτρέποντας τον υπολογισμό των m/z μετά από μια διαδικασία βαθμονόμησης του οργάνου (Fernandez 2012).

1.12 Παράμετροι αξιολόγησης αναλυτικής μεθόδου

Η ανάγκη για επιβεβαίωση των αναλυτικών μεθόδων γίνεται όλο και πιο επιτακτική τα τελευταία χρόνια, με σκοπό να αποδειχθεί η αξιοπιστία των μεθόδων αυτών. Με τον όρο "επιβεβαίωση" εννοείται η διαδικασία επικύρωσης μετά την εξέταση σειράς προτύπων και εμβολιασμένων δειγμάτων, καθώς και τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων τους. Επομένως, η επιβεβαίωση της αναλυτικής μεθόδου αποτελεί μια διαδικασία με στόχο την επιβεβαίωση ότι η επιλεγμένη αναλυτική διαδικασία για μια συγκεκριμένη δοκιμασία είναι κατάλληλη για τον σκοπό της. Αυτή η διαδικασία παρέχει στον αναλυτικό χημικό τα απαραίτητα δεδομένα για να αποδείξει την ορθή λειτουργία του συστήματος, της προ-επεξεργασίας του δείγματος, του εργαλείου, των δειγμάτων και των διαλυμάτων, και την παραγωγή αξιόπιστων αποτελεσμάτων. Οι μέθοδοι απαιτούν επαλήθευση ή ανανέωση της εγκυρότητάς τους σε αρκετά στάδια: κατά την πρώτη τους εφαρμογή, μετά την ανάπτυξη και βελτιστοποίησή τους, κατά την καθημερινή τους χρήση και όταν υπάρχουν αλλαγές στις αρχικές συνθήκες που είχαν επικυρωθεί. Ο όρος in-house validation σημαίνει ότι η διαδικασία επαλήθευσης της μεθόδου διενεργείται εντός του εργαστηρίου, με σκοπό να εξακριβωθεί η ακρίβεια των αποτελεσμάτων. Αυτή η προσέγγιση προσφέρει μια πρακτική και εναλλακτική λύση. Η πρακτική της επικύρωσης εντός του εργαστηρίου περιλαμβάνει την επαλήθευση κάθε νέας μεθόδου που χρησιμοποιείται στο εργαστήριο, ανεξαρτήτως του εάν έχει ήδη επικυρωθεί από διεθνείς οργανισμούς ή άλλα εργαστήρια. Πάντοτε είναι απαραίτητη μια βαθμολογία επικύρωσης, ανάλογα με την περίπτωση, προκειμένου να αποδειχθεί ότι η μέθοδος εφαρμόζεται με συνέπεια, παράγοντας συγκρίσιμα αποτελέσματα. Οι παράμετροι που αξιολογούνται για την επικύρωση της ακρίβειας της μεθόδου είναι αρκετοί και κάποιες από αυτές είναι η γραμμικότητα και τα όρια ευαισθησίας (Ζαχαριάδης, 2013).

1.12.1 Γραμμικότητα

Η γραμμικότητα μιας αναλυτικής μεθόδου, αναφέρεται στην ικανότητά της να υπολογίζει τα αποτελέσματα των μετρήσεων, είτε άμεσα είτε με προκαθορισμένες μαθηματικές μετατροπές, με βάση τη συγκέντρωση των προσδιοριζόμενων συστατικών ενός δείγματος εντός ενός συγκεκριμένου εύρους συγκεντρώσεων. Η γραμμικότητα αξιολογείται μέσω μιας σειράς μετρήσεων μεταξύ 3 έως 6 δειγμάτων, χρησιμοποιώντας 5 ή περισσότερα πρότυπα, των οποίων η συγκέντρωση καλύπτει το εύρος των αναμενόμενων συγκεντρώσεων. Η αξιολόγηση γίνεται με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων και εκφράζεται μέσω του συντελεστή γραμμικής συσχέτισης (R), ο οποίος αντιπροσωπεύει την απόκλιση των τιμών από την καμπύλη αναφοράς. Η

τιμή του συντελεστή R θα πρέπει να κυμαίνεται από 0,98 έως 1,00. Η ευθεία ελαχίστων τετραγώνων αναφέρεται στην εξίσωση της καμπύλης αναφοράς με τη μορφή $y = Bx + A$, όπου B αντιπροσωπεύει την κλίση της ευθείας και καθορίζει την ευαισθησία, ενώ το A αναπαριστά το σημείο τομής της ευθείας με τον άξονα των y. Το εύρος της μεθόδου συνδέεται με την γραμμικότητά της. Αποτελεί το διάστημα μεταξύ της χαμηλότερης και της υψηλότερης τιμής συγκέντρωσης του συστατικού, για το οποίο έχει αποδειχθεί ότι η αναλυτική μέθοδος εμφανίζει ένα κατάλληλο επίπεδο ακρίβειας, επαναληψιμότητας και γραμμικότητας (Ζαχαριάδης, 2013).

1.12.2 Ευαισθησία – Όρια Ευαισθησίας: Όριο ανίχνευσης (LOD) και όριο ποσοτικής αποτίμησης (LOQ)

Η ευαισθησία μιας μεθόδου αναφέρεται στην ικανότητά της να παρουσιάζει αξιοπιστία σε χαμηλές συγκεντρώσεις ενός συστατικού. Τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγησή της είναι το όριο ανίχνευσης (LOD) και το όριο ποσοτικής αποτίμησης ή ποσοτικοποίησης (LOQ).

Το όριο ανίχνευσης ορίζεται ως η χαμηλότερη συγκέντρωση του συστατικού που μπορεί να ανιχνευθεί πάνω από τη βασική γραμμή θορύβου στον ανιχνευτή. Στην πράξη, αυτή είναι η ποσότητα που παρουσιάζει κορυφή με ύψος διπλάσιο ή τριπλάσιο του ύψους του θορύβου της βασικής γραμμής. Υπολογίζεται με τη σχέση: $LOD = 3 \times S/N$, όπου S/N αντιπροσωπεύει τον λόγο σήματος προς θόρυβο (signal-to-noise ratio) (Skoog et al., 2007).

Το όριο ποσοτικής αποτίμησης αντιστοιχεί στην ελάχιστη ποσότητα του εισαγόμενου συστατικού που υπερβαίνει τον θόρυβο της βασικής γραμμής και εμφανίζει επαναλήψιμες κορυφές που μπορούν να προσδιοριστούν ποσοτικά. Για να είναι αξιόπιστες, οι κορυφές πρέπει να είναι 10 - 20 φορές ψηλότερες από τον θόρυβο της βασικής γραμμής. Η ποσότητα αυτή υπολογίζεται με τη σχέση: $LOQ = 10 \times S/N$, όπου S/N αντιπροσωπεύει τον λόγο σήματος προς θόρυβο.

Επιπλέον, υπάρχει η σχέση μεταξύ των ορίων ανίχνευσης και ποσοτικής αποτίμησης, η οποία δίνεται από τη σχέση: $LOQ = 3LOD$.

1.12.3 Επίδραση υποστρώματος (matrix effect).

Παρόλο που η LC-MS είναι μία από τις πιο ευαίσθητες και επιλεκτικές αναλυτικές τεχνικές, συχνά υποφέρει από τα matrix effects, ειδικά όταν χρησιμοποιείται ESI για την ανάλυση εκχυλισμάτων περίπλοκων πινάκων (Matuszewski et al., 1998). Τα matrix effects προκαλούνται συχνά από την αλλαγή της αποτελεσματικότητας ιονισμού των αναλυτών-στόχων παρουσία ενώσεων συν-έκλυσης στην ίδια μήτρα. Τα matrix effects μπορούν να παρατηρηθούν είτε ως απώλεια σε απόκριση (καταστολή ιόντων) είτε ως αύξηση στην απόκριση (ενίσχυση ιόντων). Τόσο η καταστολή ιόντων όσο και η ενίσχυση επηρεάζουν δραματικά την αναλυτική απόδοση μιας μεθόδου (Gosetti et al., 2010). Επομένως, τα matrix effects πρέπει να αξιολογούνται κατά την επικύρωση μιας μεθόδου LC-MS. Από τότε που παρατηρήθηκαν για πρώτη φορά τα matrix effects, έχουν γίνει προσπάθειες για την κατανόηση των μηχανισμών και την ελαχιστοποίησή τους (Gosh et al., 2012).

1.12.4 Ανάκτηση (recovery) μεθόδου

Για τον εντοπισμό ενώσεων-στόχων, συχνά χρειάζεται να χρησιμοποιηθεί μια προεπεξεργασία, συνήθως μια τεχνική εκχύλισης, προκειμένου να απομονωθεί και να επιλεγθεί το επιθυμητό βιομόριο-στόχος από το υπόστρωμα. Η ικανότητα εκχύλισης της αναλυτικής διαδικασίας που ακολουθείται, περιγράφεται ως ποσοστό ανάκτησης του ενδιαφερόμενου συστατικού μετά την εκχύλιση και υπολογίζεται μέσω ειδικής σχέσης: $R^2 = (\text{Πειραματική τιμή} / \text{Θεωρητική ή πραγματική τιμή}) * 100$

Η προβλεπόμενη ανάκτηση εξαρτάται από την ποιότητα του υποστρώματος του δείγματος, την διαδικασία προ-επεξεργασίας του δείγματος και τη συγκέντρωση του συγκεκριμένου συστατικού, και μπορεί να υπολογιστεί με τη χρήση μεθόδων εξωτερικού ή εσωτερικού προτύπου. Το ποσοστό της ανάκτησης δεν είναι πάντα αναγκαίο να είναι 100%, αν και είναι επιθυμητό, αρκεί το ποσοστό της προσδιοριζόμενης ένωσης που λαμβάνεται, να είναι σε σταθερή τιμή (Ζαχαριάδης, 2013).

1.13 Σκοπός της μελέτης

Το ξεφύλλισμα, όπως προαναφέρθηκε είναι μια καλλιεργητική τεχνική που εφαρμόζεται στον αμπελώνα και μπορεί να επιφέρει αλλαγές, τόσο στο σταφύλι όσο και στον μετέπειτα παραγόμενο οίνο. Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας, είναι να μελετηθεί και να εξεταστεί το πώς η εφαρμογή του ξεφυλλίσματος κατά τη διάρκεια του περκασμού στο αμπέλι, επηρεάζει τη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των ποικιλιών Ασύρτικο, Μοσχοφίλερο, Ροδίτη και Βιδιανό. Πιο συγκεκριμένα, εδώ στόχος είναι να μελετηθούν σε δείγματα, αν το ξεφύλλισμα έχει επιφέρει κάποιες αλλαγές στη συγκέντρωση των φαινολικών ουσιών στις συγκεκριμένες ποικιλίες, ώστε τελικά να διαπιστωθεί αν η καλλιεργητική αυτή τεχνική συνιστάται, για την παραγωγή υψηλότερης ποιότητας σταφυλιών και τελικά και παραγόμενων οίνων, ως ένα τελικό προϊόν.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Δειγματοληψίες

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε αμπελώνες στην περιοχή της Νεμέας, κατά την καλλιεργητική περίοδο του 2022 και έγινε δειγματοληψία για τις ποικιλίες Ασύρτικο, Μοσχοφίλερο, Ροδίτη και Βιδιανό.

Η δειγματοληψία έγινε λαμβάνοντας αντιπροσωπευτικά δείγματα σε ζικ-ζακ διαδρομές παράλληλα, κατά τη διάρκεια της ημέρας, με συλλογή εσωτερικών και εξωτερικών ολόκληρων βοτρυών που είναι απαλλαγμένα από ιούς, από τα κλαδιά των διάφορων ποικιλιών ενδιαφέροντος. Οι βότρυες συλλέχθηκαν από σκιασμένες και φωτισμένες σταφυλές κατά μήκος δύο διαδρομών. Συγκεκριμένα, από κάθε αμπελώνα συλλέχθηκε ένα συνολικό "bulk sample" περίπου 1000 ράγες. Από αυτό το ομογενές δείγμα, δημιουργήθηκαν υποδείγματα των 50 ραγών για να πραγματοποιηθούν οι 3 επαναλήψεις στην κάθε ποικιλία. Έπειτα, τα φρέσκα δείγματα μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο μέσω ενός φορητού ψυγείου για διατήρηση της φρεσκάδας. Πραγματοποιήθηκε άμεση παραλαβή του γλεύκους από τα φρέσκα δείγματα και τελέστηκαν βασικές χημικές αναλύσεις για την εκτίμηση παραμέτρων ωρίμανσης. Τα υπόλοιπα δείγματα υποβάλλονται σε άμεση ταχεία κατάψυξη. Στη συνέχεια, μεταφέρονται στο εργαστήριο με τη βοήθεια ξηρού πάγου και αποθηκεύονται σε βαθιά κατάψυξη στη θερμοκρασία των -80°C έως τη στιγμή της ανάλυσης.

2.2 Προετοιμασία λυοφιλωμένων δειγμάτων φλοιών και σάρκας.

Κάθε αμπελώνας διαχωρίζεται σε έξι υποδείγματα δειγματοληψίας, με δύο υποδείγματα ανά περιοχή αμπελώνα. Αυτά τα υποδείγματα αποθηκεύονται σε βαθιά κατάψυξη (-80°C). Στη συνέχεια, τα δείγματα διαχωρίζονται στους επιμέρους ιστούς τους, δηλαδή φλοιούς, σάρκα και γίγαρτα, σύμφωνα με την παρακάτω μεθοδολογία.

Φλοιοί: Οι φλοιοί διαχωρίζονται από τις κατεψυγμένες ράγες χρησιμοποιώντας λαβίδες. Στη συνέχεια, τοποθετούνται σε πυκνό τούλι και εμβαπτίζονται σε κρύο απιονισμένο νερό για απομάκρυνση υπολειμμάτων σάρκας. Οι φλοιοί στεγνώνουν πολύ καλά ανάμεσα σε διηθητικά χαρτιά και αποθηκεύονται σε δοχείο πολυπροπυλενίου (PP).

Γίγαρτα: Οι γίγαρτα αφαιρούνται με μαχαίρι και λαβίδα. Στη συνέχεια, αυτοί ζυγίζονται και απορρίπτονται σε περίπτωση λευκών ποικιλιών.

Σάρκα: Η σάρκα συλλέγεται απαλλαγμένη από φλοιούς και γίγαρτα σε δειγματοφορείς PP. Καταγράφεται το μικτό βάρος των δειγματοφορέων και αυτοί καταψύχονται ταχέως με βύθιση σε υγρό άζωτο.

Οι φλοιοί και η σάρκα αλέθονται με ηλεκτρικό blender που έχει προηγουμένως καταψυχθεί. Τα αλεσμένα δείγματα συλλέγονται σε δειγματοφορείς PP και αποθηκεύονται σε αεροστεγή βαζάκια σε κατάψυξη (-25°C). Η λυοφιλίωση των δειγμάτων διαρκεί 2 ημέρες για τους φλοιούς και 4-5 ημέρες για τα γίγαρτα. Μετά τη λυοφιλίωση, τα δείγματα αποθηκεύονται σε περιέκτες πολυπροπυλενίου σε κατάψυξη.

2.3 Αντιδραστήρια

Για την εκχύλιση των φαινολικών συστατικών από λυοφιλιωμένους φλοιούς λευκών σταφυλιών χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρια κατάλληλης καθαρότητας. Χρησιμοποιήθηκε νερό χρωματογραφικής καθαρότητας LC-MS, μεθανόλη χρωματογραφικής καθαρότητας LC-MS, ακετόνη για ανάλυση (Merck) (Acetone, pro-analysis, Merck), φορμικό οξύ χρωματογραφικής καθαρότητας LC-MS (Fluka) (Formic acid LC-MS grade, Fluka) και τριφθοροξικό οξύ χρωματογραφικής καθαρότητας LC-MS (Fluka) (Trifluoroacetic acid LC-MS grade, Fluka).

2.4 Όργανα και συσκευές

Η χρωματογραφική ανάλυση διεξήχθη σε SpectraSYSTEM (Thermo Separation Products, Austin, TX, ΗΠΑ) σύστημα HPLC, που αποτελείται από δευτερεύουσα αντλία διαλύτη P2000, έναν αυτόματο δειγματολήπτη AS3000 εξοπλισμένο με βρόχο έγχυσης 100 μL και δίοδο UV6000LP ανιχνευτή συστοιχίας. Τα χρωματογραφικά δεδομένα παρακολουθήθηκαν και υποβλήθηκαν σε επεξεργασία από το ChromQuest 5.0 (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, ΗΠΑ). Τα δείγματα λυοφιλοποιήθηκαν σε ξηραντήριο Alpha 2–4 LD, που αποκτήθηκε από τον Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH (Osterode am Harz, Γερμανία), η οποία ήταν εξοπλισμένη με περιστροφική αντλία κενού RZ 2,5 Vacuubrand δύο σταδίων (θερμοκρασία συμπυκνωτή: $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, μέγιστη παροχή 2,3/2,8 $\text{m}^3\text{ h}^{-1}$, τελικό κενό $4 \times 10^{-4}\text{ mbar}$). Επίσης υπάρχει και ένα σύστημα φυγοκέντρωσης 5804 R με ρότορα F-45-30-11. Το νερό καθαρίστηκε σε Direct-Q® 3 UV σύστημα καθαρισμού νερού. Για φιλτράρισμα της υδατικής κινητής φάσης, φίλτρα μεμβράνης ME 25 ST 0,45 μm είχαν χρησιμοποιηθεί. Για τη διάλυση της εξάτμισης υπό αέριο άζωτο, ένα TurboVar LV χρησιμοποιήθηκε. Ένα υπερηχητικό λουτρό RK 100H και ένας αναδευτήρας Stuart-SB3 χρησιμοποιήθηκαν για την εξόρυξη. Φίλτρα σύριγγας, αναγεννημένης κυτταρίνης 0,22 μm (RC) χρησιμοποιήθηκαν για το φιλτράρισμα των δειγμάτων.

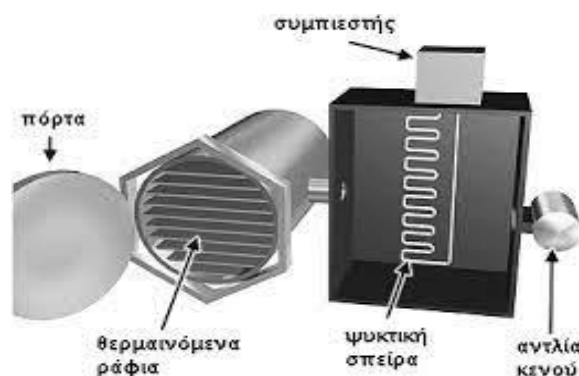
2.5 Λυοφιλίωση ή κρυοξήρανση

Στη διαδικασία της ξήρανσης η υγρασία ενός υλικού απομακρύνεται μέσω θέρμανσης, και το υλικό μεταφέρεται στο επόμενο στάδιο της διαδικασίας. Στο τελικό στάδιο παραγωγής, το υλικό συσκευάζεται. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται για την παραγωγή πολλών αποξηραμένων ή αφυδατωμένων προϊόντων που κυκλοφορούν στην αγορά.

Μια εναλλακτική μέθοδος για τη ξήρανση ευαίσθητων υλικών, όπως και στην περίπτωση του παρόντος πειράματος, είναι η κρυοξήρανση ή λυοφιλίωση. Σε αυτήν τη διαδικασία, τα υλικά ψύχονται σε χαμηλή θερμοκρασία, και στη συνέχεια η υγρασία απομακρύνεται με εξάχνωση. Αυτή η μέθοδος εφαρμόζεται ευρέως σε διάφορους βιομηχανικούς κλάδους, όπως η συντήρηση τροφίμων. Επίσης, χρησιμοποιείται σε πιο εξειδικευμένες εφαρμογές, όπως η συντήρηση αρχαιολογικών ή αρχειακών υλικών.

2.5.1 Συνθήκες λυοφιλίωσης

Στην εικόνα 15 απεικονίζεται η χαρακτηριστική σχηματική διάταξη της κρυοξήρανσης (λυοφιλίωσης), που περιλαμβάνει τον κύριο θάλαμο, την ψυχόμενη ατμοπαγίδα με την ψυκτική μονάδα και την αντλία κενού.



Εικόνα 15: Σχηματική απεικόνιση θάλαμου κρυοξήρανσης.

ΨΥΧΟΜΕΝΟΣ ΘΑΛΑΜΟΣ

Ο θάλαμος ψύξης πρέπει να είναι στεγανός στον αέρα, να διαθέτει κατάλληλο άνοιγμα για εύκολη πρόσβαση στο εσωτερικό του και στο υλικό, και να αντέχει την εξωτερική ατμοσφαιρική πίεση ($101.3 \text{ kPa} = 1 \text{ atm}$).

ΣΥΜΠΥΚΝΩΤΗΣ

Ο καταψύκτης πρέπει να τοποθετείται σε κατάλληλη θέση, επιτρέποντας τη διέλευση των υδρατμών, και να διαθέτει δυνατότητα αυτόματης απόψυξης για την απομάκρυνση ενδεχομένως δημιουργημένου πάγου, χωρίς να διακόπτεται η λειτουργία της διαδικασίας. Σε συσκευές που έχουν μικρή κλίμακα, οι θάλαμοι είναι ανεξάρτητοι και συνδέονται με τον καταψύκτη μέσω ειδικών βαλβίδων. Αυτές οι βαλβίδες επιτρέπουν την απομόνωση των θαλάμων, επιτρέποντας την αποτελεσματική απομάκρυνση του πάγου, χωρίς να διακοπεί το κενό στους θαλάμους.

ΑΝΤΛΗΣΗ ΑΤΜΩΝ

Η επιτάχυνση του ρυθμού της διαδικασίας κρυοξήρανσης επιτυγχάνεται μέσω της απομάκρυνσης των υδρατμών από τον χώρο κρυοξήρανσης, η οποία υλοποιείται με τη χρήση μιας αντλίας κενού. Η αντλία κενού πρέπει να διατηρεί την πίεση εντός του θαλάμου σε επίπεδα χαμηλότερα από τα 533.2 Pa ($= 4 \text{ mm Hg}$). Συνήθως, συνιστάται η διατήρηση της πίεσης μεταξύ 4 Pa και 40 Pa ($0.03 < P < 0.3 \text{ mm Hg}$) εντός του θαλάμου.

ΨΥΚΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Το σύστημα ψύξης συνήθως παρέχει δύο επίπεδα ψύξης, χρησιμοποιώντας δύο διαφορετικά κυκλώματα: ένα σε θερμοκρασία κάτω των $-5 \text{ }^\circ\text{C}$ για το υλικό και ένα άλλο σε πολύ χαμηλότερες θερμοκρασίες, κυμαίνονται από $-40 \text{ }^\circ\text{C}$ έως $-60 \text{ }^\circ\text{C}$, για την απομάκρυνση των υδρατμών. Τονίζεται επίσης ότι στην αρχή της διαδικασίας πολλά υλικά έχουν την τάση να δημιουργούν αφρό ή ακόμη και να βράζουν. Για αυτόν τον

λόγο, είναι προτιμότερο να υποβάλλεται το υλικό σε προψύξη πριν το εισαγάγουμε στον θάλαμο της συσκευής κρυοξήρανσης.

ΘΕΡΜΑΝΣΗ

Για να εξατμιστεί μια ποσότητα νερού, πρέπει να απορροφήσει μια συγκεκριμένη ποσότητα ενέργειας, που αντιστοιχεί στη λανθάνουσα θερμότητα εξάτμισης. Για μικρές ποσότητες υλικού, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η απαιτούμενη ενέργεια εξάγεται είτε από το ίδιο το υλικό, ψύχοντας το, είτε από το περιβάλλον, διαμέσω των τοιχωμάτων της συσκευής.

Όταν πρόκειται για μεγάλες ποσότητες υλικού, είναι αναγκαία η θέρμανσή του με εξωτερικά μέσα, διαφορετικά ο ρυθμός κρυοξήρανσης μειώνεται σταδιακά. Συνήθως, η απαιτούμενη ενέργεια παρέχεται μέσω θέρμανσης του χώρου με ηλεκτρικές αντιστάσεις που συνήθως ενσωματώνονται στα ράφια.

Πολλά δοχεία που περιέχουν το υλικό είναι γυάλινα, και λόγω του χαμηλού συντελεστή θερμικής αγωγιμότητας του γυαλιού, η θέρμανση του υλικού και η εξάτμιση προχωρούν αργά. Για την επιτάχυνση της διαδικασίας, ορισμένες συσκευές κυκλοφορούν εσωτερικά θερμό αδρανές αέριο (π.χ. άζωτο), αυξάνοντας τον ρυθμό μετάδοσης θερμότητας και, κατ' επέκταση, της διαδικασίας. Είναι σημαντικό να διατηρείται η πίεση μέσα στον θάλαμο κάτω από την ατμοσφαιρική πίεση του πάγου, ιδιαίτερα όταν χρησιμοποιείται αδρανές αέριο (Davies et al., 1980).

2.5.2 Εφαρμογές της λυοφιώσεως

Η διαδικασία κρυοξήρανσης τροφίμων έχει δύο κύριους στόχους. Αφενός, επιτρέπει την μακροχρόνια διατήρηση των προϊόντων, αφού απομακρύνεται έως και 98% της υγρασίας, μειώνοντας σημαντικά τη μικροβιακή αλλοίωση. Αφετέρου, επιτυγχάνεται η ελαχιστοποίηση του βάρους και του όγκου του προϊόντος. Συγκεκριμένα, σε υγρά προϊόντα, η αποθήκευση και η μεταφορά αποξηραμένου υλικού είναι οικονομικότερη, αφού το υλικό επανακτά την αρχική του μορφή με την προσθήκη νερού στον τόπο προορισμού (Schafer et al., 1979).

2.6 Εκχύλιση των φαινολικών συστατικών

Η πολυπλοκότητα του φαινολικού προφίλ των σταφυλιών οφείλεται στην ευρεία κατανομή μοριακών βαρών και στην ύπαρξη ποικίλων διαμορφώσεων του ανθρακικού σκελετού και λειτουργικών ομάδων. Αυτό δημιουργεί ένα πολύπλοκο μείγμα συστατικών με διαφορετική διαλυτότητα και πολικότητα, το οποίο είναι δύσκολο να χαρακτηριστεί και να ποσοτικοποιηθεί με ένα ενιαίο αναλυτικό πρωτόκολλο. Οι κλασσικές αναλυτικές τεχνικές που βασίζονται στην αναγωγή ενός αντιδραστήριου, όπως το Folin-Ciocalteu, οδηγούν στον προσδιορισμό ενός ποσοτικού δείκτη του συνολικού φαινολικού περιεχομένου. Ωστόσο, αυτός ο δείκτης δεν παρέχει πληροφορίες για το ποιοτικό προφίλ των φαινολών και μπορεί να υπερεκτιμηθεί λόγω της παρουσίας άλλων μη φαινολικών συστατικών που επίσης αντιδρούν με το αντιδραστήριο. Για την ανάλυση της ποιοτικής και ποσοτικής σύστασης του πολύπλοκου υποστρώματος του κρασιού ή των εκχυλισμάτων σταφυλιού, έχουν

αναπτυχθεί πολλές αναλυτικές προσεγγίσεις. Οι πιο κυρίαρχες από αυτές συνδυάζουν την τεχνική της υγρής χρωματογραφίας με φασματοφωτομετρικό ανιχνευτή ή/και φασματογράφο μάζας (LC-MS/UV). Ωστόσο, λόγω της μεγάλης πολυπλοκότητας των χρωματογραφημάτων, οι αναλυτικές τεχνικές περιορίζονται συνήθως σε υποκατηγορίες συστατικών που απομονώνονται από το αρχικό εκχύλισμα με χρήση πρωτοκόλλων κλασμάτωσης ή/και παραγωγοποίησης. Αυτά τα πρωτόκολλα αυξάνουν τον χρόνο ανάλυσης και τον αριθμό/ποσότητα των χρησιμοποιούμενων διαλυτών και αντιδραστηρίων, πιθανόν ενισχύοντας τη μεταβλητότητα των αποτελεσμάτων.

Οι πρόσφατες έρευνες επικεντρώνονται στην εφαρμογή συστημάτων υγρής χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών σε σειρά (MS/MS), σε συνδυασμό με την τεχνική ιονισμού υπό ατμοσφαιρική πίεση, γνωστή ως ESI (Electro Spray Ionization). Με αυτές τις διατάξεις, εφαρμόζονται ήπιες συνθήκες ιονισμού για τα μόρια που αναλύονται, επιτυγχάνοντας υψηλή ευαισθησία σε μεγάλο εύρος μοριακών μαζών. Αυτό επιτρέπει την ρεαλιστική αναπαράσταση των μοριακών διαμορφώσεων και παρέχει ευκαιρία για την απλοποίηση των πειραματικών πρωτοκόλλων προεπεξεργασίας. Στην πρωτοπορία της τεχνολογίας φασματογράφων μάζας βρίσκονται επί του παρόντος τα υβριδικά συστήματα σειράς τετραπολικών ανιχνευτών και αναλυτή χρόνου πτήσης (QTOF-MS/MS). Αυτά τα συστήματα επιτυγχάνουν πλήρη καταγραφή των ιόντων που παράγονται από τη θραυσματοποίηση του μοριακού ιόντος, παρέχοντας μια ολοκληρωμένη εικόνα του φάσματος μάζας. Επιπλέον, δίνουν τη δυνατότητα αποτύπωσης του πλήρους φάσματος μάζας και των χαρακτηριστικών αντιδράσεων θραυσματοποίησης, τα οποία αποτελούν χαρακτηριστικά μοριακού αποτυπώματος (finger printing).

2.6.1 Πρωτόκολλο εκχύλισης φαινολικών συστατικών

Ο προσδιορισμός του συνολικού περιεχομένου σε φαινολικές ενώσεις πραγματοποιήθηκε με βάση το ακόλουθο πρωτόκολλο.

Αρχικά ζυγίζονται 14 mg λυοφιλιωμένου ιστού και τοποθετούνται σε σκουρόχρωμο φιαλίδιο erpendorf χωρητικότητας 2 mL. Προστίθενται 0.2 mL μεθανόλης και 1.4 mL διαλύματος ακετόνης 70% σε υδατικό διάλυμα τριφθοραιθανικού οξέος (0.05% TFA). Στη συνέχεια το μίγμα αναδεύεται σε vortex για 3 λεπτά και ακολούθως τοποθετείται σε λουτρό υπερήχων στους 0°C για 10 λεπτά, σε σκοτεινό μέρος. Στη συνέχεια, τοποθετείται σε κατακόρυφο περιστροφικό αναμίκτη για 20 λεπτά στους 4°C στο σκοτάδι. Πραγματοποιείται επανάληψη των βημάτων 3, 4 και 5. Ακολουθεί φυγοκέντρωση για 10 λεπτά στους 4°C στις 10000 στροφές. Μεταφορά των δειγμάτων σε διαφανή πλαστικά φιαλίδια erpendorf για τη χρωματογραφική ανάλυση, με αντίστοιχη αραιώση. Εισαγωγή σε συσκευή συμπίκνωσης με ροή αζώτου υπό πίεση που αυξάνεται από 5 σε 15 psi, μέχρι πλήρους ξήρανσης. Συνέχεια έχει η προσθήκη 200 μL μεθανόλης, ανάδευση σε συσκευή Vortex και προσθήκη 600 μL διαλύματος 0.134% φορμικού οξέος σε νερό, και ξανά ανάδευση. Εισαγωγή σε λουτρό υπερήχων στους περίπου 4°C για 15 λεπτά χωρίς φως, ακολουθούμενη από ανάδευση σε συσκευή Vortex, και επιπλέον 15 λεπτά στο λουτρό υπερήχων. Σειρά έχει και πάλι η ανάδευση σε συσκευή Vortex και φυγοκέντρωση στους 4°C και στις 14.000 rpm για 15 λεπτά. Τέλος πραγματοποιείται διαίρεση των δειγμάτων με χρήση φίλτρων σύριγγας Captiva με μια πλαστική σύριγγα ινσουλίνης 1 mL σε καφέ φιαλίδια 1.5 mL με insert των 400 μL, και άμεση ανάλυση στο χρωματογράφο.

2.6.2 Ποσοτικός προσδιορισμός φαινολικών

Η ποσοτικοποίηση των φαινολικών ενώσεων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο εξωτερικού προτύπου, χρησιμοποιώντας κατάλληλα πρότυπα καμπύλης που δημιουργήθηκαν για διάφορες φαινολικές ενώσεις, οι οποίες κατηγοριοποιήθηκαν σε δύο ομάδες με βάση τη χημική τους δομή (MIXA και MIXB, Πίνακας 2.1).

Αρχικά, παρασκευάστηκε μητρικό διάλυμα (Cstock) με ζύγιση των προτύπων του MIXA (Πίνακας 2.1) και αραιώση σε μεθανόλη με τελική συγκέντρωση 500 ppm. Εξαιτίας της φωτο-ευαισθησίας των παραπάνω ενώσεων, όλη η διαδικασία πραγματοποιήθηκε απουσία φωτός. Για την αποφυγή διασπάσεων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, το πυκνό μητρικό διάλυμα Cstock μοιράστηκε σε ίσους όγκους των 500 µL σε σκουρόχρωμα φιαλίδια και συμπυκνώθηκε σε ατμόσφαιρα αζώτου έως ξηρού, δημιουργώντας συμπυκνώματα μάζας 250 µg. Αυτά αποθηκεύτηκαν σε βαθιά κατάψυξη (-80°C).

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης, κάθε φορά επαναδιαλύονταν 250 µg πρότυπων ουσιών (MIXA) σε 5 mL μεθανόλης με τελική συγκέντρωση 50 ppm. Από διαδοχικές αραιώσεις του διαλύματος αυτού προέκυπταν τα διαλύματα εργασίας με εύρος συγκεντρώσεων από 0.05 έως 10 ppm, προκειμένου να καλυφθεί όσο το δυνατόν καλύτερα το εύρος των διαφορετικών συγκεντρώσεων που απαντώνται στα σταφύλια. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και για τις φαινολικές ενώσεις του MIXB.

Πίνακας 2.1: Συστατικά πρότυπων διαλυμάτων μιγμάτων A (MIXA) και B (MIXB).

MIXA	MIXB
πρωτοκατεχικό οξύ	συριγγικό οξύ
p-κουμαρικό οξύ	Καμφερόλη
βανιλικό οξύ	Κερκετίνη
γαλλικό οξύ	Ισοραμετίνη
καφεϊκό οξύ	Ρουτίνη
trans-φερουλικό οξύ	Μυρικετίνη
trans-ρεσβερατρόλη	-

2.6.3 Μέθοδος χρωματογραφικής ανάλυσης LC-QTOF-MS/MS

Η ανάλυση του φαινολικού προφίλ των φλοιών των ποικιλιών που μελετήθηκαν του έτους 2022 πραγματοποιείται με χρήση της διάταξης ExionLC™ AD. Η διάταξη αυτή διαθέτει έναν βρόγχο έγχυσης 50 µL και χρησιμοποιεί στήλη Fortis Speed Core C18 (2.1 x 100mm, 2.6µm). Η θερμοκρασία της στήλης διατηρείται στους 40°C, ενώ ο όγκος έγχυσης του δείγματος είναι 5 µL. Για τη διαδικασία χρησιμοποιείται δυαδικό σύστημα κινητών φάσεων, με τη χρήση δύο διαφορετικών διαλυτικών (A: 0.1% φορμικό οξύ σε H₂O και B: 0.1% φορμικό οξύ σε μεθανόλη). Η μεταβολή της συγκέντρωσης και της ροής ρυθμίζεται βαθμιδωτά, σύμφωνα με τις προκαθορισμένες τιμές που παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.2. Οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται είναι όλοι υψηλής καθαρότητας LC-MS.

Πίνακας 2.2: Βαθμωτή έκλυση δυαδικού συστήματος κινητών φάσεων.

t (min)	Flow (ml/min)	% A	%B
0.00	0.2	95	5
1.00	0.2	95	5
2.00	0.2	70	30
6.00	0.2	50	50
10.50	0.2	0	100
11.50	0.5	0	100
16.00	0.5	0	100
16.01	0.4	95	5
18.50	0.4	95	5
19.00	0.2	95	5
23.00	0.2	95	5

Η ανίχνευση των εκλυόμενων μορίων πραγματοποιείται στη διάταξη SCIEX 500R QTOF. Η διάταξη αυτή εξοπλίζεται με πηγή ιονισμού Turbo V™ και ακίδα ιοντικού ψεκασμού ESI. Εφαρμόζεται αρνητική πολικότητα ιονισμού (ESI-), με θερμοκρασία πηγής ιονισμού 550°C και τάση -4500V.

Η διάρκεια της μεθόδου έχει οριστεί στα 15 λεπτά, καθώς η έκλυση των συστατικών του υποστρώματος ολοκληρώνεται λίγο μετά το 10ο λεπτό. Η μεγαλύτερη διάρκεια της μεθόδου LC στοχεύει στον καθαρισμό της χρωματογραφικής διάταξης από την υπολειμματική επίδραση (carry over) των άγλυκων φλαβονολών. Αυτή η επίδραση οφείλεται στον έντονο υδρόφοβο χαρακτήρα αυτών των συστατικών.

Τα καταγεγραμμένα δεδομένα υποβάλλονται σε επεξεργασία με το λογισμικό SCIEXOS, λαμβάνοντας υπόψη την ακρίβεια της μάζας του μοριακού ιόντος με ακρίβεια 4 δεκαδικών ψηφίων (TOF-MS). Επιπλέον, λαμβάνονται υπόψη οι ισοτοπικοί χημικοί τύποι (C_xH_yO_z) των ενώσεων και εντοπίζονται χαρακτηριστικές τιμές m/z στα φάσματα (TOF-MS/MS) που αντιστοιχούν σε αντιδράσεις θραυσματοποίησης προδρόμων μορίων.

2.7 Βασικές αναλύσεις γλεύκους

2.7.1 Ενεργός οξύτητα (pH)

Οξύτητα ή pH ορίζεται η συνολική ποσότητα των ελεύθερων καρβοξυλομάδων που βρίσκονται σε διάσταση και δίνουν H. Η μέτρηση του pH πραγματοποιείται με ένα κατάλληλα αριθμημένο pHμετρο σε ένα δείγμα γλεύκους περίπου 10 ml. Καταγράφονται τουλάχιστον δύο μετρήσεις από το ίδιο δείγμα και υπολογίζεται ο μέσος όρος των μετρήσεων.

2.7.2 Ολική ογκομετρούμενη οξύτητα

Η ολική ή ογκομετρούμενη οξύτητα αναφέρεται στο σύνολο των ελεύθερων καρβοξυλομάδων στο γλεύκος, είτε σε μοριακή είτε σε μορφή ανιόντων. Η μέτρησή της βασίζεται στο να εξουδετερωθούν οι όξινες ομάδες του δείγματος με ένα πρότυπο διάλυμα NaOH 0.1 N, υπό την παρουσία του δείκτη φαινολφθαλεΐνης. Η οξύτητα μετρήθηκε με την ογκομετρική μέθοδο, χρησιμοποιώντας 5 ml γλεύκους, NaOH 0.1 N

και τον δείκτη φαινολφθαλεΐνης, και εκφράζεται σε g/L τρυγικού οξέος (tartaric acid). Καταγράφονται τουλάχιστον δύο μετρήσεις από το ίδιο δείγμα και υπολογίζεται ο μέσος όρος.

2.7.3 Ολικά διαλυτά στερεά (Brix)

Στο γλεύκος, σχεδόν όλα τα διαλυτά στερεά αποτελούνται από σάκχαρα, επομένως η μέτρηση με διαθλασίμετρο αντιστοιχεί απευθείας σε συγκέντρωση σακχάρων ($^{\circ}$ Brix: γραμμάρια σακχάρου ανά 100 γραμμάρια διαλύματος). Στη συσκευή του διαθλασίμετρου τοποθετούνται 1-2 σταγόνες γλεύκος και η μέτρηση πραγματοποιείται με το κάλυμμα κλειστό. Η βαθμονόμηση του εργαλείου πραγματοποιείται με απιονισμένο νερό. Τουλάχιστον δύο μετρήσεις πραγματοποιούνται από το ίδιο δείγμα και υπολογίζεται ο μέσος όρος.

2.8 Στατιστική ανάλυση

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων του πειράματος πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του Microsoft Excel (Microsoft, ΗΠΑ), με την εκμετάλλευση του εργαλείου Ανάλυσης Δεδομένων. Η σημαντικότητα των αποτελεσμάτων ελέγχθηκε με την εφαρμογή της μεθόδου ANOVA σε επίπεδο σημαντικότητας ($p < 0,05$). Στα παρακάτω αποτελέσματα αναφέρεται το μέσο σφάλμα των επαναλήψεων, εκφρασμένο ως \pm του μέσου όρου ή ως μπάρες σε περίπτωση που τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε γράφημα.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στον παρακάτω πίνακα καταγράφονται οι μετρήσεις των τριών παραπάνω παραμέτρων για τις ποικιλίες του πειράματος.

Πίνακας 3.1: pH, ολική οξύτητα, Brix των ποικιλιών πριν και μετά το ξεφύλλισμα

Ποικιλίες	pH	Ολική Οξύτητα	Be
ASCO	2,97	11,60	11,70
ASLR	2,99	10,60	12,10
MSCO	3,06	7,30	10,70
MSLR	3,06	9,30	11,24
RCO	12,20	12,20	10,40
RLR	12,30	12,30	10,60
BCO	3,31	5,10	12,90
BLR	3,42	5,10	13,20

Στους φλοιούς των 4 προς μελέτη ποικιλιών, εντοπίστηκαν και ταυτοποιήθηκαν 11 συγκεκριμένοι μεταβολίτες. Ο συνολικός αριθμός των 11 ανιχνευμένων μεταβολιτών κατηγοριοποιείται σε φαινολικά οξέα (Πίνακας 3.2), φλαβονόλες και φλαβονόνες (Πίνακας 3.3), και στυλβένια (Πίνακας 3.4). Τα φάσματα αντιπροσωπευτικών συστατικών αυτών των κατηγοριών παρουσιάζονται στα Σχήματα 3.1, 3.2 και 3.3 αντίστοιχα.

Πίνακας 3.2: Υδροξυβενζοϊκά οξέα, υδροξυκιναμμομικά οξέα, υδροξυκιναμμομικοί εστέρες, και τα Ο-γλυκοζίδια αυτών.

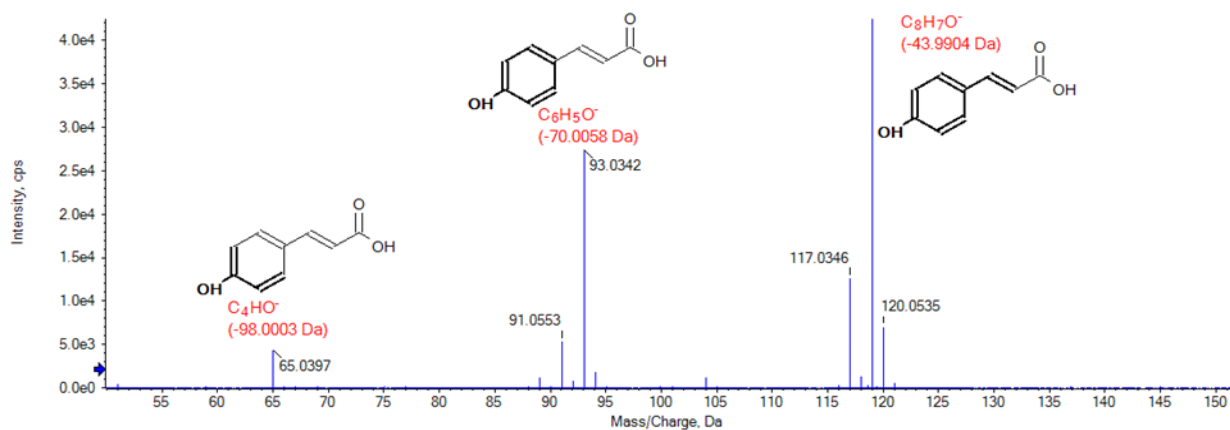
a/a	Component Name	Retention Time	Precursor Mass
1	Protocatechuic acid	3.77	153.0193
2	Vanillic acid	5.20	167.0350
3	Syringic acid	5.38	197.0455
4	<i>p</i> -Coumaric acid isomer 1	4.79	163.0401
5	<i>p</i> -Coumaric acid isomer 2	5.92	163.0401
6	<i>cis</i> -Caffeic acid	5.17	179.0350
7	Ferulic acid-Natural	6.17	193.0506
8	Caftaric acid isomer 1 (tartaric ester of caffeic acid)	4.35	311.0409
9	Caftaric acid isomer 2 (tartaric ester of caffeic acid)	4.17	311.0409
10	<i>trans</i> -Fertaric acid (tartaric ester of ferulic acid)	4.98	325.0565
11	Coumaric acid O-glucoside isomer1	4.64	325.0929
12	Coumaric acid O-glucoside isomer2	5.01	325.0929
13	Caffeic acid-O-glucoside isomer 1	4.92	341.0878
14	Caffeic acid-O-glucoside isomer 2	5.30	341.0878

Πίνακας 3.3: Φλαβονόλες άγλυκες, οι 3-O-γλυκοζίτες αυτών

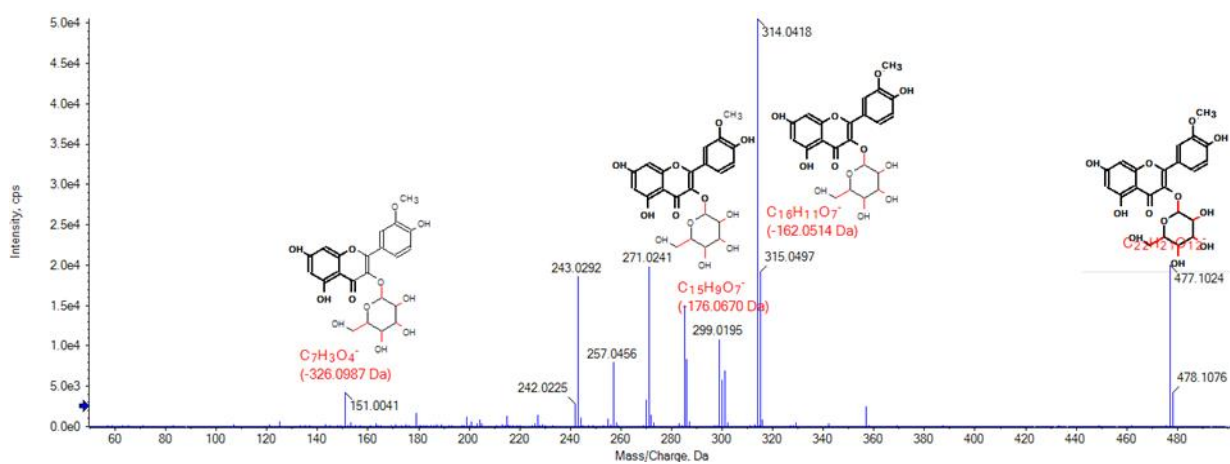
a/a	Component Name	Retention Time	Precursor Mass
15	Isorhamnetin (O-methylated quercetin)	9.36	315.0510
16	Myricetin	7.24	317.0303
17	Myricetin 3-O-glucuronide	5.89	493.0624

Πίνακας 3.4: Στιλβένια μονομερή και ολιγομερή, και τα 3-O-γλυκοσίδια αυτών

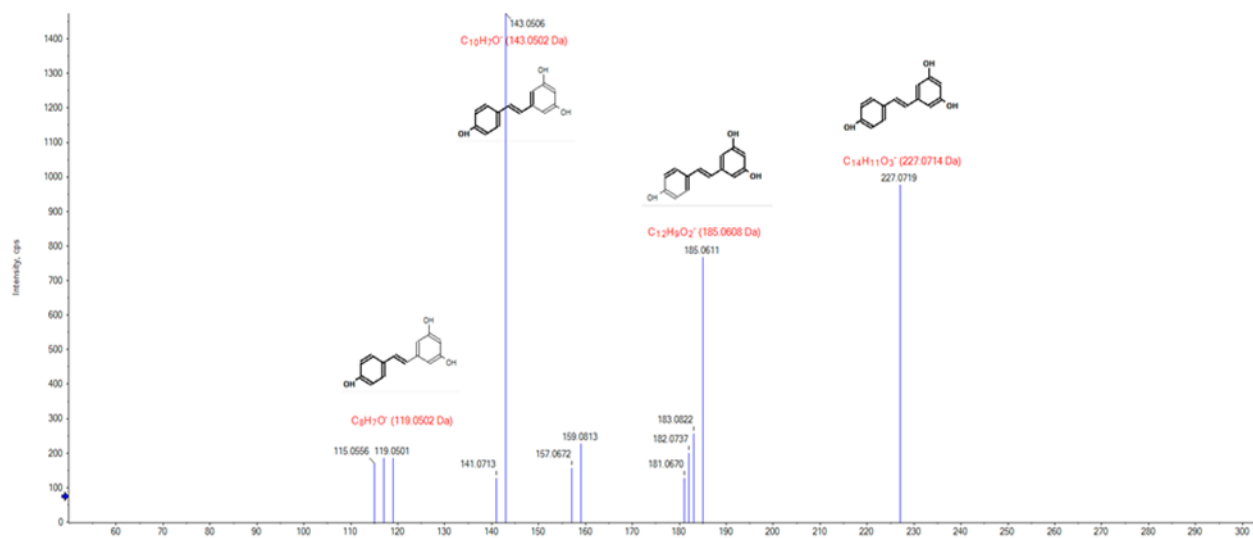
02	Component Name	Retention Time	Precursor Mass
18	<i>trans</i> -Resveratrol	6.90	227.0714



Σχήμα 3.1: Φάσματα του υδροξυκιναμωμικού οξέος π-κουμαρικό και απεικόνιση των χαρακτηριστικών θραυσμάτων του



Σχήμα 3.2: Φάσματα της φλαβονόλης ισοραμνετίνη-3-O-γλυκοσίδιο και απεικόνιση των χαρακτηριστικών θραυσμάτων της.



Σχήμα 3.3: Φάσματα του σιλβενίου ρεσβερατρόλης.

Πίνακας 3.5: Πίνακας αποτελεσμάτων επικύρωσης.

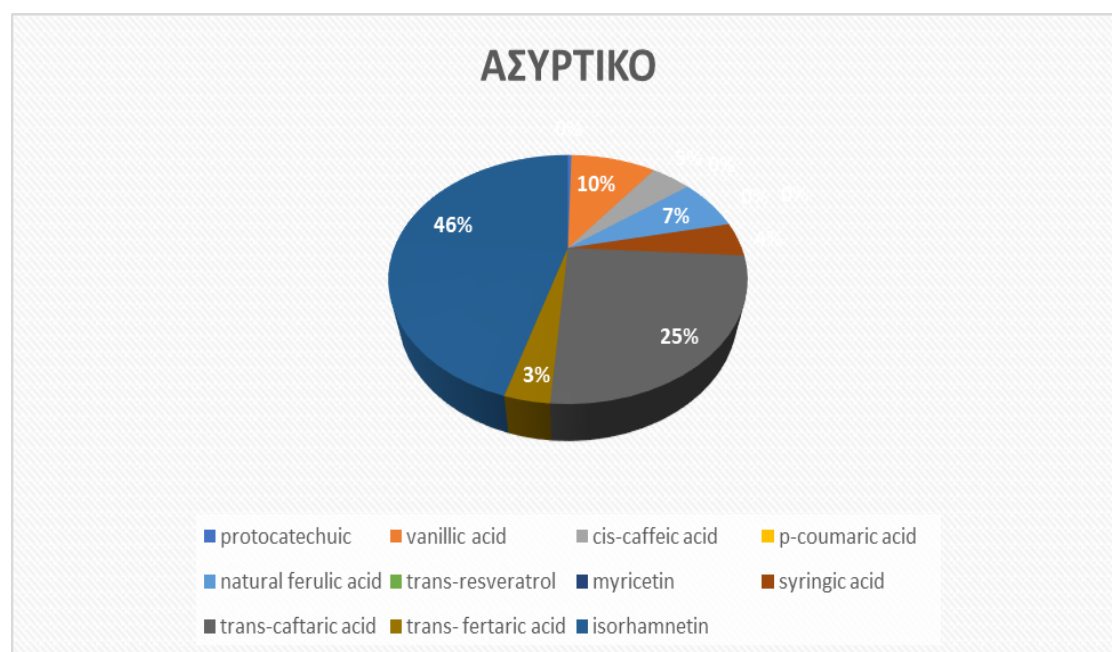
Ένωση	Εξίσωση	r ²	0.23 mg/g		0.46 mg/g		4.5 mg/g		LOD (mg/g)	LOQ (mg/g)
			%R	ME%	%R	ME%	%R	ME%		
Protocatechuic acid	y=1000000*x+25538	0,9979	123,8	-8,4	107,6	-8,2	130,8	-7,7	0,03	0,4
Vanillic acid	y=21415*x+10021	0,9822	125,1	-7,3	113,9	-6,4	132,4	-8,2	0,01	0,03
Cis caffeic acid	y=100000*x+12771	0,9998	127,7	-20,2	90,6	-18,9	100,6	-20,2	0,03	0,1
P-coumaric acid	y=2000000*x+31099	0,9979	108,3	-16,5	105,5	-13,7	124,8	-13,2	0,01	0,03
Natural ferulic acid	y=1000000*x+21809	0,9973	119,7	-20,1	104,6	-17,5	103,1	-18,4	0,01	0,02
Trans-resveratrol	y=4000000*x+44317	0,9985	121,0	-12,9	130,8	-9,6	116,3	-9,2	0,02	0,04
Myricetin	y=10000000*x-18637	0,9999	88,5	-6,7	104,8	-10,4	131,4	-11,3	0,02	0,5
Syringic acid	y=84685*x-9841	0,9992	117,3	-17,4	118,1	-22,9	127,4	-21,4	0,05	0,1
Trans caftaric acid	y=86895*x+95896	0,9996	121,6	-18,5	112,5	-16,3	118,3	-17,2	0,1	0,2
Trans fertaric acid	y=3000000*x+78977	0,9985	128,4	-20,6	122,1	-16,8	120,7	-19,8	0,2	0,5
Isorhamnetin	y=13647*x+8364	0,9994	108,2	-14,8	107,9	-17,4	105,6	-16,7	0,05	0,1

Η μέθοδος επικυρώθηκε ως προς τη γραμμικότητα, την ανάκτηση, την επίδραση του υποστρώματος, τα LOD, τα LOQ, και τα αποτελέσματα επικύρωσης παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.5. Η μέθοδος παρουσίασε εξαιρετική γραμμικότητα ($R^2 > 0,9822$). Οι αναλυόμενες ουσίες έδειξαν ικανοποιητική ανάκτηση (88,5–132,4 %) για όλες τις ενώσεις που μελετήθηκαν. Τα LOQ κυμαίνονταν από 0,02 έως 0,50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ και τα LOD εκτείνονταν από 0,01 έως 0,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, αντίστοιχα. Οι τιμές της επίδρασης του υποστρώματος αποδεικνύουν ελαφρά καταστολή του σήματος (έως -22,9 % για το συριγικό οξύ) για όλες τις ενώσεις που μελετήθηκαν.

3.1 Φαινολικά πριν την εφαρμογή του ξεφυλλίσματος.

3.1.1. Φαινολικά στο Ασύρτικο.

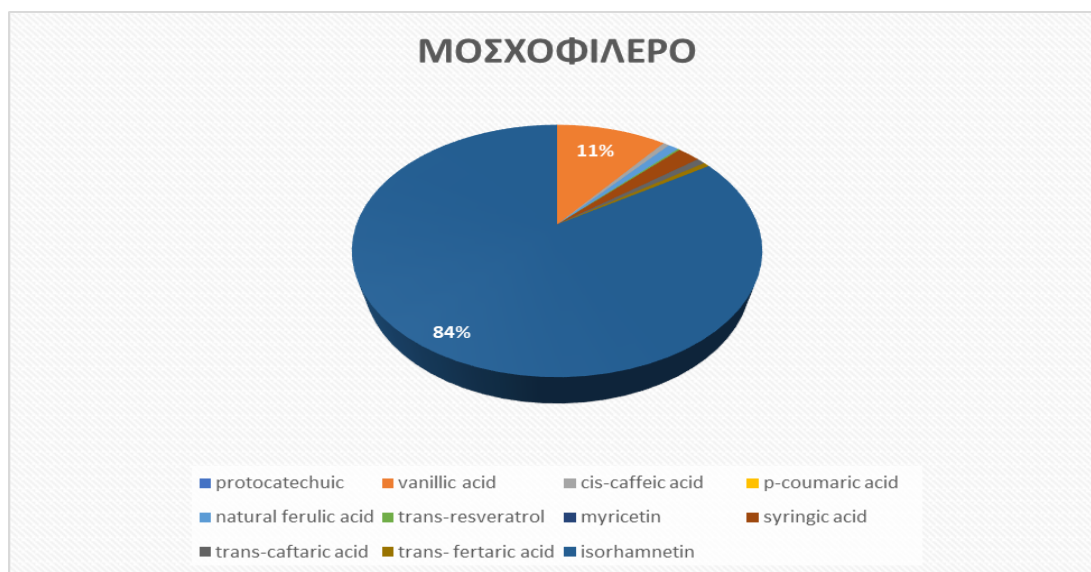
Πριν την εφαρμογή του ξεφυλλίσματος, στην ποικιλία Ασύρτικο εντοπίστηκαν και μετρήθηκαν, όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 1 (προκύπτει από τον μέσο όρο των 3 επαναλήψεων της συγκέντρωσης της ουσίας σε mg/g λυοφυλιωμένου φλοιού), κάποιες συγκεκριμένες ουσίες. Γενικότερα και στις 4 προς μελέτη ποικιλίες, βρέθηκαν και μετρήθηκαν σε αξιόλογες συγκεντρώσεις 11 φαινολικές ουσίες, τις οποίες αυτές τις 11 υπήρχαν ως πρότυπες. Στο Ασύρτικο κυριαρχεί σε αρκετά μεγάλο ποσοστό (46%) η ισοραμεντίνη, η οποία ανιχνεύτηκε κατά μέσο όρο στα δείγματα, σε ποσότητα 1,12 mg/g Λυοφυλιωμένου Φλοιού (Λ.Φ.). Ακολουθεί το καφταρικό οξύ (25%) σε συγκέντρωση 0,62 mg/g Λ.Φ., το βανιλικό οξύ (10%) με 0,24 mg/g Λ.Φ., ενώ όλες οι υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις ανιχνεύθηκαν σε ίχνη.



Διάγραμμα 1: Περιεκτικότητα φαινολικών στο Ασύρτικο πριν το ξεφύλλισμα.

3.1.2. Φαινολικά στο Μοσχοφίλερο.

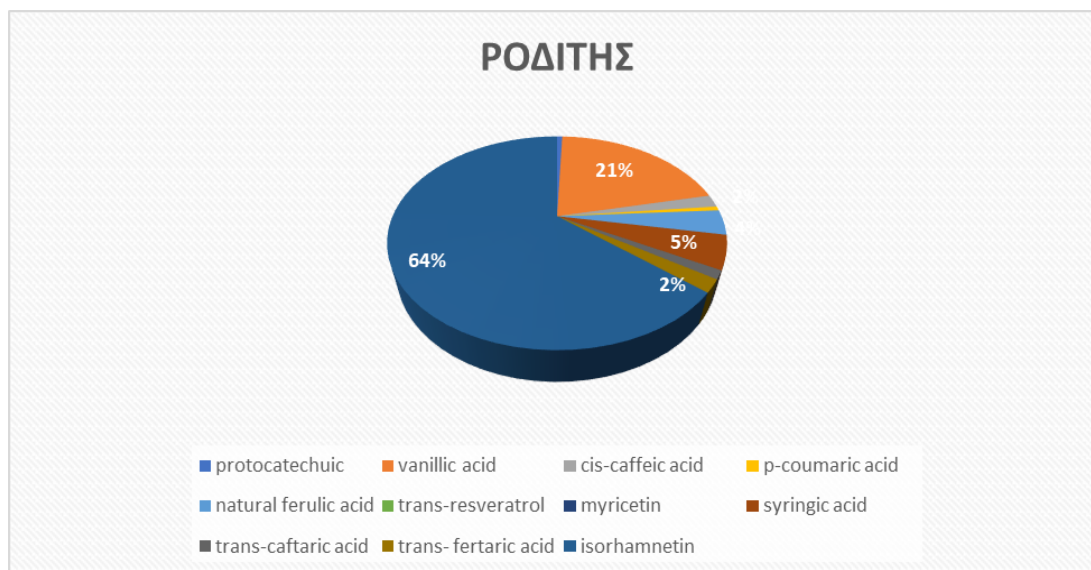
Στη δεύτερη προς μελέτη ποικιλία, εντοπίστηκε, όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 2, και πάλι, σε αρκετά μεγαλύτερη συγκέντρωση αυτή τη φορά, η ισοραμνετίνη (84%), που αντιστοιχεί σε μία συγκέντρωση κατά μέσο όρο 4,27 mg/g Λ.Φ. Ακολουθεί το βανιλικό οξύ (11%), σε ποσότητα 0,54 mg/g Λ.Φ., το συριγγικό οξύ και έπειτα όλες οι υπόλοιπες ενώσεις σε ελάχιστες συγκεντρώσεις. Η φαινολική ένωση που φαίνεται να υπάρχει σε μεγαλύτερη συγκέντρωση, πριν την εφαρμογή της τεχνικής του ξεφυλλίσματος, ανήκει στην ευρύτερη κατηγορία των φλαβονολών. Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε, βρέθηκε ότι στα φρέσκα σταφύλια της ποικιλίας Arizul, το φερταρικό και το καφταρικό οξύ, ήταν τα δύο υδροξυκινναμωμικά οξέα που εντοπίστηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν στη μεγαλύτερη συγκέντρωση (Fabani et al., 2017).



Διάγραμμα 2: Περιεκτικότητα φαινολικών στο Μοσχοφίλερο πριν το ξεφύλλισμα.

3.1.3 Φαινολικά στον Ροδίτη

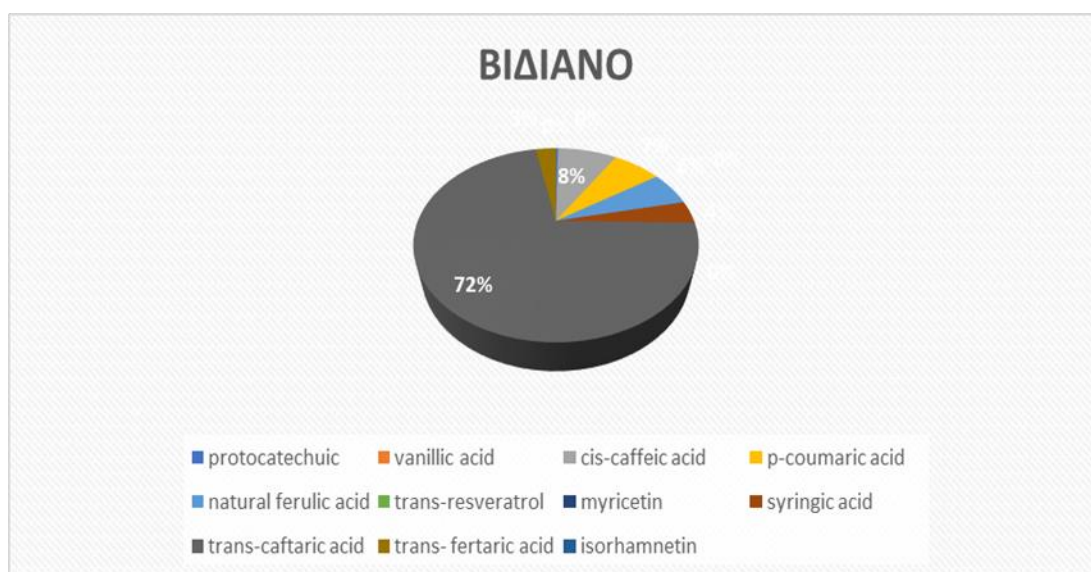
Στην ποικιλία του Ροδίτη πριν το ξεφύλλισμα, κυριαρχεί (διάγραμμα 3) και πάλι η φλαβονόλη ισοραμνετίνη (64%) σε συγκέντρωση 1,01 mg/g Λ.Φ., ακολουθεί το βανιλικό οξύ με 0,33 mg/g Λ.Φ. και ακολουθούν όλα τα υπόλοιπα φαινολικά συστατικά. Στις 3 αυτές ποικιλίες παρατηρείται, ότι εντοπίζονται στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις οι ίδιες ενώσεις με διαφορά την ακριβή περιεκτικότητα της συγκέντρωσής τους.



Διάγραμμα 3: Φαινολικά στον Ροδίτη πριν το ξεφύλλισμα.

3.1.4 Φαινολικά στο Βιδιανό

Στην ποικιλία Βιδιανό, αλλάζουν τα δεδομένα, συγκριτικά με τις προηγούμενες 3 ποικιλίες. Στη συγκεκριμένη ποικιλία, η ένωση που βρίσκεται στη μεγαλύτερη συγκέντρωση (διάγραμμα 4), είναι αυτή του trans-καφαρικού οξέος (72%) σε ποσότητα που αντιστοιχεί σε 2,43 mg/g Λ.Φ., ενώ στη δεύτερη θέση έρχεται το cis-καφεϊκό οξύ σε συγκέντρωση 0,29 mg/g Λ.Φ. Οι υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις υπάρχουν σε πολύ μικρές ποσότητες, ενώ ακόμα στο Βιδιανό δεν εντοπίζεται το βανιλικό οξύ, ένα υδροξυκιναμμωμικό οξύ, το οποίο στις άλλες 3 ποικιλίες εμφανίζεται.



Διάγραμμα 4: Φαινολικά στο Βιδιανό πριν το ξεφύλλισμα.

3.2. Περιεκτικότητα (%) φαινολικών ενώσεων

Στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 3.2) εμφανίζεται η περιεκτικότητα, εκφρασμένη επί τις εκατό (%), της κάθε ένωσης, στα δείγματα των 4 ποικιλιών πριν αλλά και μετά την εφαρμογή της πρακτικής του ξεφυλλίσματος. Αξίζει να σημειωθεί πως αρκετές ενώσεις βρίσκονται σε μηδενικές ή αμελητέες περιεκτικότητες. Αξιοσημείωτο είναι πως η μυρικήτινη σε όλα τα δείγματα, πριν και μετά το ξεφύλλισμα, εντοπίστηκε σε τόσο μικρές ποσότητες που θεωρούνται σχεδόν μηδενικές.

Με μια πρώτη ματιά, αμέσως εντοπίζεται το γεγονός πως σχεδόν όλες οι ενώσεις παρουσίασαν αύξηση μετά την εφαρμογή του ξεφυλλίσματος και πιθανώς την αλλαγή των περιβαλλοντικών συνθηκών. Σε παρόμοια μελέτη που πραγματοποιήθηκε, φάνηκε πως οι υψηλότερες τιμές φαινολικών στα γίγαρτα, παρουσιάστηκαν κοντά στο στάδιο της ωρίμανσης, ενώ για τους φλοιούς εντοπίστηκαν κοντά στο πράσινο στάδιο, δηλαδή στη φάση του περκασμού (Benbouguerra et al., 2020).

Στην ποικιλία Ασύρτικο αρκετά μεγάλη διαφορά, μετά το ξεφύλλισμα, παρατηρήθηκε στο βανιλικό οξύ (από 9,76% πήγε στο 14,60%), στο κουμαρικό οξύ (0,32% αντί για μηδενικό που ήταν στην αρχή) και έπειτα στο φερουλικό οξύ (από 6,91% πήγε στο 7,30%). Μείωση παρατηρήθηκε στο καφταρικό οξύ (20,95% αντί του αρχικού 25,20%), αλλά και σημαντική μείωση στο συριγγικό οξύ (2,86% αντί 4,47%). Οι υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις παρέμειναν περίπου στα ίδια επίπεδα.

Στην ποικιλία Μοσχοφίλερο εντυπωσιακή αύξηση παρατηρήθηκε στο πρωτοκατεχικό οξύ (από ίχνη πήγε στο 0,21%), στο βανιλικό οξύ αρκετά μεγάλη διαφορά (από 10,63% στο 21,02%), στο καφεϊκό οξύ (0,85% αντί 0,59% του αρχικού), στο φερουλικό οξύ, καθώς και στο καφταρικό και φερταρικό οξύ. Μείωση εντοπίστηκε στην φλαβονόλη ισοραμνετίνη (από 84,06% πήγε στο 67,94%), παρόλα αυτά παρέμεινε η ουσία με την πιο υψηλή περιεκτικότητα στην ποικιλία.

Στη συνέχεια, στον Ροδίτη τη σημαντικότερη αύξηση παρουσίασαν το πρωτοκατεχικό οξύ (3,03% από 0,63%), το βανιλικό οξύ (40,91% από 20,89%), η ρεσβερατρόλη (από ίχνη πήγε στο 0,76%). Ιδιαίτερα σημαντική μείωση εμφάνισαν το φερουλικό οξύ, το φερταρικό οξύ και η ισοραμνετίνη, ενώ πάλι η ισοραμνετίνη ήταν αυτή που υπερίσχυε πριν και μετά το ξεφύλλισμα, έναντι όλων των άλλων (63,92% πριν και 55,30% μετά).

Τέλος, στο Βιδιανό δεν παρατηρήθηκε καθόλου το βανιλικό οξύ. Αυξήθηκε σε σημαντικό βαθμό το καφεϊκό οξύ (10,34% αντί 8,63% του αρχικού, το φερουλικό οξύ, καθώς από 5,95% κατείχε το 24,14%, το συριγγικό οξύ με τελικό ποσοστό 31,03% και το φερταρικό οξύ με 10,34% από 2,98%. Στις μειώσεις η πιο σημαντική για το Βιδιανό, ήταν αυτή του καφταρικού οξέος, καθώς από 72,32% κατείχε το 17,24%, μεγάλο ποσοστό και πάλι συγκριτικά με όλα τα υπόλοιπα, όμως με τεράστια μείωση για την ίδια την ουσία.

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως σύμφωνα με μελέτη των Bendouguerra et al., αλλά και άλλων όπως των Torchio et al., και των Rolle et al., η υψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικά προσδιορίστηκε στο πράσινο στάδιο και στη συνέχεια μειώθηκε σημαντικά μέχρι τη λήξη. Από την άλλη πλευρά σύμφωνα με έρευνα των Bindon et al., 2013, μια αύξηση της περιεκτικότητας των ενώσεων παρατηρήθηκε κατά την ωρίμανση.

Πίνακας 3.2: Ποσοστά επί τις εκατό (%) των φαινολικών ενώσεων.

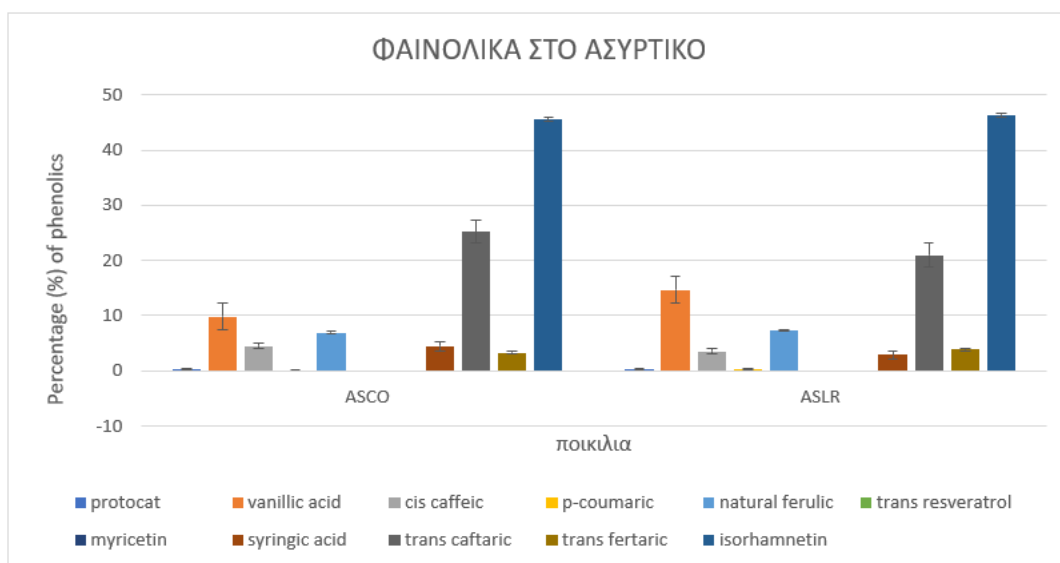
ΔΕΙΓΜΑ	ASCO	ASLR	MSCO	MSLR	RCO	RLR	BCO	BLR
protocat	0,41	0,32	<0,01	0,21	0,63	3,03	0,30	<0,01
vanillic acid	9,76	14,60	10,63	21,02	20,89	40,91	-	-
cis caffeic	4,47	3,49	0,58	0,85	1,90	0,56	8,33	10,31
p-coumaric	<0,01	0,32	<0,01	<0,01	0,63	0,56	6,55	6,90
natural ferulic	6,91	7,30	0,98	2,76	3,80	1,52	5,85	24,14
trans resveratrol	<0,01	<0,01	0,20	0,41	<0,01	0,76	<0,01	<0,01
myricetin	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
syringic acid	4,47	2,86	2,15	2,54	5,06	4,35	3,87	31,03
trans caftaric	25,20	20,95	0,78	2,76	1,27	-	72,32	17,24
trans fertaric	3,22	3,78	0,59	1,49	1,90	0,72	2,98	10,34
isorhamnetin	45,53	46,35	84,06	67,94	63,92	55,30	-	<0,01

3.3. Διαφορές των φαινολικών πριν και μετά το ξεφύλλισμα

Όπως επιβεβαιώνει και μελέτη των Šukonić et al., στην ποικιλία Vranac από το Μαυροβούνιο, προσδιορίστηκαν και ταυτοποιήθηκαν με τη χρήση της HPLC 32 φαινολικά οξέα και παράγωγα αυτών. Πιο συγκεκριμένα, ταυτοποιήθηκαν σε όλα τα δείγματα που δοκιμάστηκαν πρωτοκατεχικό οξύ, βανιλικό οξύ και καφταρικό οξύ, όπως και στα δείγματα της παρούσας εργασίας (εκτός του βανιλικού στην ποικιλία Βιδιανό), και ανήκουν στα υδροξυκινναμωμικά οξέα, τα οποία καταλαμβάνουν το μεγαλύτερο μέρος των φαινολικών ενώσεων. Στην ίδια μελέτη ταυτοποιήθηκε και το στιλβένιο trans -ρεσβερατρόλη. Το βανιλικό και το συριγγικό οξύ αποτελούν τις πιο σημαντικές χημικές ενώσεις από την ομάδα των υδροξυκινναμωμικών οξέων (Lorrain et al., 2013), παρόλο που εμφανίζονται σε σημαντικά μικρές συγκεντρώσεις όπως φαίνεται και από τα διαγράμματα.

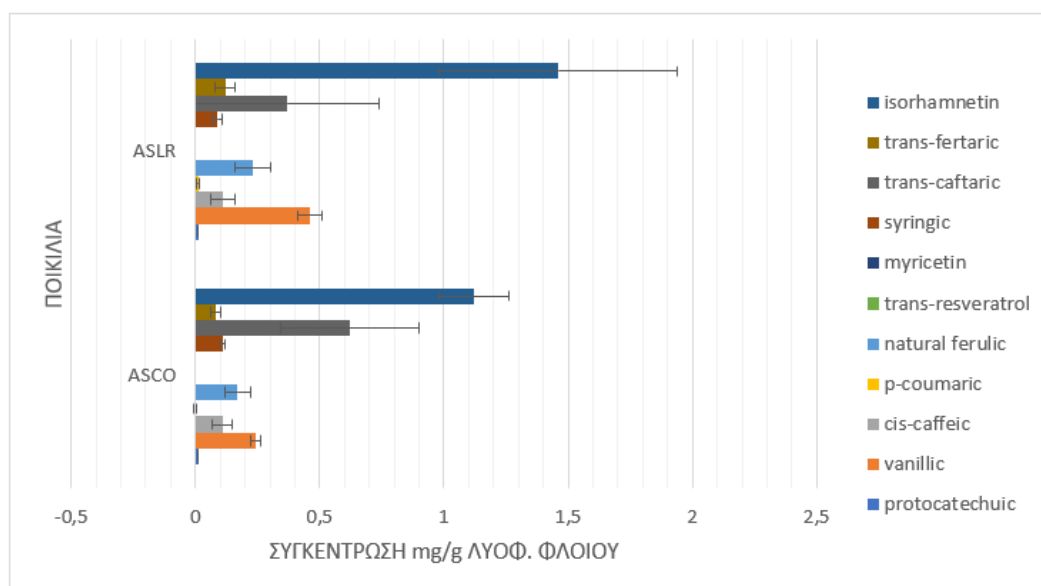
Στα παρακάτω διαγράμματα μπορούν να φανούν με μεγαλύτερη σαφήνεια, οι διαφορές που προέκυψαν στα φαινολικά συστατικά της κάθε ποικιλίας μετά την εφαρμογή του ξεφυλλίσματος. Στα διαγράμματα 5,7,9 και 11 παρουσιάζονται όλες οι φαινολικές ενώσεις που ανιχνεύθηκαν και ταυτοποιήθηκαν στις 4 ποικιλίες πριν και μετά την εφαρμογή του ξεφυλλίσματος, σε ποσοστό % ενώ στα διαγράμματα 6,8,10 και 12 παρουσιάζονται και πάλι οι φαινολικές ενώσεις των ποικιλιών, πριν και μετά την τεχνική του ξεφυλλίσματος, αλλά αυτή τη φορά εκφρασμένες σε συγκέντρωση mg/g λυοφιλιωμένου φλοιού (Λ.Φ.).

Στο διάγραμμα 5 φαίνεται πάρα πολύ καθαρά πως η άγλυκη φλαβονόλη ισοραμνετίνη υπερσχύει σε πολύ μεγάλο και εμφανές βαθμό έναντι όλων των υπολοίπων φαινολικών, τόσο πριν όσο και μετά την αφαίρεση των φύλλων κατά το στάδιο του περκασμού. Φαίνεται ακόμα η αύξηση του βανιλικού οξέος αλλά και η μείωση του καφταρικού οξέος. Η ρεσβερατρόλη και η μυρικετίνη εντοπίζονται σε κάθε περίπτωση σε σχεδόν μηδενικές συγκεντρώσεις.

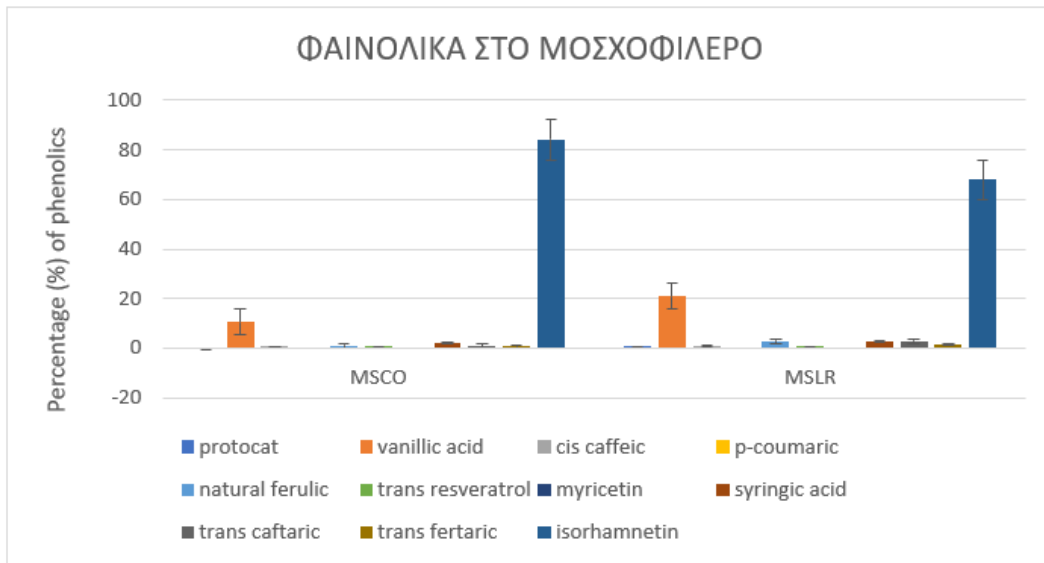


Διάγραμμα 5: Φαινολικά συστατικά (%) στο Ασύρτικο.

Στο διάγραμμα 6 αποτυπώνονται όλες οι ενώσεις που εντοπίστηκαν και ταυτοποιήθηκαν σε mg/g λυοφιλιωμένου φλοιού. Για ακόμα μία φορά φαίνεται ξεκάθαρα, πως η φλαβονόλη ισοραμνετίνη υπερέχει έναντι όλων των υπολοίπων τόσο πριν όσο και μετά το ξεφύλλισμα. Πιο συγκεκριμένα βρίσκεται σε συγκέντρωση 1,12 mg/g Λ.Φ. και 1,46 mg/g Λ.Φ. αντίστοιχα. Ακολουθεί το καφταρικό οξύ και το βανιλικό το οποίο από συγκέντρωση 0,24 mg/g Λ.Φ., εντοπίστηκε σε 0,46 mg/g Λ.Φ. μετά το ξεφύλλισμα. Αύξηση παρουσίασε και το φερουλικό οξύ που ανέβηκε στο 0,23 mg/g Λ.Φ. από 0,17 mg/g Λ.Φ.

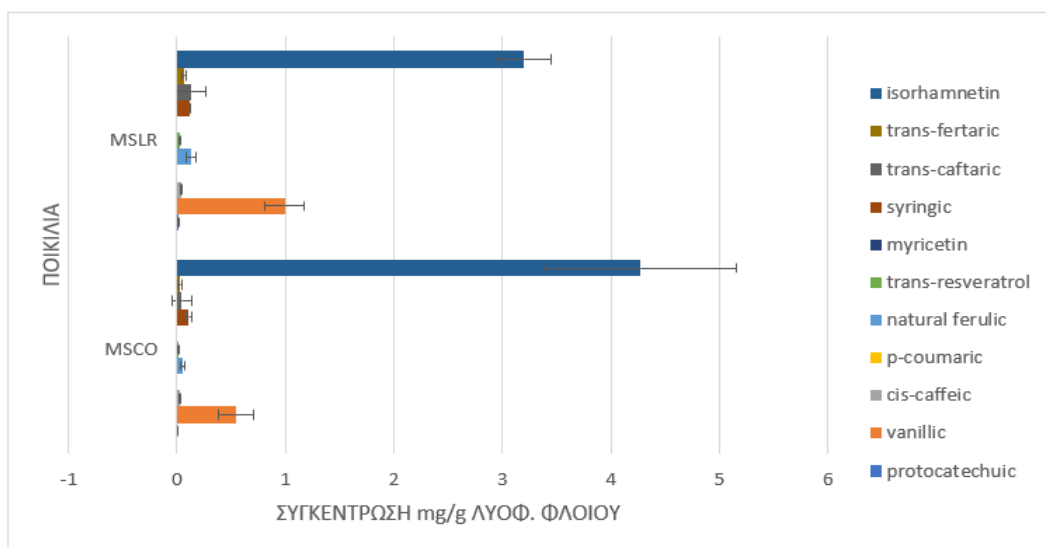


Διάγραμμα 6: Συνολικά φαινολικά συστατικά (mg/g λυοφιλιωμένου φλοιού) που εκχυλίστηκαν από φλοιούς ραγών Ασύρτικο με και χωρίς ξεφύλλισμα.



Διάγραμμα 7: Φαινολικά % στο Μοσχοφίλερο.

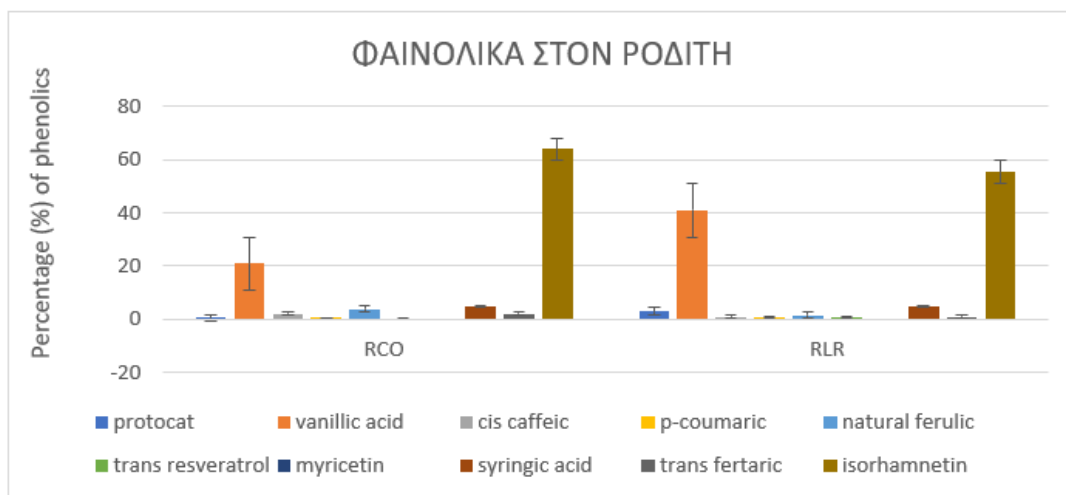
Στη συνέχεια στο διάγραμμα 7 και στο διάγραμμα 8 παρατηρούνται όλες οι μεταβολές που πραγματοποιήθηκαν στις συγκεντρώσεις των φαινολικών στην ποικιλία του Μοσχοφίλερου. Στο Μοσχοφίλερο αξίζει να παρατηρήσει κανείς, πως σχεδόν όλη η ποσότητα και η συγκέντρωση των φαινολικών εντοπίζεται μόνο σε δύο ενώσεις, στην ισοραμνετίνη και στο βανιλικό οξύ, με την πρώτη μάλιστα να ξεφεύγει αρκετά από τη δεύτερη, με συγκέντρωση πριν το ξεφύλλισμα 4,27 mg/g Λ.Φ. έναντι 0,54 mg/g Λ.Φ και μετά το ξεφύλλισμα 3,2 mg/g Λ.Φ. έναντι 0,99 mg/g Λ.Φ της δεύτερης.



Διάγραμμα 8: Συνολικά φαινολικά συστατικά (mg/g λυοφιλωμένου φλοιού) που εκχυλίστηκαν από φλοιούς ραγών Μοσχοφίλερο με και χωρίς ξεφύλλισμα.

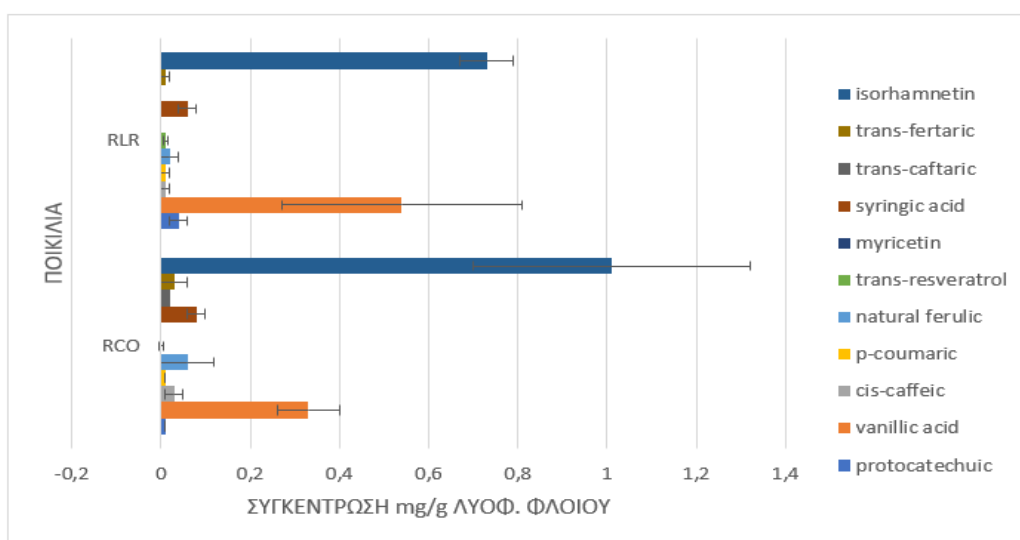
Σε πείραμα που έγινε προκειμένου να βρεθούν οι μεταβολές και οι αλλαγές στα φαινολικά και η απόκριση τους σε συνθήκες ξηρασίας, βρέθηκαν σε άφθονες συγκεντρώσεις παράγωγα κερκετίνης, καθώς και υδροξυκιναμμομικών οξέων με κυρίαρχα το καφταρικό και το κουταρικό οξύ, ενώ από στυλβένια η trans-

ρεσβερατρόλη ήταν αυτή που κυριαρχούσε. Στο συγκεκριμένο πείραμα, όπου λήφθηκαν δείγματα από τις χρονιές του 2014 και 2015, παρατηρήθηκε ότι το 2014 όπου οι βροχοπτώσεις δεν ήταν πολλές και αρδεύτηκαν τα προς μελέτη αμπελοτεμάχια δεν υπήρχαν ιδιαίτερες μεταβολές στα φαινολικά. Αντίθετα τη χρονιά του 2015, όπου υπήρχαν αρκετές βροχοπτώσεις και δεν αρδεύτηκαν τα φυτά, οι μεταβολές στην περιεκτικότητα των φαινολικών συστατικών ήταν μεγαλύτερες και πιο σημαντικές (Pinasseau et al., 2017).



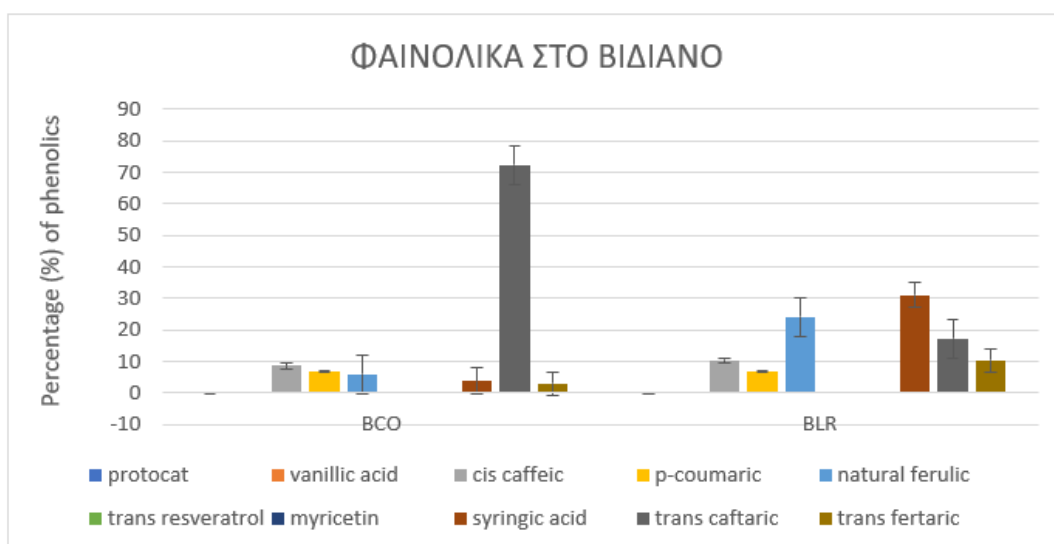
Διάγραμμα 9: Φαινολικά % στον Ροδίτη.

Συνεχίζοντας στα διαγράμματα 9 και 10 φαίνονται τα αποτελέσματα της ποικιλίας Ροδίτης. Στον Ροδίτη κυριαρχεί για ακόμη μία φορά η ισοραμενίνη και έπειτα το βανιλικό οξύ. Στον Ροδίτη, μετά την εφαρμογή του ξεφυλλίσματος, το βανιλικό οξύ για πρώτη φορά κυριαρχεί σχεδόν στο ίδιο ποσοστό με την ισοραμενίνη, 40,91% το βανιλικό και 55,3 % η ισοραμενίνη (διάγραμμα 9). Το βανιλικό οξύ, ύστερα από την τεχνική του ξεφυλλίσματος σχεδόν διπλασιάστηκε, 0,33 mg/g Λ.Φ. πριν και 0,54 mg/g Λ.Φ. μετά (διάγραμμα 10).

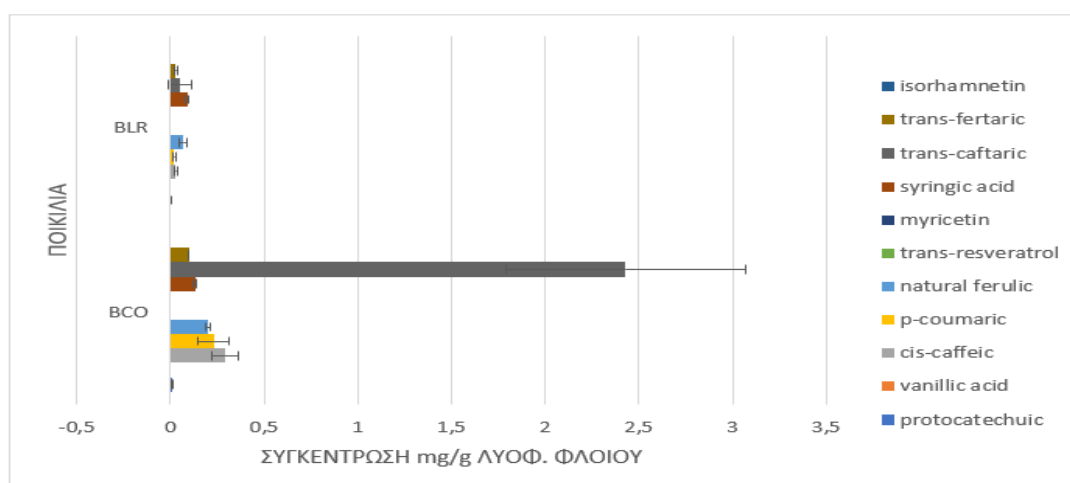


Διάγραμμα 10: Συνολικά φαινολικά συστατικά (mg/g λυοφιλωμένου φλοιού) που εκχυλίστηκαν από φλοιούς ραγών Ροδίτη με και χωρίς ξεφύλλισμα.

Τέλος, στα διαγράμματα 11 και 12 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για τα φαινολικά συστατικά στην ποικιλία Βιδιανό. Στο Βιδιανό αλλάζουν τα δεδομένα, και τώρα σε αυτή την ποικιλία η ένωση που κυριαρχεί σε πάρα πολύ μεγάλο ποσοστό πριν την εφαρμογή του ξεφύλλισματος, 72,32 % (διάγραμμα 11), είναι το trans- καφταρικό οξύ και ακολουθούν όλες οι υπόλοιπες σε αρκετά μικρά ποσοστά. Σε μηδενικές συγκεντρώσεις εμφανίζονται το βανιλικό οξύ, η trans- ρεσβερατρόλη και η μυρικετίνη πριν το ξεφύλλισμα. Μετά το ξεφύλλισμα υπάρχει μια μεγαλύτερη ισορροπία στις συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων. Πλέον δεν κυριαρχεί το καφταρικό οξύ και μάλιστα σε τόσο μεγάλη συγκέντρωση, αλλά κυριαρχεί στην πρώτη θέση το συριγγικό οξύ το οποίο από συγκέντρωση 0,09 mg/g Λ.Φ (διάγραμμα 12), βρέθηκε σε συγκέντρωση 0,13 mg/g Λ.Φ. (διάγραμμα 12). Ακολουθούν το φερουλικό οξύ, 24,14% (διάγραμμα 11), το καφταρικό οξύ με 17,24% και το καφεϊκό με το φερταρικό οξύ με ποσοστό 10,34%. Σε αυτή τη λευκή ποικιλία μετά το ξεφύλλισμα απήλθε μια ισορροπία ανάμεσα στις φαινολικές ενώσεις, καθώς υπήρχε μία αύξηση σχεδόν σε όλες τις ενώσεις, σε αρκετά μεγάλο ποσοστό, με αποτέλεσμα να βρίσκονται σε πιο κοντινά ποσοστά.



Διάγραμμα 11: Φαινολικά % στο Βιδιανό.



Διάγραμμα 12: Συνολικά φαινολικά συστατικά (mg/g λυοφιλιωμένου φλοιού) που εκχυλίστηκαν από φλοιούς ραγών Βιδιανό με και χωρίς ξεφύλλισμα.

3.4. Ποσοστά κατηγοριών των φαινολικών πριν και μετά το ξεφύλλισμα.

Γενικότερα, όπως έχει προαναφερθεί, τα φαινολικά συστατικά χωρίζονται και ταξινομούνται σε επιμέρους κατηγορίες. Στις συγκεκριμένες 4 λευκές ποικιλίες τα φαινολικά που βρέθηκαν και ταυτοποιήθηκαν ανήκουν, στα υδροξυκιναμωμικά οξέα, στα στυλβένια και στις φλαβονόλες. Πιο συγκεκριμένα στα υδροξυκιναμωμικά οξέα ανήκουν, το πρωτοκατεχικό οξύ, το βανιλικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, το p- κουμαρικό οξύ, το trans-φερουλικό οξύ, το συριγγικό οξύ, το καφταρικό και το φερταρικό οξύ, στα στυλβένια η trans ρεσβερατρόλη και στις φλαβονόλες η μυρικετίνη και η ισοραμνετίνη. Στον πίνακα 3.3 παρουσιάζονται τα ποσοστά των κατηγοριών των φαινολικών στις ποικιλίες πριν το ξεφύλλισμα συνολικά, και στον πίνακα 3.4 παρουσιάζονται τα ποσοστά τους μετά την εφαρμογή του ξεφυλλίσματος.

Πίνακας 3.3: Συνολικό ποσοστό πριν το ξεφύλλισμα

Κατηγορίες	ASCO	MSCO	RCO	BCO
Υδροξυκιν. Οξέα	54,46	15,74	36,08	99,99
Στυλβένια	<0,01	0,20	<0,01	<0,01
Φλαβονόλες	45,53	84,06	63,91	-

Πίνακας 3.4: Συνολικό ποσοστό μετά το ξεφύλλισμα

Κατηγορίες	ASLR	MSLR	RLR	BLR
Υδροξυκιν. Οξέα	53,65	31,64	52,29	99,97
Στυλβένια	<0,01	0,42	0,76	<0,01
Φλαβονόλες	46,34	67,94	55,30	<0,01

Όπως φαίνεται και από τον πίνακα 3.3, πριν το ξεφύλλισμα στο Ασύρτικο και το Βιδιανό υπερτερούν τα υδροξυκιναμωμικά οξέα, ενώ στο Μοσχοφίλερο και τον Ροδίτη οι φλαβονόλες. Αξίζει να σημειωθεί, πως και στις 4 ποικιλίες τα στυλβένια, όπου αποτελούνται από τη ρεσβερατρόλη, βρίσκονται σε ίχνη και μόνο στο Μοσχοφίλερο παρατηρείται κάποιο μικρό ποσοστό (0,20%). Μετά το ξεφύλλισμα οι αλλαγές για το Ασύρτικο ήταν πολύ μικρές, αυξήθηκαν μόνο λίγο οι φλαβονόλες και μειώθηκαν τα υδροξυκιναμωμικά οξέα (πίνακας 3.4). Στο Μοσχοφίλερο αυξήθηκαν σε αρκετά μεγάλο ποσοστό τα υδροξυκιναμωμικά οξέα, σε μικρότερο βαθμό αυξήθηκαν και τα στυλβένια, ενώ μειώθηκαν οι φλαβονόλες. Στη συνέχεια, στον Ροδίτη, αύξηση παρουσίασαν και πάλι τα υδροξυκιναμωμικά αλλά και σημαντικότερη αύξηση, σε σχέση με το Μοσχοφίλερο, εντοπίστηκε και στα στυλβένια, όπου από ίχνη μετά το ξεφύλλισμα αυξήθηκε το ποσοστό σε 0,76%. Τέλος, στο Βιδιανό δεν παρουσιάστηκαν μεγάλες αλλαγές, καθώς όλα τα φαινολικά τόσο πριν όσο και μετά την εφαρμογή του ξεφυλλίσματος, απαρτίζονταν από την κατηγορία των υδροξυκιναμωμικών οξέων, ενώ τα στυλβένια και οι φλαβονόλες εντοπίστηκαν σε ίχνη.

Στον πίνακα 3.5 παρουσιάζονται οι συνοπτικά όλοι οι μέσοι όροι των ενώσεων στις ποικιλίες πριν και μετά το ξεφύλλισμα εκφρασμένοι σε mg/g λυοφιλιωμένου φλοιού, καθώς επίσης και το τυπικό σφάλμα για καθένα από αυτά.

Πίνακας 3.5: Μέσος όρος των συγκεντρώσεων mg/g λυοφ. φλοιού και τυπικό σφάλμα.

SAMPLE NAME	Protocatechuic		Vanillic acid		Cis-caffeic acid	
	Average	SD	Average	SD	Average	SD
ASCO	0,01	0,00	0,24	0,02	0,11	0,04
ASLR	0,01	0,00	0,46	0,05	0,11	0,05
MSCO	<LOQ	0,00	0,54	0,16	0,03	0,01
MSLR	0,01	0,00	0,99	0,18	0,04	0,02
RCO	0,01	0,00	0,33	0,07	0,03	0,02
RLR	0,04	0,02	0,54	0,27	0,01	0,01
BCO	0,01	0,00	<LOD		0,29	0,07
BLR	<LOQ	0,00	<LOD		0,03	0,01

SAMPLE NAME	P-coumaric acid		Natural ferulic acid		Trans resveratrol	
	Average	SD	Average	SD	Average	SD
ASCO	<LOQ	0,00	0,17	0,05	<LOQ	0,00
ASLR	0,01	0,00	0,23	0,07	<LOQ	0,00
MSCO	<LOQ	0,00	0,05	0,02	0,01	0,00
MSLR	<LOQ	0,00	0,13	0,04	0,02	0,01
RCO	0,01	0,00	0,06	0,06	<LOQ	0,00
RLR	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01
BCO	0,23	0,08	0,20	0,01	<LOQ	0,00
BLR	0,02	0,01	0,07	0,02	<LOQ	0,00

SAMPLE NAME	Myricetin		Syringic acid		Trans-caftaric acid	
	Average	SD	Average	SD	Average	SD
ASCO	<LOQ	0,00	0,11	0,01	0,62	0,28
ASLR	<LOQ	0,00	0,09	0,02	0,66	0,37
MSCO	<LOQ	0,00	0,11	0,02	0,04	0,09
MSLR	<LOQ	0,00	0,12	0,00	0,13	0,14
RCO	<LOQ	0,00	0,08	0,02	0,02	0,17
RLR	<LOQ	0,00	0,06	0,02	<LOQ	0,07
BCO	<LOQ	0,00	0,13	0,01	2,43	0,64
BLR	<LOQ	0,00	0,09	0,01	0,05	0,06

SAMPLE NAME	Trans-fertaric acid		Isorhamnetin	
	Average	SD	Average	SD
ASCO	0,08	0,02	1,12	0,14
ASLR	0,12	0,04	1,46	0,48
MSCO	0,03	0,01	4,27	0,89
MSLR	0,07	0,02	3,20	0,25
RCO	0,03	0,03	1,01	0,31
RLR	0,01	0,01	0,73	0,06
BCO	0,10	0,00	<LOQ	0,03
BLR	0,03	0,01	<LOQ	0,01

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το ξεφύλλισμα που εφαρμόστηκε στις ποικιλίες Ασύρτικο, Μοσχοφίλερο, Ροδίτη και Βιδιανό, κατά το στάδιο του περκασμού, δεν φαίνεται να τις επηρέασε σε ιδιαίτερα σημαντικό βαθμό. Στις 4 προς μελέτη λευκές ποικιλίες, μετά την εφαρμογή του ξεφυλλίσματος, φάνηκαν κάποιες διαφορές στις συγκεντρώσεις των φαινολικών συστατικών που βρέθηκαν και ταυτοποιήθηκαν σε αυτές. Στις ποικιλίες η τεχνική του ξεφυλλίσματος φάνηκε να αυξάνει κάποια φαινολικά, αλλά και να τα μειώνει.

Στο Ασύρτικο το ξεφύλλισμα φάνηκε να αυξάνει το βανιλικό οξύ και την ισοραμεντίνη σε σημαντικό βαθμό, ενώ επηρέασε στο να μειωθεί η συγκέντρωση του καφεϊκού οξέος, του φερουλικού οξέος, του συριγγικού και του καφταρικού οξέος (διαγράμματα 5 και 6). Τα υπόλοιπα φαινολικά συστατικά, παρατηρείται ότι έμειναν σε σχεδόν σταθερές συγκεντρώσεις. Συνεχίζοντας όπως αποτυπώνεται και στα διαγράμματα 7 και 8, στο Μοσχοφίλερο μειώθηκε η συγκέντρωση της ισοραμεντίνης και αυξήθηκε του βανιλικού οξέος. Στις δύο αυτές ενώσεις φαίνονται οι μεγαλύτερες διαφορές από το ξεφύλλισμα, ενώ στις υπόλοιπες εμφανίζονται απειροελάχιστες διαφορές, όμως και αυτές οι διαφορές δείχνουν πως στην προκειμένη περίπτωση το ξεφύλλισμα κυρίως μείωσε τις φαινολικές ενώσεις.

Στον Ροδίτη, από τα διαγράμματα 9 και 10, φαίνεται η κατάσταση να μη διαφέρει και πολύ από αυτήν που υπάρχει και στην ποικιλία Μοσχοφίλερο. Και στη συγκεκριμένη περίπτωση αυξήθηκε, σχεδόν διπλασιάστηκε το βανιλικό οξύ, ενώ μειώθηκε εμφανώς η ισοραμεντίνη. Σε αυτή την ποικιλία τα υπόλοιπα φαινολικά συστατικά δεν παρουσίασαν διαφορές σε σημαντικά επίπεδα.

Τέλος, το Βιδιανό είναι η ποικιλία, η οποία σε σχέση με τις άλλες εμφάνισε τις πιο μεγάλες και ενδιαφέρουσες διαφορές όσον αφορά τη συγκέντρωση των ενώσεων. Αρχικά η μοναδική ποικιλία που κυριαρχούσε πριν το ξεφύλλισμα, ήταν το καφταρικό οξύ, το οποίο και κατείχε το μεγαλύτερο ποσοστό. Μετά την τεχνική του ξεφυλλίσματος, το καφταρικό οξύ μειώθηκε σε συγκέντρωση, όπως μειώθηκαν και όλες οι υπόλοιπες ενώσεις (διαγράμματα 11 και 12). Ωστόσο, για τον λόγο ότι η συγκέντρωση του καφταρικού οξέος μειώθηκε πάρα πολύ μετά το ξεφύλλισμα σε σχέση με αυτό που υπήρχε πριν, όλες οι υπόλοιπες ενώσεις, παρόλο που μειώθηκαν και αυτές ως προς τη συγκέντρωση (mg/g λυοφυλιωμένου φλοιού), αυξήθηκαν ως προς το ποσοστό (%) (διάγραμμα 11) που εντοπίζονται στη συγκεκριμένη ποικιλία.

Συμπερασματικά, αποδείχθηκε ότι η εφαρμογή του ξεφυλλίσματος, και επομένως η αύξηση της έκθεσης των σταφυλιών στην ηλιακή ακτινοβολία, δεν είναι πάντοτε προνομακή για όλες τις ποικιλίες. Οι επιρροές που επιφέρει στα παραγόμενα σταφύλια, λόγω των δεδομένων καιρικών συνθηκών που επικρατούσαν τη συγκεκριμένη καλλιεργητική περίοδο, ή πιθανόν λόγω των χαρακτηριστικών των ποικιλιών ή των χαρακτηριστικών της συγκεκριμένης περιοχής, η εφαρμογή του ξεφυλλίσματος να μην είναι τόσο αποτελεσματική. Δεν είναι απόλυτα διακριτό, αν το ξεφύλλισμα επηρέασε μόνο θετικά ή μόνο αρνητικά τα φαινολικά χαρακτηριστικά των συγκεκριμένων ποικιλιών. Επομένως, το ξεφύλλισμα στο στάδιο του περκασμού δεν είναι βέβαιο αν θα οδηγήσει σε αποδοτικότερα σταφύλια, σε σχέση με τα φαινολικά, και εν τέλη και σε ποιοτικότερους οίνους. Προτείνεται η επέκταση της μελέτης, να επαναληφθεί το πείραμα κάποιες χρονιές και ακόμα πιο αποτελεσματικό θα ήταν, αν υπήρχε η δυνατότητα μικροοινοποίησης από τις συγκεκριμένες ποικιλίες, ώστε να μπορέσουν να ληφθούν πιο σαφή αποτελέσματα.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

5.1 Διεθνής βιβλιογραφία

Baderschneider, B., & Winterhalter, P. (2001). Isolation and characterization of novel benzoates, cinnamates, flavonoids, and lignans from Riesling wine and screening for antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 2788–2798.

Baiano A., De Gianni A., Previtali Ma. Del Nobile Ma., Novello V., De Palma L. (2015). Effects of defoliation on quality attributes of Nero di Troia (*Vitis vinifera* L.) grape and wine. *Food Res Int* 75:260-269

Benbouguerra, N., Richard, T., Saucier, C., & Garcia, F. (2020). Voltammetric Behavior, Flavanol and Anthocyanin Contents, and Antioxidant Capacity of Grape Skins and Seeds during Ripening (*Vitis vinifera* var. Merlot, Tannat, and Syrah). *Antioxidants* 2020, Vol. 9, Page 800, 9(9), 800. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX9090800>

Bindon, K.; Varela, C.; Kennedy, J.; Holt, H.; Herderich, M. Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon 1. *Grape and wine chemistry*. *Food Chem.* 2013, 138, 1696–1705

Buiarelli, F., Cocciolia, F., Merollea, M., Jasionowska, R., & Terracciano, A. (2010). Identification of hydroxycinnamic acid–tartaric acid esters in wine by HPLC–tandem mass spectrometry.

Buiarelli F., Coccioli F., Jasionowska R., Merolle M., Terracciano A., 2007. Analysis of some stilbenes in Italian wines by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rap. Commun. Mass Spectrom.*, 21: 2955–2964.

Clifford MN, Scalbert A. Ellagitannins—occurrence in food, bioavailability and cancer prevention. *J Food Sci Agric.* 2000 80:1118–1125.

Conde C., Silva P., Fontes N., Dias A.C.P., Tavares R.M., Sousa M.J., Agasse A., Derlot S. and Gerós H. (2007): Biochemical Changes throughout Grape Berry Development and Fruit and Wine Quality. *Global Science Books, Food* 1 (1), 1-22.

Davies L.A. and Tueller J.R., 1980, *Book Drying in a Space Chamber*, Lockheed Missiles and Space Company Public Service, Sunnyvale, CA, 13 p.

Diago MP, Ayestaran B., Guadalupe Z., Garrido A., Tardaguila J. (2012). Phenolic composition of Tempranillo wines following early defoliation of the vines. *J Sci Food Agric* 92:925-934

Downey MO, Dokoozlian NK, Krstic MP (2006). Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: a review of recent research. *Am J Enol Vitic* 57:257-268

Downey, M.O.; Harvey, J.S.; Simon R. (2003). Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9, 15-27.

Fabani, M. P., Baroni, M. V., Luna, L., Lingua, M. S., Monferran, M. V., Paños, H., Tapia, A., Wunderlin, D. A., & Feresin, G. E. (2017). Changes in the phenolic profile

of Argentinean fresh grapes during production of sun-dried raisins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 58, 23–32. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2017.01.006>

Fernandez Alba A. R., "TOF-MS within Food and Environmental Analysis, Volume 58, Comprehensive Analytical Chemistry", Elsevier, (2012).

Ghosh, C., Shinde, C. P., & Chakraborty, B. S. (2012). Influence of ionization source design on matrix effects during LC–ESI-MS/MS analysis. *Journal of Chromatography B*, 893–894, 193–200. <https://doi.org/10.1016/J.JCHROMB.2012.03.012>

Gosetti, F., Mazzucco, E., Zampieri, D., & Gennaro, M. C. (2010). Signal suppression/enhancement in high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217(25), 3929–3937. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2009.11.060>

Harbertson, J.F and Downey, M.O. (2009). Investigating differences in tannin levels determined by methylcellulose and protein precipitation. *American Journal of Enology and Viticulture* , 60(2), 246-249.

Hardie WJ., O'Brien TP., Jaudzems VG. (1996). Morphology, anatomy and development of the pericarp after anthesis. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 2(2): 97-141

Harris J.M., P.E. Kriedemann and J.V. Possingham, 1971. Grape berry respiration: Effects of metabolism inhibitors. *Vitis* 9, 291-298.

Hernandez-Jimenez A, Gomez-Plaza E, Martinez- Cutillas A, Kennedy JA (2009). Grape skin and seed proanthocyanidins from Monastrell x Syrah grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 10798-10803

Iacopini P., Baldi M., Storchi P., Sebastiani L., 2008. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21: 589– 598.

Intrieri C., Filippetti I., Allegro G., Centinari M., Poni S. (2008). Early defoliation (hand vs mechanical) for improved crop control and grape composition in Sangiovese (*Vitis vinifera* L.). *Aust. J. Grape Wine Res.* 14, 25-32.

Jackson RS: *Grapevine Structure and Function*, Chapter 5 in *Wine Science*, 2nd edition Academic Press, San Diego, 2000, pp 66-71.

Jackson, R. S., 2008. *Wine science: principles and applications*. Amsterdam: Elsevier, στο 46 σελ. 27,28

Jeandet P., Bessis R., Maume B.F., Meunier P., Peyron D., Trollat P., 1995. Effect of enological practices on the resveratrol isomer content of wine. *J. Agric. Food Chem.*, 43: 316-319

Kallithraka, S.; Bakker, J.; Cliford, M.N. (1998). Evidence that salivary proteins are involved in astringency. *Journal of Sensory Studies* ,13, 29-43.

Kallithraka, S., Salachaa, M. I., & Tzouroua, I. (2009). Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. *Food Chemistry*, 113(2), 500–505.

- Kanellis AK., Roubelakis-Angelakis KA. (1993). Grape. In: Biochemistry of Fruit Ripening, Seymour G, Taylor J, Tucker G (Eds.). London: Chapman & Hall pp 189-234
- Keller M: The science of Grapevines: Anatomy and Physiology. 2nd edition, Academic Press, Oxford, 2015, pp 522
- Keller M. (2010). The Science of Grapevines: Anatomy and Physiology. Academic Press, Burlington, Massachusetts
- Kennedy J.A., (2002): Understanding Grape Berry Development. *Practical winery and vineyard magazine*.
- Kennedy J. (2012). Understanding grape berry development. Practical Winery and Vineyard
- Lee S., Seo M., Riu M., Cott. J., Block D., Dokoozlian N, Ebeler S. (2007). Vine microclimate and norisoprenoid concentration in Cabernet Sauvignon grapes and wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 58:291-301
- Levadoux Louis. 1951. La Sélection et L'Hybridation Chez La Vigne, Montpellier: Déhan
- Lianda L. P. R., D'Oliveira Sant'Ana L., Echevarria A., Castro N. R., "Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Brazilian Honeys and their Extracts", *J. Braz. Chem. Soc.*, (2012), 23, 618-627
- Lorrain, B., Ky, I., Pechamat, L., & Teissedre, P. L. (2013). Evolution of Analysis of Polyphenols from Grapes, Wines, and Extracts. *Molecules* 2013, Vol. 18, Pages 1076-1100, 18(1), 1076–1100. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES18011076>
- Makris, D.P.; Kallithraka, S.; Kefalas, P.(2006b). Flavonols in grapes, grape products and wines: Burden, profile and influential parameters. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 396-404.
- Mattivi F., Guzzon R., Vrhovsek U., Stefanini M., Velasco R., 2006. Metabolite Profiling of Grape: Flavonols and Anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.*, 54: 7692-7702.
- Melino, S., Sabelli, R., & Paci, M. (2011). Allyl sulfur compounds and cellular detoxification system: Effects and perspectives in cancer therapy. *Amino Acids*, 41(1), 103–112. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0522-6>
- Millery A. 1988. Caractérisation des cépages champenois a partir de leurs acides animes libres. Thèse Doctorat Université Reims.
- Mullins G.M., Bouguet Al. and Williams E.L., (1990): Biology of grapevine., Cambridge University Press, USA.
- Petrie P.R., Clingeffer P.R. (2006). Crop thinning (hand vs mechanical), grape maturity and anthocyanins concentration: outcome from irrigated Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) in a warm climate. *Aust. J. Grape Wine Res.* 12, 21-29.
- Petropoulos,S., Kallithraka,S., & Paraskevopoulos, I. (2011). Influence of Some Viticultural Practices on the Polyphenolic Content of Wines Produced from cv.Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L.). *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 2011, 45, n°4, pp 235-243.

Pinasseau, L., Vallverdú-Queralt, A., Verbaere, A., Roques, M., Meudec, E., Le Cunff, L., Péros, J. P., Ageorges, A., Sommerer, N., Boulet, J. C., Terrier, N., & Cheynier, V. (2017). Cultivar diversity of grape skin polyphenol composition and changes in response to drought investigated by LC-MS based metabolomics. *Frontiers in Plant Science*, 8, 282675. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2017.01826/BIBTEX>

Pratt C., (1971): Reproductive anatomy in cultivated grapes. A review. *American Journal of Enology and Viticulture*, **22**: 92-109.

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

Reynolds AG., Wardle DA., Naylor AP. (1996) Impact of training system, vine spacing, and basal leaf removal on Riesling. Vine performance, berry composition, canopy microclimate, and vineyard labor requirements. *American Journal of Enology and Viticulture* 47:63-76

Ribereau- Gayon,P. Glories Y., Marujean, A., Dubourdieu,D. (2006). Handbook of enology. The chemistry of wine stabilization and treatments. In: (ed), John Wiley & Sons, Ltd, West Sussex, England

Rolle, L.; Río Segade, S.; Torchio, F.; Giacosa, S.; Cagnasso, E.; Marengo, F.; Gerbi, V. Influence of Grape Density and Harvest Date on Changes in Phenolic Composition, Phenol Extractability Indices, and Instrumental Texture Properties during Ripening. *J. Agric. Food Chem.* 2011, 59, 8796–8805.

Schafer W. and Stahnke O., 1979, Freeze-drying of foodstuffs, *Chemistry and Industry* (July 21), 461-465

Sci-Hub | Matrix Effect in Quantitative LC/MS/MS Analyses of Biological Fluids: A Method for Determination of Finasteride in Human Plasma at Picogram Per Milliliter Concentrations | 10.1021/ac971078+. (n.d.). Retrieved January 12, 2024, from <https://sci-hub.et-fine.com/10.1021/ac971078+>

Skoog D.A., Holler F.J., Crouch S. R., Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης, 6η Έκδοση, Ελληνική Μετάφραση Καραγιάννη-Ευσταθίου-Χανιωτάκη, Εκδόσεις Κωσταράκη, Ιωάννινα 2007, σελ. 624-666, 935-960

Skoog D. A., Holler F. J., Nieman T. A., "Αρχές της Ενόργανης Ανάλυσης", Εκδόσεις Κωσταράκη, Αθήνα, 2005

Šuković, D., Knežević, B., Gašić, U., Sredojević, M., Ćirić, I., Todić, S., Mutić, J., & Tešić, Ž. (2020). Phenolic Profiles of Leaves, Grapes and Wine of Grapevine Variety Vranac (*Vitis vinifera* L.) from Montenegro. *Foods* 2020, Vol. 9, Page 138, 9(2), 138. <https://doi.org/10.3390/FOODS9020138>

Tardaquila J., Martinez de Toda F., Poni S., Diago M.P. (2010). Impact of early leaf removal on yield and fruit and wine composition of *Vitis vinifera* L. Graciano and Carignan. *Am. J. Enolo. Vitic.* 61,372-38

Terrier N., Poncet-Legrand C., Cheynier V., 2009. Flavanols, Flavonols and Dihydroflavonols. *Wine Chemistry and Biochemistry*, Chapter 9B. Ed: Moreno-Arribas M.V.-Polo M.C., 465,473

Torchio, F.; Cagnasso, E.; Gerbi, V.; Rolle, L. Mechanical properties, phenolic composition and extractability indices of Barbera grapes of different soluble solids contents from several growing areas. *Anal. Chim. Acta* 2010, 660, 183–189

Vanzo, A., Cecotti, R., Vrhovsek, U., Torres, A.M., Mattivi, F., & Passamonti, S. (2007). The fate of trans-caftaric acid administered into 139 the rat stomach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(4), 1604–1611

Verdenal T., Zufferey V., Dienes-Nagy A., Bourdin G., Gindro K., Spring L. (2019). Timing and intensity of grapevine defoliation: An extensive overview on five cultivars in Switzerland. *American Journal of Enology and Viticulture*

Zhang, X., Yuan, X., Shi, H., Wu, L., Qian, H., & Xu, W. (2015). Exosomes in cancer: Small particle, big player. *Journal of Hematology and Oncology*, 8(1), 83. <https://doi.org/10.1186/s13045-015-0181-x>

5.2 Ελληνική βιβλιογραφία

Ζαχαριάδης Γ., Γηρούση Σ. και Βουλγαρόπουλος Α., Έλεγχος και Διασφάλισης Ποιότητας με στοιχεία Μετρολογίας και Χημειομετρίας, ΖΗΤΗ, Θεσσαλονίκη, 2013.

Θεοδωρίδης Γ., Γηρούση Σ., Ζαχαριάδης Γ., Ζώτου Α., και Σαμανίδου Β., Βιοαναλυτική Χημεία, Ελληνικά Ακαδημαϊκά Ηλεκτρονικά Συγγράμματα και Βοηθήματα, Αθήνα, 2015

Θεοδωρίδης Γ., Γηρούση Σ., Ζαχαριάδης Γ., Ζώτου Α., και Σαμανίδου Β., Βιοαναλυτική Χημεία, Ελληνικά Ακαδημαϊκά Ηλεκτρονικά Συγγράμματα και Βοηθήματα, Αθήνα, 2015

Κουνδουράς Σ., 2018 Σημειώσεις αμπελοργίας

Νικολάου, Ν. (2011), Αμπελοργία. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία, 11-20,25-57

Νικολάου, Ν. (2012), Αμπελογραφία. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία, 231-233, 243-245, 250-252.

Σουφλερός Ε., 2012, Οινολογία, Θεσσαλονίκη

Τσακίρης, Α., Παπούλιας Θ. (1996). Οινολογία: Από το σταφύλι στο κρασί

5.3 Ιστοσελίδες

<https://douloufakis.wine/> is required in the case of using any part of this text. Original text can be found here: <https://douloufakis.wine/el/vidiano-el-m>