



**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

Επίδραση του ξεφυλλίσματος στο ανθοκυανικό προφίλ τεσσάρων ελληνικών
οινοποιήσιμων ποικιλιών σταφυλιών και των παραγόμενων οίνων

Νίκη Αθηνά Κ. Ουρούμη

Επιβλέπων καθηγητής:
Γιώργος Κοτσερίδης, Καθηγητής ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ
2024**

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

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Επίδραση του ξεφυλλίσματος στο ανθοκυανικό προφίλ τεσσάρων ελληνικών
οινοποιήσιμων ποικιλιών σταφυλιών και των παραγόμενων οίνων

Effect of leaf removal on anthocyanins of four Greek red grape varieties
and their corresponding wines

Νίκη Αθηνά Κ. Ουρούμη

Εξεταστική Επιτροπή:

Γιώργος Κοτσερίδης, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Σταματίνα Καλλίθρακα, Καθηγήτρια ΓΠΑ

Στέφανος Κουνδουράς, Καθηγητής ΑΠΘ

Επίδραση του ξεφύλλισματος στο ανθοκυανικό προφίλ τεσσάρων ελληνικών οινοποιήσιμων ποικιλιών σταφυλιών και των παραγόμενων οίνων

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

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της ερευνητικής εργασίας αυτής είναι η διερεύνηση της επίδρασης της καλλιεργητικής τεχνικής του ξεφύλλισματος κατά τον περκασμό σε μερικά χαρακτηριστικά και κυρίως στο ποιοτικό και ποσοτικό ανθοκυανικό δυναμικό των σταφυλιών αλλά και των αντίστοιχων παραγόμενων οίνων τεσσάρων Ελληνικών οινοποιήσιμων ποικιλιών αμπέλου (*Vitis vinifera L.*): του Ξινόμαυρου, του Αγιωργίτικου, της Μανδηλαριάς και της Λημνιάνας. Το πείραμα έλαβε χώρα σε επίσημη αμπελογραφική συλλογή στην περιοχή της Νεμέας και τα δείγματα των σταφυλιών συλλέχθηκαν κατά την ωρίμανσή τους με πλήρως τυχαιοποιημένο σχέδιο στην καλλιεργητική περίοδο 2021. Τα δείγματα για κάθε ποικιλία προέρχονται από πρέμνα που εφαρμόστηκε ολικό ξεφύλλισμα κατά τον περκασμό και από φυτά-μάρτυρες που δεν έγινε κάποια επέμβαση. Ακολούθησαν οι κλασικές προζυμωτικές αναλύσεις και η σύγκριση του μεγέθους της ράγας και του βάρους των φλοιών, ο διαχωρισμός των φλοιών και η λυοφιλίωσή τους με σκοπό την εκχύλιση των ανθοκυανών με πρωτόκολλο που έχει αναπτυχθεί. Παράλληλα πραγματοποιήθηκε η παραγωγή οίνων με ίδιο πρωτόκολλο οινοποίησης για όλα τα δείγματα και τον μάρτυρα της κάθε ποικιλίας στους οποίους έγιναν οι βασικές αναλύσεις (ολική οξύτητα, pH, αλκοολικός τίτλος, πτητική οξύτητα, ανάγοντα σάκχαρα). Η ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των μονομερών ανθοκυανών των δειγμάτων στο εκχύλισμα των φλοιών και τους οίνους πραγματοποιήθηκε με σύστημα υγρής χρωματογραφίας HPLC-DAD. Με την ολοκλήρωση του πειράματος, παρατηρήθηκε πως το ξεφύλλισμα επηρέασε αρνητικά την συγκέντρωση των ολικών στερεών στο σταφύλι και τον αλκοολικό τίτλο των παραγόμενων οίνων για όλες τις ποικιλίες, ενώ δεν φάνηκε να επηρεάζει σαφώς την συνολική συγκέντρωση των ανθοκυανών στους φλοιούς της κάθε ποικιλίας. Αντίθετα στους οίνους, το ξεφύλλισμα φαίνεται να επηρέασε αρνητικά την συγκέντρωση των ολικών ανθοκυανών. Καταλυτικός παράγοντας στην ανθοκυανική σύνθεση και τον ποσοτικό καταμερισμό των ανθοκυανών φαίνεται τελικά να είναι η ίδια η ποικιλία.

Επιστημονική περιοχή: Οινολογία

Λέξεις κλειδιά: Ξεφύλλισμα, Λημνιάνα, Ξινόμαυρο, Αγιωργίτικο, Μανδηλαριά, φαινολικά συστατικά, μονομερείς ανθοκυάνες, ράγες, HPLC

Effect of leaf removal on anthocyanins of four Greek red grape varieties and their corresponding wines

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

ABSTRACT

The aim of this research was the investigation of the effect of leaf removal during veraison on certain characteristics, and especially on the qualitative and quantitative potential of the anthocyanins, of the grapes and corresponding wines of four Greek wine grape varieties (*Vitis vinifera L.*): Xinomavro, Agiorgitiko, Mandilaria and Limniona. The experiment was carried out in an official ampelographic collection around of Nemea and during the 2021 vintage. The grapes were sampled during ripening, following a fully randomized sampling protocol. For each variety, there were 2 modules, full leaf removal and no leaf removal (control). Firstly, standard prefermentation analyses were carried out, as well as measures of the size of the grapes and weight of the skins. The anthocyanins of the skins, after their separation and lyophilization, were extracted to be measured. Secondly, wines were produced for each modality, using the same protocol, and for which the standard analyses (total acidity, pH, alcohol concentration, total acidity, reducing sugars) were performed. The monomeric anthocyanins of the skin extracts and the wines were identified and quantified, using a system of liquid chromatography HPLC-DAD. Concerning the results of this experiment, it was observed that leaf removal negatively affected the concentration of total soluble solids in the grape and the alcoholic strength of the produced wines for all varieties, while it did not seem to clearly affect the total concentration of anthocyanins in the skins of each variety. On the contrary, leaf removal seems to have negatively affected the concentration of total anthocyanins to the wines. The main factor influencing anthocyanin synthesis and quantitative distribution of anthocyanins seems to be ultimately the variety itself.

Scientific area: Oenology

Keywords: Leaf removal, Limniona, Xinomavro, Mandilaria, Agiorgitiko, phenolics, monomeric anthocyanin, grapes, HPLC

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ολοκληρώνοντας την παρούσα μεταπτυχιακή ερευνητική εργασία στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, κλείνει ένα μεγάλο κεφάλαιο των σπουδών μου. Ανατρέχοντας λίγο πίσω στα χρόνια αυτά, συναντώ στιγμές σκληρής μελέτης, μικρών απογοητεύσεων και αποτυχιών αλλά κυρίως πολλές ευχάριστες στιγμές πλούσιες από νέες εμπειρίες και προκλήσεις, καθώς και απρόσμενες συναντήσεις με ξεχωριστούς ανθρώπους, που κάποιοι από αυτούς έγιναν φίλοι!

Θερμά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Οινολογίας, Γεώργιο Κοτσερίδη που με την καθοδήγηση και επίβλεψή του ολοκληρώθηκε η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία.

Ακόμη θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην Καθηγήτρια Οινολογίας, Σταματίνα Καλλίθρακα, η οποία υπήρξε πάντα πρόθυμη να προσφέρει την συμβουλή της και την στήριξή της κατά τη διάρκεια όλου του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επίκουρο καθηγητή Αμπελουργίας και τέως πρόεδρου του τμήματος Γεωπονίας του Α.Π.Θ., Στέφανο Κουνδουρά. Υπήρξε αυτός που με ενέπνευσε και με ενθάρρυνε να ασχοληθώ με τον αμπελοοινικό τομέα και να γνωρίσω τον μαγικό κόσμο του κρασιού και του αμπελιού! Η καθοδήγηση και η στήριξή του υπήρξε πολύ σημαντική στα μέχρι τώρα βήματά μου!

Ευχαριστώ πολύ τον Κωνσταντίνο Μπακασιέτα και το προσωπικό του φυτωρίου VNB-Bakasieta για την εξαιρετική συνεργασία και την στήριξή τους στο πειραματικό έργο της εργασίας.

Ευχαριστώ πολύ τη Νίκη Προξενιά, την “ψυχή” του εργαστηρίου Οινολογίας του Γ.Π.Α. που είναι αρωγός για κάθε φοιτητή και πάντα έτοιμη να βρει λύσει σε κάθε δυσκολία!

Επίσης, ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στην υποψήφια διδάκτορα του τμήματος Γεωπονίας Α.Π.Θ., και πλέον φίλη μου, Χριστίνα Καραδήμου, με την οποία πέρασα και τον περισσότερο χρόνο στο εργαστήριο, στο πλαίσιο αυτής της εργασίας. Πάντα πρόσχαρη και διαθέσιμη να με στηρίξει και να με συμβουλέψει σε ακαδημαϊκό, αλλά και προσωπικό επίπεδο. Αυθεντική, έξυπνη και ακούραστη να προσφέρει την βοήθεια και τις γνώσεις της σε όποιον της το ζητήσει!

Ευχαριστώ τους συμφοιτητές μου, που στην πορεία έγιναν αδελφικοί φίλοι, και βρίσκονται πάντα δίπλα μου να με ενθαρρύνουν σε κάθε επόμενο βήμα.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις πιο θερμές μου ευχαριστίες στους γονείς μου για την διακριτική αλλά πάντα καίρια στήριξή τους στη ζωή και τα ακαδημαϊκά μου βήματα, τον αδερφό μου που βρίσκεται πάντα δίπλα μου και την γιαγιά μου που η αγάπη και οι συμβουλές της με βοηθούν και μου θυμίζουν πως πάνω από όλα σημασία έχει η πνευματική πρόοδος του καθενός μας για να μπορούμε να προσφέρουμε και να ωφελούμε και τους γύρω μας!

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

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	3
ABSTRACT	4
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	5
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	6
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1.1 Μορφολογία της ράγας.....	8
1.2 Στάδια ανάπτυξης και ωρίμανσης της ράγας	10
1.3 Τα φαινορικά συστατικά.....	13
1.3.1 Μη φλαβονοειδείς φαινόλες	14
1.3.2. Φλαβονοειδείς φαινόλες	16
1.4 Ποικιλία Αγιωργίτικο	23
1.5 Ποικιλία Ξινόμαυρο.....	25
1.6 Ποικιλία Μανδηλαριά.....	26
1.7 Ποικιλία Λημνιώννα	28
1.8. Ξεφύλλισμα.....	28
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	31
2.1 Στόχος και σχεδιασμός του πειράματος.....	31
2.2 Δειγματοληψία σταφυλιών	32
2.3 Προσδιορισμός της περιεκτικότητας σακχάρων των σταφυλιών με διαθλασιμετρία.....	32
2.4. Προσδιορισμός ολικής ή ογκομετρούμενης οξύτητας.....	33
2.5. Μέτρηση pH/ ολικής οξύτητας.....	33
2.6. Προετοιμασία δείγματος για εκχύλιση	33
2.7. Εκχύλιση ανθοκυανών από του φλοιούς και προσδιορισμός τους με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)	34
2.7.1. Υλικά	34
2.7.2. Μέθοδος.....	34
2.8. Πρωτόκολλο οινοποίησης	37
2.9. Προσδιορισμός ανθοκυανών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) στους οίνους.....	38
2.10. Προσδιορισμός αλκοολικού τίτλου	38
2.11. Προσδιορισμός ολικής οξύτητας και pH	39
2.12. Προσδιορισμός πτητικής οξύτητας	39
2.13. Προσδιορισμός των αναγόντων σακχάρων.....	40
2.14. Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων	41

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	42
3.1. Επίδραση του ξεφυλλίσματος στα σταφύλια κατά τον τρύγο	42
3.2. Επίδραση του ξεφυλλίσματος στους παραγόμενους οίνους	48
3.3. Συγκεντρώσεις των πέντε κύριων μονομερών ανθοκυανών σε σταφύλια και οίνους	54
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	62
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	64
5.1. Διεθνής βιβλιογραφία.....	64
5.2. Ελληνική Βιβλιογραφία	69

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Μορφολογία της ράγας

Η ράγα, ως ο καρπός της αμπέλου, προέρχεται από ιστούς της ωθήκης και κατόπιν της φυσιολογικής γονιμοποίησης και της καρπόδεσης γίνονται διακριτά τα τρία κύρια μέρη από τα οποία αποτελείται: Ο φλοιός ή περικάρπιο εξωτερικά, το σαρκώδες μέρος προς το εσωτερικό, που αποτελεί το μεσοκάρπιο και το ενδοκάρπιο και τα γίγαρτα που αποτελούν και τα αναπαραγωγικά όργανα και περικλείονται από το ενδοκάρπιο (Ribereau - Gayon et al., 1998).

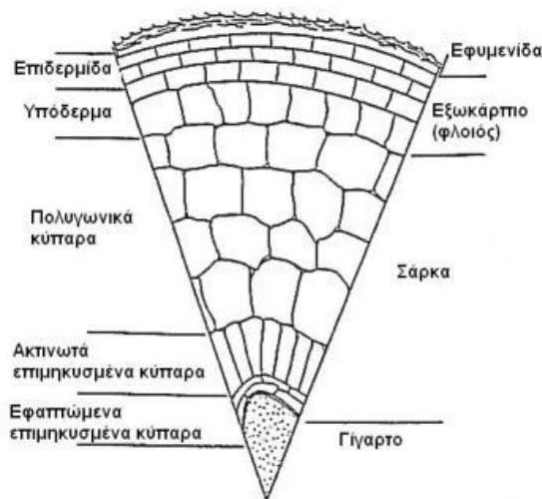
Ο φλοιός αποτελεί περίπου το 10 - 20% του συνόλου της ράγας, καθώς διαφοροποιείται ο όγκος του μεταξύ των ποικιλιών, (Considine & Κnox, 1981) και μπορεί να διακριθεί σε τρία επιμέρους στρώματα από το εξωτερικό προς το εσωτερικό μέρος: την εφυμενίδα, την επιδερμίδα και το υπόδερμα.

Η εφυμενίδα είναι το κηρώδες εξωτερικό περίβλημα, που αποτελείται κυρίως από λιπαρά οξέα (Κουράκου - Δραγώνα, 1998) κι έχει ως κύριο ρόλο την παρεμπόδιση της εισόδου βρόχινου νερού και μικροοργανισμών, όπως ζυμομηκύτων στο εσωτερικό της ράγας. Ταυτόχρονα είναι υπεύθυνη για την συγκράτηση της υγρασίας στο εσωτερικό της ράγας και τον έλεγχο της διαπνοής.

Οι επόμενες μία με δύο στοιβάδες πεπλατυσμένων κυττάρων κάτω από το υπόδερμα συνθέτουν την επιδερμίδα. Σε αυτό συναντάται ένα μεγάλο ποσοστό των πτητικών ουσιών και των πρόδρομων πτητικών ουσιών, που είναι υπεύθυνες για το πρωτογενές άρωμα στον παραγόμενο οίνο. Τα παρακάτω 6 με 10 στρώματα μεγαλύτερων κυττάρων με λεπτά τοιχώματα κάτω από την επιδερμίδα, αποτελούν το υπόδερμα (Νικολάου, 2008). Στο υπόδερμα, κυρίως στην εξωτερική του ζώνη, εντοπίζεται το συντριπτικό ποσοστό των ανθοκυανών ή φλαβονών της ράγας, οι οποίες αποτελούν τις χρωστικές ουσίες που προσδίδουν το χρώμα στις ερυθρές και ερυθρωπές ποικιλίες (Σουφλερός, 2000).

Ακόμη, στον φλοιό, παρόλο που αποτελεί ένα μικρό ποσοστό επί του συνόλου της ράγας, εντοπίζονται κι άλλες φαινολικές ενώσεις και αρωματικές ουσίες, που είναι καθοριστικές για την διαμόρφωση του οργανοληπτικού χαρακτήρα και της ποιότητας των οίνων που θα προκύψουν από την εκάστοτε ποικιλία. (Τσέτουρας, 2009). Έτσι εντοπίζονται ταννίνες σε ποσοστό 1- 2%, μονομερείς κατεχίνες, αδιάλυτες πηκτίνες, κυτταρίνη, ενώσεις πρωτεϊνικής φύσης καθώς και διάφορα οξέα όπως το μηλικό, το κιτρικό και το τρυγικό με την αναλογία τους να διαφοροποιείται κατά την πορεία της ωρίμανσης. Επιπλέον ο φλοιός της ράγας αποτελείται σχεδόν στα $\frac{3}{4}$ του συνολικού του βάρους σε νερό, ενώ η συγκέντρωση των

σακχάρων είναι πολύ μικρή. (Ribereau- Gayon et al., 1998). Από τα παραπάνω προκύπτει και η τεχνολογική σημασία του φλοιού στην οινοποίηση και κυρίως την ερυθρή, όπου το γλεύκος συνυπάρχει με τον φλοιό και εκχυλίζει πληθώρα των συστατικών που περιέχει. Κατ' επέκταση συμπεραίνεται και το ενδιαφέρον για την μελέτη των συστατικών αυτών σε διάφορες ποικιλίες συναρτήσει καλλιεργητικών τεχνικών, όπως το ξεφύλλισμα που θα διερευνηθεί στην παρούσα μελέτη.



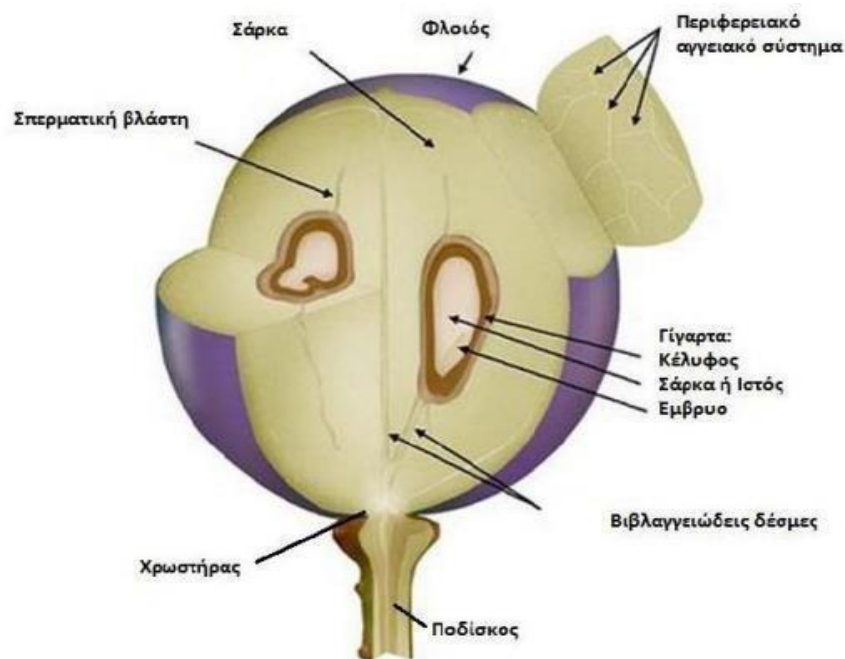
Εικόνα 1. Οι διάφοροι ιστοί της ράγας (Ribereau-Gayon, Glories, Maujean, & Dubourdieu, 2006). Η εικόνα επεξεργάστηκε ηλεκτρονικά και μεταφράστηκε στα ελληνικά

Στη σύνθεση της σάρκας συμμετέχουν μεγάλα πολυγωνικά κύτταρα με πολύ λεπτά και τεταμένα τοιχώματα, ιδίως στις οινοποιήσιμες ποικιλίες αμπέλου, τα οποία διατάσσονται σε 3 ζώνες: από την εξωτερική και την μεσαία ζώνη που αποτελούν το μεσοκάρπιο και την εσωτερική ζώνη ή ενδοκάρπιο που περιβάλλει τα γίγαρτα (Νικολάου, 2008). Η σάρκα της ράγας ουσιαστικά είναι το συστατικό του γλεύκους και η σύστασή τους είναι όμοια. Το 65-80% είναι περιεκτικότητα σε νερό, το 10-30% αποτελούν ζυμώσιμα σάκχαρα ενώ στο 5-6% της σάρκας περιέχονται οργανικά οξέα, αζωτούχες ενώσεις, ανόργανες και πηκτινικές ύλες, αρωματικές ενώσεις (Σουφλερός, 2000, Κουράκου-Δραγώνα, 1998), ενώ σε ορισμένες ποικιλίες, κυρίως ερυθρές, μπορούν να εντοπιστούν φαινολικές ενώσεις μέχρι 1% (Krithika et al., 2015).

Μέσα στον όγκο της ράγας και κυρίως στην σάρκα αναπτύσσεται το αγγειακό σύστημα που την τροφοδοτεί με σάκχαρα από τα φύλλα και νερό και ανόργανα συστατικά από τις ρίζες μέσω των βιβλικών και αγγειακών δεσμών (Κουράκου- Δραγώνα, 1998).

Τα γίγαρτα, όπως αναφέραμε, συνιστούν τα αναπαραγωγικά όργανα της αμπέλου και το βάρος τους αντιστοιχεί στο 3-6% του συνολικού βάρους της ράγας. Θεωρητικά σε κάθε ράγα περιέχονται 4 γίγαρτα, αφού η ωοθήκη προκύπτει από την ένωση δύο καρπόφυλλων, τα οποία περιέχουν δύο σπερμοβλάστες έκαστο. Ωστόσο συχνότερα συναντώνται ράγες με ένα

ως τρία γίγαρτα ή και καθόλου αφού εξαρτάται από την ποικιλία αλλά και τις κλιματολογικές συνθήκες κατά την περίοδο της ανθοφορίας. Όσον αφορά το σχήμα τους, στα γίγαρτα εντοπίζεται το οξύ πάνω μέρος που καλείται ράμφος και το ωοειδές τμήμα (σώμα). Εξωτερικά το γίγαρτο έχει το περισπέρμιο που είναι μαλακό και υδατοδιαπερατό, έπειτα το μεσαίο κέλυφος που είναι σκληρό και αδιαπέραστο στο νερό και περικλείει την σάρκα του γιγάρτου που βρίσκεται το έμβρυο. Στα γίγαρτα περιέχεται το μεγαλύτερο ποσοστό φαινολικών συστατικών, κατά βάση των ερυθρών ποικιλιών (Krithika et al., 2015), όπως συμπυκνωμένες ταννίνες, προανθοκυανιδίνες και κατεχίνες στο κέλυφος, ενώ η σάρκα είναι πλούσια σε έλαια και λιπαρά οξέα 18 ατόμων C. Οι φαινολικές ενώσεις των γιγάρτων χρήζουν ιδιαίτερης προσοχής και μεταχείρισης κατά την οινοποίηση, καθώς η εκχύλιση και η απελευθέρωση των ουσιών αυτών σε μεγάλο βαθμό στον οίνο πιθανώς να προσδώσει κάποια ανεπιθύμητα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, όπως χορτώδεις οσμές (Κοτσερίδης, 2019).



Εικόνα 2. Σχηματική αναπαράσταση μορφολογικής δομής της ράγας (Kennedy, 2008, εικονογράφηση Κουτρομανιδή Ι., Winetitles). Η εικόνα επεξεργάστηκε ηλεκτρονικά και μεταφράστηκε στα ελληνικά

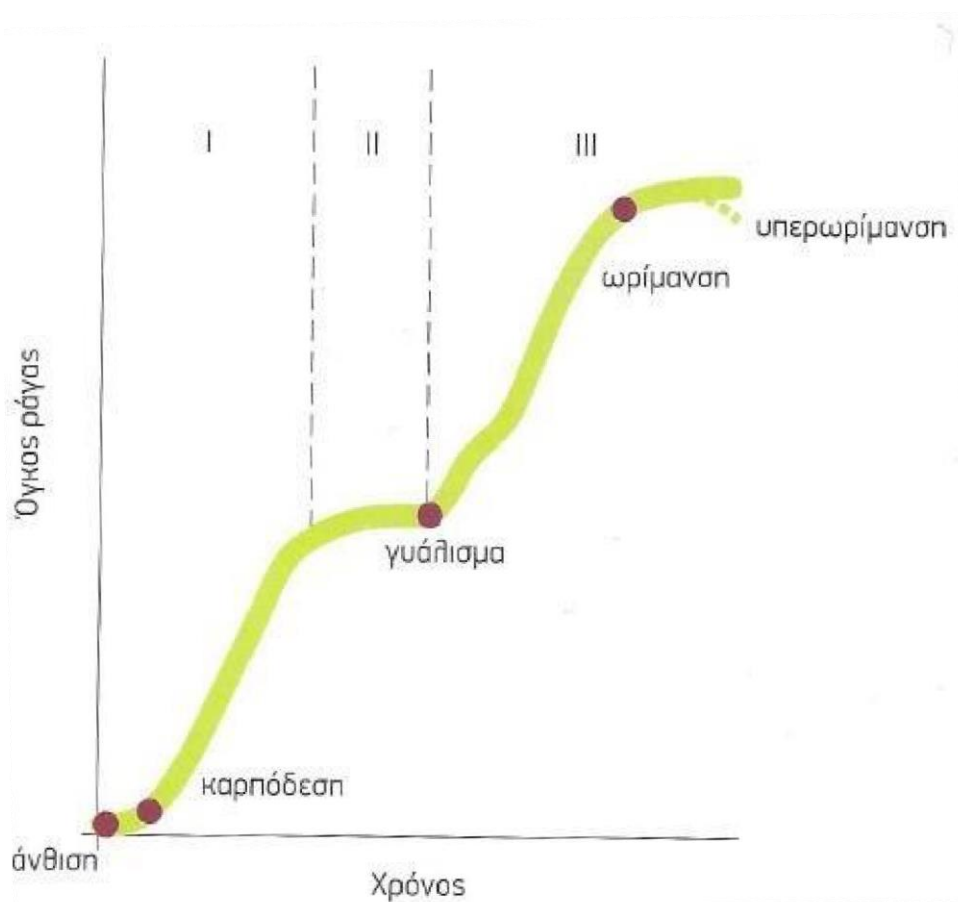
1.2 Στάδια ανάπτυξης και ωρίμανσης της ράγας

Καθοριστικό ρόλο στην ποιότητα και τον χαρακτήρα των σταφυλιών αλλά και των παραγόμενων οίνων παίζει η ανάπτυξη και η ωρίμανση του καρπού (Deytieux et al., 2007). Ύστερα από την καρπόδεση και κατά την ωρίμανση της ράγας συμβαίνουν πολλές και σημαντικές βιοχημικές, μορφολογικές και φυσιολογικές μεταβολές. Οι διάφορες ενώσεις που περιέχονται στη ράγα εξελίσσονται με διαφορετικό τρόπο και επηρεάζονται από πληθώρα

παραγόντων, όπως είναι γενετικοί, εδαφοκλιματικοί καθώς επίσης και από την ανθρώπινη μεταχείριση και τις καλλιεργητικές τεχνικές που εφαρμόζονται (Pérez-Magariño & González-San José, 2006).

Το σταφύλι είναι μη κλιμακτηριακός καρπός (Boss, Davies, & Robinson, 1996), δηλαδή δεν ωριμάζει μετά την αποκοπή του από το πρέμνο και για τον λόγο αυτό η ωρίμανση του σταφυλιού χρήζει ιδιαίτερης και προσεκτικής μελέτης, προκειμένου ο τρύγος να πραγματοποιηθεί την κατάλληλη στιγμή σε κάθε περίπτωση, ανάλογα με την μετασυλλεκτική του διαχείριση.

Έτσι γενικά η ανάπτυξη της ράγας μετά την καρπόδεση ακολουθεί ένα μοντέλο διπλής σιγμοειδούς καμπύλης και διακρίνονται 3 κύριες φάσεις μέχρι την τελική ωρίμανση. Κατά τις φάσεις αυτές, η βιοχημική δραστηριότητα εντός της ράγας διαφοροποιείται σημαντικά (Geny et al., 2003).



Εικόνα 3. Στάδια ανάπτυξης της ράγας (Σταυρακάκης, 2013)

Η πρώτη φάση, η οποία αρχίζει μετά την καρπόδεση και παρατηρείται η ταχεία ανάπτυξη της ράγας, έχει διάρκεια από 45 έως 65 ημέρες, αναλόγως την ποικιλία και τις επικρατούσες περιβαλλοντικές συνθήκες (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Κατά την φάση αυτή, οι ράγες είναι πράσινες, με φλοιό πλούσιο σε χλωροφύλλη, σκληρές και υπάρχει έντονη

κυτταροδιαίρεση σε πρώτο χρόνο και αύξηση του μεγέθους των κυττάρων στη συνέχεια μέχρι και το τέλος της φάσης αυτής. Ο αριθμός και το στάδιο ανάπτυξης των γιγάρτων σχετίζονται θετικά με τη διάρκεια και την ένταση των κυτταροδιαίρεσεων (Σταυρακάκης, 2013). Ακόμη, είναι έντονος ο μεταβολικός ρυθμός και η αναπνευστική δραστηριότητα που εντοπίζεται κυρίως στην σάρκα και τα γίγαρτα με αποτέλεσμα την συσσώρευση οξέων και ταννινών.

Το δεύτερο στάδιο, το οποίο ονομάζεται και περκασμός από τους αμπελουργούς (Coombe, 1992), έχει διάρκεια 7 -10 ημέρες. Παρατηρείται επιβράδυνση της αύξησης της ράγας και μείωση της φωτοσύνθεσης (Κουνδουράς, 2021). Ο φλοιός αρχίζει να αποκτά ένα ανοιχτό ερυθρωπό χρώμα στην περίπτωση των έγχρωμων ποικιλιών αλλά και γυαλιστερή διάφανη όψη στις λευκές ποικιλίες. Στον περκασμό ολοκληρώνεται στις περισσότερες περιπτώσεις και η φυσιολογική ωρίμανση των γιγάρτων (Geny et al., 2003). Επιπλέον στη φάση αυτή εξαντλούνται οι ορμόνες αύξησης (κυτοκινίνες και γιββερελλίνες) και αυξάνεται το αμπισικό οξύ και οι συγκεντρώσεις των οξέων και των ταννινών φτάνουν το μέγιστο στη ράγα (Κουνδουράς, 2021).

Κατά την τελευταία φάση, αυτή της ωρίμανσης, παρατηρείται τάνυση των κυττάρων της ράγας εξαιτίας της συσσώρευσης σακχάρων, κατιόντων και αμινοξέων στα χυμοτόπια και συνοδεύεται από πλήθος φυσιολογικών μεταβολών. Πιο συγκεκριμένα αυξάνει η συγκέντρωση εξόξης σε φλοιό και σάρκα καθώς και κατιόντων καλίου, αμινοξέων και φαινολικών ουσιών συμπεριλαμβανομένων των ανθοκυανών στις ερυθρές ποικιλίες, εξαιτίας της επιβράδυνσης της αναπνοής. Ταυτόχρονα μειώνεται η συγκέντρωση του μηλικού οξέος (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Ο καρπός μαλακώνει στο στάδιο της ωρίμανσης, αφού σύμφωνα με τους Silacci & Morrison (1990) η διαλυτότητα της πηκτίνης στο μεσοκάρπιο των ραγών μετά τον περκασμό αλλάζει, ενώ η κυτταρίνη και οι πολυγαλακτουρονάσες κυριαρχούν στον πολυσακχαρίτη των τοιχωμάτων των κυττάρων του φλοιού και κατά την ωρίμανση του καρπού συμβαίνουν σημαντικές τροποποιήσεις που επιτρέπουν το μαλάκωμά του (Nunan et al., 1998). Το τελικό μέγεθος της ράγας σχετίζεται άμεσα με τις διεργασίες που συμβαίνουν στο στάδιο αυτό.

Η ωριμότητα για το σταφύλι όμως φαίνεται να είναι μια πολυδιάστατη έννοια και προκειμένου να διευκολυνθεί η μελέτη της έχει διακριθεί σε διάφορα είδη: Την φυσιολογική ή βιολογική ωριμότητα, δηλαδή την ικανότητα των γιγάρτων να βλαστήσουν και την διακοπή της τροφοδοσίας της ράγας από το φλοιώμα. Την βιομηχανική ωρίμανση κατά την οποία το σταφύλι έχει το ανώτατη απόλυτη συγκέντρωση σακχάρων και αναφέρεται στο γλεύκος κατά κύριο λόγο. Την τεχνολογική ωρίμανση, η οποία χαρακτηρίζει το σταφύλι μιας συγκεκριμένης ποικιλίας που δίνει γλεύκος, του οποίου η χημική σύσταση είναι η επιθυμητή για τον τύπο

οίνου που πρόκειται να παραχθεί από αυτό. Τέλος διακρίνεται η πολυφαινολική ωρίμανση, όπου γίνεται λόγος τόσο για την ολική συγκέντρωση των πολυφαινολών, όσο και για την δομή και την εκχυλισματικότητα των συστατικών αυτών από τα σταφύλια στον οίνο κατά την αλκοολική ζύμωση.

Έτσι όταν τα σταφύλια φτάσουν στο επιθυμητό στάδιο της ωριμότητας, όπου τα σάκχαρα και τα οξέα βρίσκονται στα βέλτιστα επίπεδα, το άρωμα είναι πλήρες και το χρώμα πλούσιο έρχεται η ώρα του τρυγητού (Herrera, Guesalaga, & Agosin, 2003). Αν ωστόσο τα σταφύλια συνεχίσουν να παραμένουν πάνω στο πρέμνο μετά το στάδιο αυτό, περνάνε στην “υπερωρίμανση”, όπου οι συγκέντρωση των σακχάρων συνεχίζει να αυξάνεται εξαιτίας της σταδιακής αφυδάτωσης του καρπού, τα οξέα να μειώνονται και το σταφύλι τείνει να είναι πιο ευάλωτο σε ασθένειες και παράσιτα κατά την συγκομιδή και την μετασυλλεκτική τους διαχείριση (Νικολάου, 2008).

1.3 Τα φαινολικά συστατικά

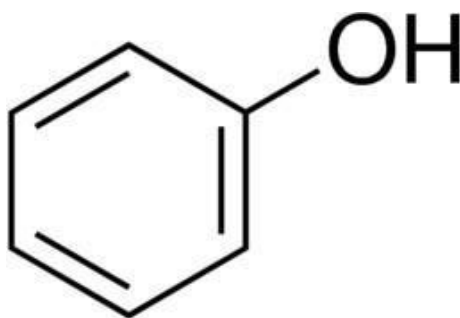
Οι φαινολικές ενώσεις αποτελούν παράγωγα του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών και πιο συγκεκριμένα προκύπτουν από τα βιοχημικά μονοπάτια των φωσφορικών πεντοζών, των φαινυλοπροπαιδίων και του σικιμικού οξέος (Randhir et al, 2004). Εμπλέκονται άμεσα και παίζουν καθοριστικό ρόλο στην μορφολογία αλλά και την φυσιολογία των φυτών. Συμβάλλουν στην προστασία των φυτών έναντι παθογόνων και άλλων φυσικών εχθρών (Bravo, 1998) ενώ ενισχύουν και την αντίστασή τους στην υπεριώδη ακτινοβολία και ενισχύουν την γονιμότητα των γυρεοκόκκων (Koes et al., 1994, Boss et al., 1996). Σύμφωνα με τους Alasalvar et al (2001), οι φαινολικές ενώσεις συμβάλλουν στον καθορισμό του χρώματος και του οργανοληπτικού χαρακτήρα των φρούτων και των λαχανικών. Τα φαινολικά παράγωγα επίσης χαρακτηρίζονται και από μεγάλο φάσμα αντιαλλεργιογόνων, αντιοξειδωτικών και αντιμικροβιακών ιδιοτήτων (Benavente-Garcia et al, 1997).

Γίνεται εύκολα κατανοητό πως η μελέτη τους καθίσταται επιτακτική για την επιστήμη της Οινολογίας, καθώς στις φαινολικές ενώσεις των σταφυλιών οφείλεται κατά κύριο λόγο η διαφοροποίηση που προκύπτει μεταξύ των παραγόμενων οίνων. Αξίζει να αναφερθεί πως για την διαφοροποίηση αυτή παίζει ρόλο εκτός από την παρουσία των ενώσεων, η ποσότητα και η αναλογία τους στο σταφύλι αλλά και το κρασί (Versari et al., 2014). Η σύνθεση των πολυφαινολικών ενώσεων του κρασιού έρχεται σε άμεση συνάρτηση με την ποικιλία του σταφυλιού, την τοποθεσία της αμπέλου, τις κλιματικές αλλά και καλλιεργητικές συνθήκες, τον τύπο του εδάφους, την περίοδο της συγκομιδής, τη διαδικασία παραγωγής και την ωρίμανση της σταφυλής (Rodríguez-Delgado et al., 2002, Obrique-Slier et al., 2010).

Στο σταφύλι οι φαινολικές ενώσεις εντοπίζονται κυρίως στον φλοιό και τα γίγαρτα και κατά την οινοποίηση εκχυλίζονται στο γλεύκος πρωτίστως οι ενώσεις των φλοιών και στην περίπτωση μακράς εκχύλισης και συνοινοποίησης των στεμφύλων παρατηρείται επιπλέον μια πιο αργή εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων που εντοπίζονται και στα γίγαρτα (Casassa et al., 2013a, Casassa et al., 2013b, Harbertson et al., 2009). Επιπλέον, φαινολικές ενώσεις μπορούν να βρεθούν στον οίνο κι από το ξύλο των βαρελιών ενώ σε ένα μικρό βαθμό να συσταθούν κατά των μεταβολισμό των ζυμομυκήτων (Jackson et al., 2008, Jackson et al., 1993).

Εξ ορισμού, οι φαινολικές ενώσεις είναι τα υδροξυλιωμένα παράγωγα των αρωματικών υδρογονανθράκων με ένα ή και περισσότερα υδροξύλια που αντικαθιστούν ισάριθμα υδρογόνα και συνδέονται με τα άτομα άνθρακα του αρωματικού δακτυλίου (Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Οι φαινολικές ενώσεις κατηγοριοποιούνται αναλόγως τον αριθμό των φαινολικών δακτυλίων που περιέχουν αλλά και των δομικών στοιχείων που προσδέονται σε αυτούς (Ribereau - Gayon et al., 1998).

Τα φαινολικά παράγωγα που εντοπίζονται στα σταφύλια και τους οίνους διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: τις φλαβονοειδείς (διφαινυλοπροπανοειδή) και τις μη φλαβονοειδείς φαινόλες (φαινυλοπροπανοειδή). (Gómez-Alonso et al., 2007). Τα φαινολικά συστατικά στους οίνους διακρίνονται σε φαινολικά οξέα (100 mg/L σε ερυθρούς, 10 mg/L σε λευκούς οίνους), φλαβονοειδείς φαινόλες (10 mg/l σε ερυθρούς και σε ελάχιστες ποσότητες σε λευκούς οίνους), ανθοκυάνες (100-700 mg/l για ερυθρούς, δεν απαντούν σε λευκούς οίνους) και τέλος σε ταννίνες (1-4 g/l στους ερυθρούς και 100 mg/l σε λευκούς οίνους) (Τσακίρης, 2014).



Εικόνα 4. Δομή φαινόλης

1.3.1 Μη φλαβονοειδείς φαινόλες

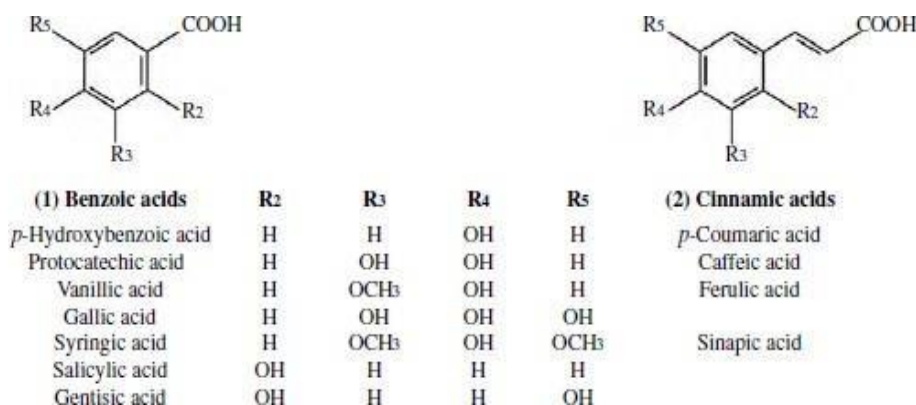
Στην κατηγορία των μη φλαβονοειδών φαινολών ανήκουν μονομοριακά φαινολικά παράγωγα που απαντούν σε φυτικούς ιστούς και φυτικά προϊόντα και χαρακτηρίζονται από τον C6-C3 σκελετό. Βασικές υποκατηγορίες της ομάδας αυτής είναι τα φαινολικά οξέα, παράγωγα του βενζοϊκού (δομή C6-C1) και κινναμωμικού οξέος (δομή C6-C3) (Jackson, 2008) και τα στιλβένια (Obreque-Slier et al., 2010).

1.3.1.1. Τα φαινολικά οξέα

Τα φαινολικά οξέα εντοπίζονται στα χυμοτόπια των κυττάρων του φλοιού και της σάρκας των ραγών ως ετεροζίτες ή ως εστέρες και αποτελούν το κυριότερο φαινολικό συστατικό της σάρκας (Κουράκου -Δραγώνα, 1998, Ribereau- Gayon et al., 2000). Τα φαινολικά οξέα δεν συμβάλλουν στην οινοποιητική τεχνική, παρουσιάζουν ωστόσο ενδιαφέρον για την αντιβακτηριδιακή τους δράση ως παρεμποδιστές ανάπτυξης βακτηρίων, ενώ κάποια από τα παράγωγά τους συνεισφέρουν στο άρωμα του οίνου με τις χαρακτηριστικές τους οσμές, όπως είναι η γουαϊακόλη, η βανιλίνη, η ευγενόλη. κ.ά. Οι ερυθρές ποικιλίες και οίνοι παρουσιάζουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ελεύθερων μορφών ενώσεων αυτής της κατηγορίας συγκριτικά με τις λευκές ποικιλίες και οίνους (Ribereau- Gayon et al., 2000). Κάποια από τα οξέα στα σταφύλια από την ομάδα των υδροξυβενζοϊκών (HBAs) C6-C1 είναι τα *p*-υδροξυβενζοϊκό, γαλλικό, βανιλικό, χλωρογενικό, συριγγικό, σαλικυλικό και πρωτοκατεχινικό οξέα (Silva & Queiroz, 2016). Συναντώνται ως εστέρες των φλαβαν-3-ολών διάσπαρτα σε όλη την ράγα και απελευθερώνονται με αλκαλική υδρόλυση (Adams, 2006, Teixeira et al. 2013) καθώς και ως γλυκοζυλιωμένα παράγωγα που δύναται να απελευθερωθούν με όξινη υδρόλυση. Από τα C6-C3 υδροξυκιναμμωμικά οξέα που εντοπίζονται κυρίως στην σάρκα πιο άφθονα στο σταφύλι και τους οίνους είναι το καφταρικό, το κουμαρικό και το φερουλικό οξύ.

Στους οίνους συναντώνται ως εστέρες του τρυγικού οξέος (Ribereau-Gayon et al., 1999). Η συγκέντρωση των υδροξυκιναμμωμικών οξέων σε ερυθρούς οίνους βρέθηκε να κυμαίνεται από 60 έως 334 mg / L (Cataldo et al., 2019).

Τα φαινολικά οξέα και ιδίως όσα έχουν δύο φαινολικά -OH σε *o*-θέση, όπως το γαλλικό και το καφεϊκό οξύ είναι ιδιαίτερα ευοξειδωτα (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

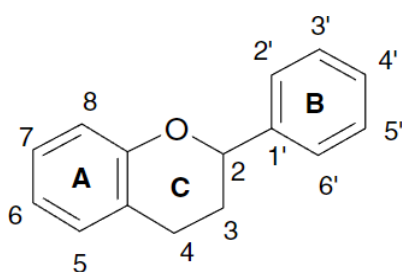


Εικόνα 5. Τα φαινολικά οξέα των σταφυλιών και των οίνων. (Handbook of enology, Volume 2, p.142)

1.3.1.2. Στιλβένια

Τα στιλβένια στην μοριακή τους σύνθεση αποτελούνται από δύο βενζοϊκούς δακτυλίους που συνδέονται με ένα αιθάνιο ή αλυσίδα αιθυλενίου (Νικολάου, 2008). Η πιο διαδεδομένη ένωση αυτής της ομάδας είναι το *trans*-ισομερές της ρεσβερατρόλης και εντοπίζεται άφθονο στο φλοιό των ραγών, ενώ απουσιάζει η βρίσκεται σε ελάχιστη συγκέντρωση στην σάρκα των καρπών (Kallithraka et al., 2001). Η παραγωγή της οφείλεται σε απόκριση του φυτού σε μικροβιακές μολύνσεις, ενώ πληθώρα μελετών εξετάζει την ευεργετικές της ιδιότητες για την υγεία του ανθρώπου (Ribereau - Gayon et al., 2000).

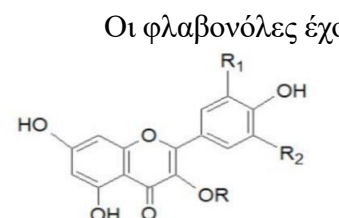
1.3.2. Φλαβονοειδείς φαινόλες



Εικόνα 6. Δομή φλαβονοειδών ενώσεων (www.researchgate.com)

Στις φλαβονοειδείς φαινόλες ανήκουν οι ενώσεις με την χαρακτηριστική ομάδα της φλαβόνης που αποτελείται από 15 άτομα άνθρακα. Δύο βενζολικοί δακτύλιοι A και B συνδέονται με μια αλυσίδα 3 ατόμων άνθρακα που είναι μέρος ενός κεντρικού πυρανικού δακτυλίου C (Ribereau – Gayon et. al., 2006). Στην υποκατάσταση και τον βαθμό οξείδωσης του πυρανικού δακτυλίου οφείλεται το ευρύ φάσμα των ενώσεων στην ομάδα αυτή. Στην κατηγορία των φλαβονοειδών ανήκουν οι φλαβονόλες, οι φλαβανόνες, οι φλαβανονόλες, φλαβανόλες, οι ανθοκυάνες και οι ταννίνες (Moreno-Arribas & Polo, 2009). Οι φλαβονοειδείς ενώσεις βρίσκονται τόσο στον φλοιό, όσο και στην σάρκα και τα γίγαρτα των ραγών (Moreno-Arribas & Polo, 2009) και εντοπίζονται σε μεγαλύτερο βαθμό στους ερυθρούς οίνους σε σχέση με τους λευκούς (Ampous et al., 2001).

1.3.2.1. Φλαβονόλες



Εικόνα 7. Δομή φλαβονόλης (Ribereau- Gayon et al., 2006)

Οι φλαβονόλες έχουν κίτρινο χρώμα εντοπίζονται στο φλοιό της ράγας και κυρίως στο υπόδημα, τα φύλλα, ενώ έχουν βρεθεί και στην σάρκα (Makris et al., 2006b, Teixeira et al., 2013). Στα σταφύλια και το κρασί απαντούν κυρίως γλυκοζυλιωμένες με τα άγλυκα μόρια της κερκετίνης, της μυρικετίνης και της καμφερόλης αντίστοιχα. Στους οίνους ωστόσο δύναται να βρεθούν ελεύθερες και οι άγλυκες μορφές εξαιτίας της υδρόλυσης του γλυκοζιτικού δεσμού κατά την οινοποιητική διαδικασία. Σύμφωνα με τους

Cantos, Espín, & Tomás-Barberán, (2002) αντιστοιχούν περίπου στο 13 - 30 % του φαινολικού δυναμικού στις ερυθρές ποικιλίες.

1.3.2.2. Φλαβονόνες

Οι φλαβονόνες παρουσιάζουν παρόμοια δομή με αυτή των φλαβονολών αλλά δεν αποτελούν φαινολικό συστατικό των σταφυλιών. Μπορεί να εντοπιστεί η παρουσία τους σε οίνους που έχουν παλιώσει σε βαρέλι, καθώς παράγωγά τους απαντούν στο ξύλο της δρυός (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

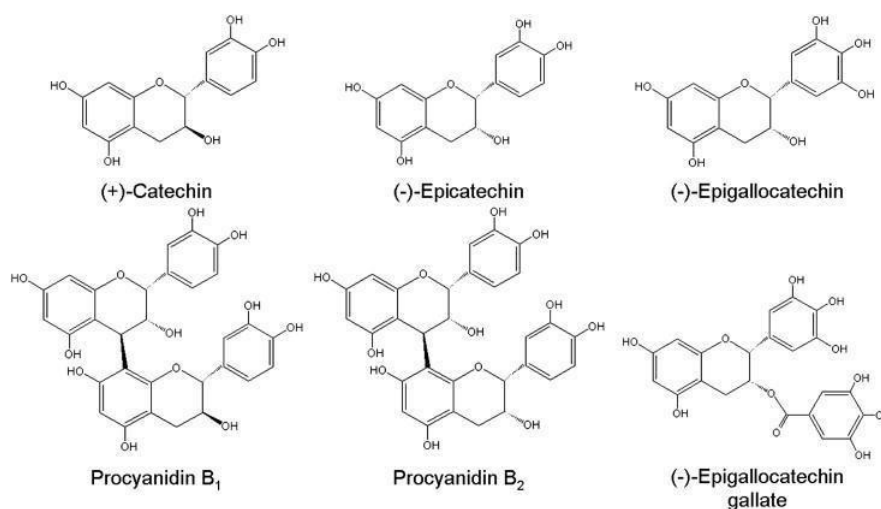
1.3.2.3. Φλαβανονόλες

Οι φλαβανονόλες βρίσκονται ως γλυκοζίτες κυρίως στους βόστρυχες και το γλεύκος των λευκών σταφυλιών με κυριότερη την ταξιφολίνη ή διυδροκερκετίνη (Ribereau – Gayon et. al., 2006).

1.3.2.4. Φλαβανόλες

Οι φλαβαν-3-όλες είναι μια ομάδα φλαβονοειδών με ιδιαίτερη σημασία για τον σταφύλι αλλά και τον χαρακτήρα του παραγόμενου οίνου, αφού αποτελεί την κατηγορία φαινολικών ενώσεων με την μεγαλύτερη συγκέντρωση στην ράγα. Εντοπίζονται κατά κύριο λόγο στα γίγαρτα και σε μικρότερο ποσοστό στον φλοιό και τους βόστρυχες (Chira et al, 2009, Prieur et al., 1994). Τα μόρια των φλαβανολών διακρίνονται σε μονομερή, ολιγομερή και πολυμερή. Τα κύρια μονομερή είναι η (+) κατεχίνη και το ισομερές της, (-) επικατεχίνη και απαντούν σε μεγαλύτερο ποσοστό στις ράγες και τον οίνο, ενώ σε μικρότερες συγκεντρώσεις βρίσκονται ο γαλλικός εστέρας της (-) επικατεχίνης και η (-) επιγαλλοκατεχίνη (Ćurko et al., 2014). Στους λευκούς οίνους η συγκέντρωσή τους είναι μεταξύ 10-50 mg/l, ενώ στους ερυθρούς οίνους φτάνει έως 200 mg/l (Zoecklein et al., 1995). Κατά την ωρίμανση η πλειοψηφία των φλαβ-3-ολών συναντώνται κατά κύριο λόγο σε ολιγομερή και πολυμερή μορφή (Prieur et al., 1994). Τα ολιγομερή και τα πολυμερή των φλαβ-3-ολών ονομάζονται αλλιώς και προανθοκυανιδίνες ή συμπυκνωμένες ταννίνες και συνδέονται με 4-8 και 4-6 δεσμούς C (Fujimaki et al., 2018). Ο βαθμός πολυμερισμού ποικίλλει, καθώς συναντώνται από διμερή μόρια έως και πολυμερή με πάνω από 40 μονάδες (Downey et al., 2003, Kennedy et al., 2001). Κατά την θέρμανση των προανθοκυανιδινών σε όξινο περιβάλλον προκύπτει ο σχηματισμός ανθοκυανιδινών. Είναι γνωστές δύο κατηγορίες προανθοκυανιδινών, οι προκυανιδίνες και οι προδελφινιδίνες που υδρολύονται προς Κυανιδίνη και Δελφινιδίνη αντίστοιχα και εντοπίζονται κυρίως στα γίγαρτα αλλά και τον φλοιό και τους βόστρυχους. Η σύνθεση

των προανθοκυανιδινών ξεκινάει πριν από τον περκασμό του σταφυλιού και εξελίσσεται αναλόγως τον τύπο τους ως την ωρίμανση (Downey et al., 2003, Ollé et al., 2011).



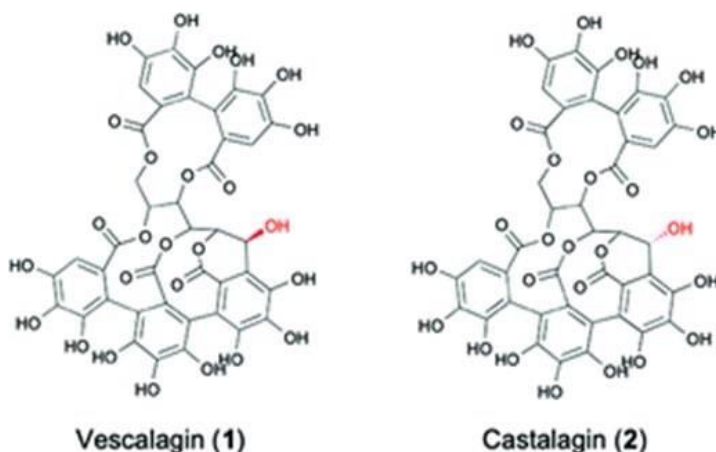
Εικόνα 8. Φλαβανόλες (Ribereau – Gayon et al., 2006)

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως η ομάδα αυτών των ενώσεων επηρεάζει άμεσα τα χαρακτηριστικά του παραγόμενου οίνου, αφού συμβάλλουν στην πικράδα και την στυπτικότητα του κρασιού ενώ συμμετέχουν και στη σταθεροποίηση του χρώματος του οίνου (Kallithraka et al., 1998, Lorrain et al., 2011) Στην προδελφινιδίνη των φλοιών παρατηρήθηκε υψηλότερος βαθμός πολυμερισμού και μικρότερη συμμετοχή γαλλικών εστέρων (Chira et al., 2009, Des Gachons & Kennedy, 2003).

1.3.2.5. Ταννίνες

Οι ταννίνες αποτελούν πολυφαινολικές ενώσεις που δομούνται από μονομερή φλαβαν-3-ολών και προανθοκυανιδίνες που εντοπίζονται στα γίγαρτα τους φλοιούς και τους μίσχους των σταφυλιών. Χαρακτηρίζονται από την ιδιότητα να συμπλοκοποιούνται με πρωτεΐνες, δημιουργώντας συσσωματώματα υψηλού μοριακού βάρους που καθιζάνουν. Αυτό συμβαίνει κι όταν έρχονται σε επαφή με τις γλυκοπρωτεΐνες του σιελού, με αποτέλεσμα να χάνουν την λιπαντική του ιδιότητα και να γίνεται αντιληπτή η αίσθηση της στυπτικότητας στην στοματική κοιλότητα (Ribereau – Gayon et al., 2006). Γίνεται αντιληπτό πως οι ταννίνες παίζουν καθοριστικό ρόλο στον οργανοληπτικό χαρακτήρα των οίνων και κυρίως των ερυθρών, καθορίζοντας την στυπτικότητα τους και την πικράδα τους (Kallithraka, et.al., 2011). Οι ταννίνες επίσης μέσω την άμεσης οξείδωσής τους προσφέρουν αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή προστασία ενώ συμμετέχουν και στην σταθεροποίηση του χρώματος μέσω ενώσεων που σχηματίζουν με τις ανθοκυάνες (Kallithraka et al., 1998, Lorrain et al., 2011). Στη φύση συναντώνται δύο κύριες

κατηγορίες ταννινών, ανάλογα με την δομή των μακρομορίων, οι συμπυκνωμένες ταννίνες που έχουν προαναφερθεί, και οι υδρολυόμενες ταννίνες.



Εικόνα 9. Δομή Βεσκαλαγίνης και Κασταλαγίνης (Ribereau – Gayon et al., 2006)

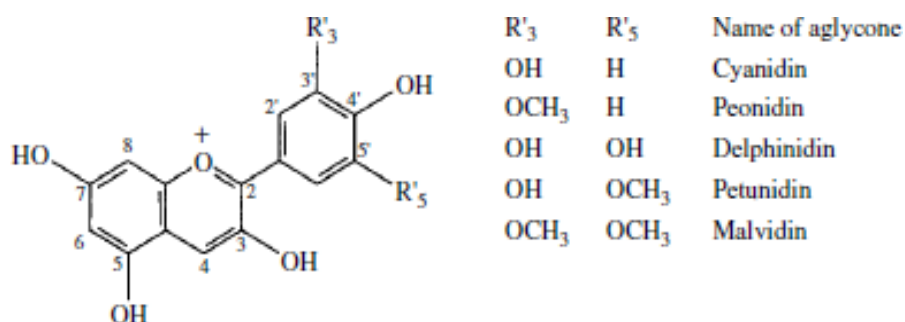
Η δομή των υδρολυόμενων ταννινών αποτελείται από ένα μόριο σακχάρου, από το οποίο πολλά -OH είναι εστεροποιημένα με φαινολικά οξέα και κατά κύριο λόγο με το γαλλικό και το ελαγικό οξύ (Khanbabaee & Van Ree, 2001) από όπου προκύπτουν και οι επικρατούσες ονομασίες των ταννινών αυτών, ως ελλαγικές ταννίνες και γαλλοταννίνες. Οι ταννίνες της κατηγορίας αυτής είναι υδατοδιαλυτές και παρουσιάζουν γρήγορη καθίζηση σε αλκοολούχα μέσα. Οι υδρολυόμενες ταννίνες δεν εντοπίζονται φυσικώς στο σταφύλι, αλλά μπορούν να εντοπιστούν στον οίνο, προερχόμενες από το ξύλο της δρυός των βαρελιών καθώς και από τις κύριες εμπορικές ταννίνες που χρησιμοποιούνται κατά την οινοποίηση (Ribereau – Gayon et al., 2006). Κυριότερες ελλαγικές ταννίνες είναι η Βεσκαλαγίνη και η Κασταλαγίνη (Εικόνα 9) και φαίνεται να δίνουν πιο έντονα την αίσθηση της στυπτικότητας σε σχέση με τις γαλλικές, των οποίων η παρουσία φαίνεται να δίνει πιο πικρή και όξινη αίσθηση (Κοτσερίδης, 2022).

Οι συμπυκνωμένες ταννίνες των σταφυλιών, ως μεγάλα πολυμερή των φλαβ-3-ολών, έχουν ως βασικές μονάδες την (+) -κατεχίνη και την (-)- επικατεχίνη. Οι ταννίνες που βρίσκονται στον φλοιό του σταφυλιού διαφέρουν σε σχέση με αυτές που βρίσκονται στα γίγαρτα και με αυτές ακόμη των βοστρύχων ως προς την δομή τους, τον βαθμό πολυμερισμού τους αλλά κι ως προς τους υποκαταστάτες τους, γεγονός που επηρεάζει άμεσα την σύνδεση των πρωτεϊνών και την δραστηκότητα των προανθοκυανιδινών (Rinaldi et al., 2014).

1.3.2.6. Ανθοκυάνες

Οι ανθοκυάνες αποτελούν τις χρωστικές ενώσεις του σταφυλιού στις οποίες οφείλεται η χρωματική ποικιλομορφία μεταξύ των σταφυλιών και των οίνων που υπάρχουν. Συντίθενται κατά τον περκασμό και αποκτούν την μέγιστη συγκέντρωση στο σταφύλι στην περίοδο της συγκομιδής, μεταβάλλοντας το χρώμα της ράγας από πράσινο σε ερυθρό (Cacho et al., 1992, Ojeda et al., 2002, Zarrouk et al., 2012). Εντοπίζονται κυρίως στον φλοιό των ερυθρών ποικιλιών και πιο συγκεκριμένα στα χυμοτόπια της πρώτης στοιβάδας του υποδέρματος του φλοιού και δύναται να φτάσουν σε ελάχιστες ποσότητες ως την έκτη υποδερμική στοιβάδα (Mazza, 1995). Υπάρχει ωστόσο περίπτωση να εντοπιστεί χρώμα και στην σάρκα των σταφυλιών ορισμένων σταφυλιών που καλούνται και ως βαφικές ποικιλίες με χαρακτηριστικό παράδειγμα την *Alicante bouchet*, ενώ στο στάδιο της υπερωρίμανσης μπορεί να παρατηρηθεί λύση των κυττάρων και διάχυση ανθοκυανών προς το κέντρο της ράγας. Τέλος, ανθοκυάνες μπορούν να υπάρξουν και στα φύλλα μετά τον τρύγο και πριν αποκοπούν από τα πρέμνα. Στις περισσότερες λευκές ποικιλίες οι ανθοκυάνες λείπουν τελείως (*Sauvignon blanc*), ενώ μπορεί να εντοπιστούν σε ίχνη σε μερικές (*Ugni blanc*) (Ribéreau-Gayon et al., 2000).

Οι ανθοκυάνες ουσιαστικά είναι γλυκοζυλιωμένες ενώσεις των ανθοκυανιδινών, που αποτελούν την άγλυκη μορφή. Οι ανθοκυανιδίνες έχουν την βασική χημική δομή του φλαβυλίου με σκελετό C6-C3-C6. Αποτελείται από 2 βενζοϊκούς δακτυλίους (Α και Β) που ενώνονται με έναν ακόρεστο κατιονικό ετεροκυκλικό δακτύλιο οξυγόνου (C). Οι θέσεις 5' και 7' του δακτυλίου Α είναι πάντα συνδεδεμένες 2 -OH και στην θέση 4' του δακτυλίου Β 1 -OH. Στα σταφύλια και τους οίνους έχουν εντοπιστεί μέχρι στιγμής 5 μόρια ανθοκυανιδινών που η διαφοροποίησή τους οφείλεται στους διαφορετικούς υποκαταστάτες R3 και R5 που συνδέονται στις θέσεις 3' και 5', όπως φαίνεται στην Εικόνα 11.



Εικόνα 11. Δομή των μονομερών ανθοκυανών που συναντώνται στα σταφύλια και τους οίνους (Ribereau – Gayon et al., 2006)

Αυτές είναι η η Κυανιδίνη (3,5,7,3',4'-πενταϋδροξυφλαβίλιο), η Δελφινιδίνη (3,5,7,3',4', 5'-εξαϋδροξυφλαβίλιο), η Παιονιδίνη (3,5,7,4'-τετραϋδροξυ-3'-μεθοξυφλαβίλιο), η

Πετουνιδίνη (3,5,7,3', 4'-πενταϋδροξυ-5'-μεθοξυ-φλαβύλιο) και η Μαλβιδίνη (3,5,7,4'-τετρα-ϋδροξυ-3', 5'-διμεθοξυφλαβίλιο). Η Μαλβιδίνη φαίνεται να είναι η επικρατέστερη ανθοκυάνη των ερυθρών ποικιλιών με ποσοστό 50%-90% (Holton, 1995). Τα μόρια αυτά είναι πολύ σταθερότερα ως γλυκοζίτες (ανθοκυάνες) με τον γλυκοζιτικό δεσμό να σχηματίζεται στην θέση 3', συγκριτικά με την άγλυκη μορφή τους (ανθοκυανίνες). Στα σταφύλια του είδους *Vitis Vinifera* έχουν εντοπιστεί μέχρι στιγμής μονογλυκοζίτες και αλκυλιωμένοι μονογλυκοζίτες ανθοκυανών, ενώ στα είδη *Vitis ruparia* και *Vitis rupestris*, συναντώνται και διγλυκοζίτες. Η παραπάνω διαπίστωση αποτελεί και μια καλή ένδειξη της προέλευσης της ποικιλίας. Σύμφωνα με τον Σταυρακάκη (2013), από τις ελληνικές ποικιλίες μόνο στην ποικιλία Κολλιανίτικο έχουν εντοπιστεί διγλυκοζίτες.

Η ποικιλία, οι εδαφοκλιματικές συνθήκες ανάπτυξης της αμπέλου, το στάδιο ωρίμανσης, οι αμπελοκομικές τεχνικές αποτελούν κάποιους από τους παράγοντες που επηρεάζουν τη σύνθεση και την αναλογία των ανθοκυανών των διάφορων κόκκινων ποικιλιών του *Vitis vinifera* (Mazza, 1995). Πολλοί ερευνητές, όπως ο Gómez - Ariza et al., 2006 και ο Makris et al., 2006, χρησιμοποίησαν το ανθοκυανικό προφίλ των σταφυλιών για διαχωρισμό και ταξινόμηση ποικιλιών *Vitis vinifera*. Ταυτόχρονα, οι κλιματικές συνθήκες και κυρίως η θερμοκρασία είναι καταλυτικός παράγοντας στην βιοσύνθεση των ανθοκυανών (Mori, et al, 2007). Παρατηρήθηκε ότι σε περιοχές με υψηλή θερμοκρασία η συσσώρευση ανθοκυανών σταματάει, καθώς καταστέλλονται και τα γονίδια που ευθύνονται για την βιοσύνθεσή τους (Mori et al., 2005b, Yamane et al., 2006).

Το χρώμα και η ποιότητα των παραγόμενων οίνων είναι άμεση απόρροια του ανθοκυανικού προφίλ των σταφυλιών, που επηρεάζουν την απόχρωση αλλά και την σταθερότητα του χρώματος. Στην περίπτωση που τα μόρια έχουν αυξημένο αριθμό ελεύθερων -OH αυξάνεται το κυανό -μοβ χρώμα, ενώ με την αύξηση της μεθυλίωσης των μορίων, ενισχύεται και η ερυθρότητα των μορίων (Jackson, 2008). Επίσης τα μόρια που έχουν -OH σε ο-θέση, όπως είναι η Κυανιδίνη και η Δελφινιδίνη είναι ασταθή και τείνουν να μεθυλιώνονται προς σταθερότερες ανθοκυάνες κατά την ωρίμανση του κρασιού, όπως είναι η Παιονιδίνη και η Μαλβιδίνη. Η χρωματική ένταση ωστόσο του οίνου εξαρτάται, πέρα από τη συγκέντρωση και τη σύνθεση των ανθοκυανών και από το υπόλοιπο περιβάλλον του. Το pH, η παρουσία οξυγόνου, η ύπαρξη ασκορβικού οξέος καιθειώδους ανυδρίτη αλλά και μετάλλων είναι ικανοί να μετατρέψουν τις ανθοκυάνες σε άχρωμα μόρια, να τους προσδώσουν μεγαλύτερη ένταση ή και να αλλάξουν συνολικά την απόχρωση του οίνου (Castañeda - Ovando et al., 2009). Οι ανθοκυάνες τείνουν να

συνδέονται με ταννίνες και άλλα μόρια προς τον σχηματισμό σταθερότερων μορίων. Το φαινόμενο αυτό καλείται ως συγχρωματισμός των ανθοκυανών, έχει μεγάλη σημασία, αφού φαίνεται να είναι ο βασικός μηχανισμός που σταθεροποιεί το χρώμα στον οίνο, που αποτελεί κύριο χαρακτηριστικό της ποιότητάς του (Eiro & Heinonen, 2002). Στην περίπτωση που τα μόρια αυτά που προκύπτουν από την ένωση με τις ταννίνες έχουν μικρό μοριακό βάρος, αναφερόμαστε σε συμπυκνωμένες ανθοκυάνες που συνεχίζουν να είναι έγχρωμες, ενώ τα μεγαλύτερα μοριακού βάρους μόρια αποτελούν συμπυκνωμένες ταννίνες και χάνουν το χρώμα των ανθοκυανών (Κουράκου - Δραγώνα, 1998). Ακόμη οι ανθοκυάνες βρίσκονται σε διάφορες μορφές μέσα σε κάποιο διάλυμα και το pH καθορίζει ποια μορφή θα είναι κυρίαρχη. Πιο συγκεκριμένα για $pH < 2$ επικρατεί το κατιόν του φλαβυλίου που έχει ερυθρό χρώμα. Σε pH με τιμές μεταξύ 2 και 4 επικρατέστερη είναι η άνυδρη βάση της κινόνης με μπλε χρώμα, ενώ σε $pH > 5$ και $pH < 6$ συναντώνται οι άχρωμες ψευδοβάσεις της καρβινόλης και κάποιες χαλκόνες, που έχουν ανοιχτό κίτρινο χρώμα. Σε μεγαλύτερες τιμές pH από 6 γίνεται αποικοδόμηση των ανθοκυανών (Καλλίθρακα, 2021). Στις τιμές pH που συναντάμε στους οίνους συνυπάρχουν σε ισορροπία οι τέσσερις μορφές ανθοκυανών που προαναφέρθηκαν και δίνουν τελικά την απόχρωση στον εκάστοτε οίνο.

1.4 Ποικιλία Αγιωργίτικο



Εικόνα 12. Χαρακτηριστικός βότρυς Αγιωργίτικου

Το Αγιωργίτικο (*Vitis vinifera* L.) αποτελεί μία από τις πιο δημοφιλείς γηγενείς ερυθρές οινοποιήσιμες ποικιλίες και καλλιεργείται κατά κύριο λόγο στην ευρύτερη περιοχή της Νεμέας της ΠΕ Κορινθίας, καταλαμβάνοντας περισσότερο από το 80% των καλλιεργούμενων αμπελώνων, και δύναται να παραχθούν ερυθρά κρασιά που να φέρουν την ένδειξη Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης (ΠΟΠ) Νεμέα. Σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία συνίσταται η καλλιέργειά της στα αμπελουργικά διαμερίσματα της Πελοποννήσου, της ΝΑ Αττικής και στις ΠΕ Αιτωλοακαρνανίας, Βοιωτίας και Εύβοιας

ενώ επιτρέπεται στις ΠΕ Δράμας, Πέλλας και Πιερίας. Η ποικιλία καλείται και ως “Μαύρο Νεμέας”, “Μαύρο”, “Μαυράκι” και “Μαυρούδι”. Δεν θα πρέπει ωστόσο να συγχέεται με άλλες ποικιλίες που φέρουν το όνομα “μαυρούδι” κι έχει αποδειχθεί ότι διαφέρουν βιοχημικά (Σταύρακας, 2011).

Πρόκειται για μια μέτρια ζωνρή ποικιλία, εύρωστη και παραγωγική, όψιμης ωρίμανσης. Στο Αγιωργίτικο, σύμφωνα με τον Σταυρακάκη (2010), ο τυφλός οφθαλμός είναι γόνιμος και ο καρποφόρος βλαστός φέρει 2 σταφυλές, συνήθως στον τέταρτο και πέμπτο κόμβο, ενώ κάποιες φορές από τον δεύτερο έως τον έκτο κόμβο, εμφανίζονται 3 με 4 σταφυλές. Οι αμπελώνες των τελευταίων χρόνων μορφώνονται σε γραμμικά σχήματα (αμφίπλευρο Royat) με 6 έως 8 βραχίονες και το κλάδεμα καρποφορίας είναι βραχύ, με μία κεφαλή με 1-2 οφθαλμούς ανά βραχίονα. Το Αγιωργίτικο ευδοκίμει σε διάφορους τύπους εδαφών, ωστόσο δίνει προϊόντα υψηλής ποιότητας σε περιοχές με μέσης σύστασης, γόνιμα εδάφη, πλούσια σε χαλκό και σε μέτριο υψόμετρο (>300μ.), καθώς εξασφαλίζεται η ευρωστία του πρέμνου και η βραδεία επιθυμητή ωρίμανση των σταφυλιών (Σταυρακάκης, 2010).

Η ποικιλία φαίνεται να είναι ευαίσθητη στο ωίδιο και τις ιώσεις και μέτρια ευαίσθητη στον περονόσπορο, Ακόμη παρουσιάζει ευαισθησία στην ξηρασία και τον παγετό. Η υδατική καταπόνηση των πρέμνων θα πρέπει να είναι ήπια και ελεγχόμενη για την βελτίωση των φυσιολογικών λειτουργιών. Σε ζωνρά πρέμνα, κατά την άνοιξη παρουσιάζονται προβλήματα στην άνθηση και την καρπόδεση που μπορεί να οδηγήσουν σε μικρορραγία και ανώριμο φορτίο. (Σταυρακάκης, 2010). Ο εμβολιασμός της ποικιλίας γίνεται συνήθως στα υποκείμενα 110P, 41B, 1103P και 140R. Η μέση στρεμματική απόδοση της ποικιλίας υπολογίζεται 1000- 1200 kg/ στρέμμα.

Το γλεύκος των τεχνολογικά ώριμων σταφυλιών του Αγιωργίτικου χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα (220-240 g/L), χαμηλή οξύτητα (4,4-4,6 g τρυγικού οξέος/L) και pH 3.4-3.8. Ακόμη σύμφωνα με τους Χαρβαλιά και Μπένα-Τζούρου (1981), πρόκειται για μία από τις πλουσιότερες ελληνικές ποικιλίες σε ανθοκυάνες (900-1000 mg/kg ραγών) και ολικές φαινόλες (2.400-2.500 mg/kg ραγών). Οι παραγόμενοι οίνοι από το Αγιωργίτικο φαίνεται να έχουν βαθύ πλούσιο πορφυρό χρώμα (Koundouras et al., 2006) και ήπια στυπτικότητα (Kallithraka et al., 2011). Η περιεκτικότητα των οίνων βέβαια σε φαινολικά συστατικά καθορίζεται έντονα και από τον εκάστοτε κλώνο, τις καλλιεργητικές επεμβάσεις και τις εδαφοκλιματικές συνθήκες σε κάθε περίπτωση. Πρόκειται για μια “πολυδυναμική ποικιλία” που οι διάφοροι

προαναφερθέντες παράγοντες προκαλούν παραγωγή σταφυλιών με διαφοροποιημένα χαρακτηριστικά, άρα και διαφοροποιημένους οίνους.

1.5 Ποικιλία Ξινόμαυρο



Εικόνα 13. Τυπικός βότρυς Ξινόμαυρου (cantina.protothema.gr)

Το Ξινόμαυρο αποτελεί μία ακόμη γνωστή, τόσο στην Ελλάδα, όσο και το εξωτερικό, γηγενή ερυθρή οινοποιήσιμη ποικιλία. Καλλιεργείται κατά κύριο λόγο στην κεντρική και δυτική Μακεδονία και συγκεκριμένα στις περιοχές της Νάουσας, της Γουμένισσας, του Αμυνταίου, της Σιάτιστας και της Ραψάνης καταλαμβάνοντας περίπου 18.000 στρέμματα με τα περισσότερα να βρίσκονται σε Νάουσα και Αμύνταιο (Σταυρακάκης, 2004). Το Ξινόμαυρο συμμετέχει εν μέρει ή καθ' ολοκληρία στους Προστατευόμενους Οίνους Προέλευσης (ΠΟΠ) της Νάουσας, του Αμυνταίου, της Ραψάνης και της Γουμένισσας.

Ως ποικιλία, το Ξινόμαυρο είναι ζωνρή και γόνιμη. Ο κάθε καρποφόρος βλαστός φέρει συνήθως 2 σταφυλές. Κάποιες δεκαετίες πριν η ποικιλία καλλιεργούνταν σε “κύπελλα”, πλέον ωστόσο κυριαρχεί το αμφίπλευρο γραμμικό σύστημα διαμόρφωσης (Royat) και κλαδεύεται στα 2 μάτια (Νικολάου, 2012). Το Ξινόμαυρο δεν είναι ιδιαίτερα ανθεκτικό στα ξηρά κλίματα και την έντονη υδατική καταπόνηση. Οι αποδόσεις και η ποιότητα των σταφυλιών είναι ικανοποιητική σε μέσης σύστασης και γονιμότητας εδάφη με καλή αποστράγγιση που προσφέρουν ομαλή άρδευση των αμπελώνων. Προτιμάται η σχετικά υψηλή πυκνότητα φύτευσης με περίπου 400-500 φυτά/στρέμμα (Σταυρακάκης, 2004). Τα πρέμνα καθίστανται ευάλωτα στον βοτρύτη, ιδιαίτερα κατά την περίοδο της ωρίμανσης των σταφυλιών, καθώς οι βροχοπτώσεις είναι αυξημένες εκείνη την περίοδο στις περιοχές που καλλιεργείται το Ξινόμαυρο και ταυτόχρονα το σταφύλι παρουσιάζει μεγάλη πυκνότητα. (Νικολάου, 2012). Στο Ξινόμαυρο είναι ιδιαίτερα εμφανής η πενία σε

κάλιο τόσο στα φύλλα, όσο και στον παραγόμενο οίνο που πιθανώς χαρακτηρίζεται από υψηλή οξύτητα. (Ταβερναράκη, κ.ά., 1998). Πρόκειται για μια όψιμη ποικιλία, η βλάστηση της ξεκινάει περίπου τις πρώτες δύο εβδομάδες του Απριλίου και τα σταφύλια φτάνουν σε ικανοποιητικό φυσιολογικό και φαινολικό επίπεδο ωριμότητας στο δεύτερο δεκαπενθήμερο του Σεπτεμβρίου. Αυτό ωστόσο δεν μπορεί να είναι απόλυτο, καθώς εξαρτάται από τις ιδιαίτερες εδαφοκλιματικές συνθήκες που βρίσκεται ο κάθε αμπελώνας (Σπινθηροπούλου, 2000).

Το παραγόμενο γλεύκος από το Ξινόμαυρο χαρακτηρίζεται από υψηλή ολική οξύτητα, που λαμβάνει τιμές από 7,0 έως και 10 g τρυγικού οξέος/L, το pH του υπολογίζεται συνήθως 3,2 – 3,4 και η περιεκτικότητα των ώριμων σταφυλιών σε σάκχαρα κυμαίνεται μεταξύ 210-230 g/L. Το Ξινόμαυρο είναι σχετικά φτωχή ποικιλία σε ανθοκυάνες (320-380 mg/kg ραγών, ενώ τα ολικά φαινολικά εντοπίζονται σε συγκέντρωση 1500-1600 mg/ kg ραγών (Σταυρακάκης, 2010).

Τα προϊόντα της εν λόγω ποικιλίας ανήκουν σε ένα μεγάλο ποικιλιακό εύρος και κατ' επέκταση μπορούν να παραχθούν πολλοί και διαφορετικοί οίνοι με ιδιαίτερο και πλούσιο οργανοληπτικό χαρακτήρα, ανάλογα με το έδαφος, το υψόμετρο και τις ιδιαίτερες κλιματικές συνθήκες που καλλιεργείται το κάθε αμπελοτεμάχιο. Από φτωχά και άγονα εδάφη και πρέμνα χαμηλών αποδόσεων παράγονται ερυθροί οίνοι με συμπυκνωμένο φαινολικό και αρωματικό χαρακτήρα, υψηλής έντασης χρώμα, μεγάλη περιεκτικότητα σε αλκοόλ και ισορροπημένη οξύτητα. Από την άλλη τα καλλιεργούμενα αμπελοτεμάχια σε μεγάλα υψόμετρα και πλούσια εδάφη δίνουν σταφύλια κατάλληλα για Blanc de noir και ροζέ οίνους με υψηλή οξύτητα (Σπινθηροπούλου, 2000).

1.6 Ποικιλία Μανδηλαριά

Η Μανδηλαριά αποτελεί μία από τις πιο βαθύχρωμες ελληνικές ποικιλίες, διαδεδομένη στα νησιά του Αιγαίου και την Κρήτη. Συναντάται βιβλιογραφικά επίσης ως Κουντούρα μαύρη, Δούμπαινα και Βάφτρα. Η καλλιέργειά της συνίσταται για τα αμπελουργικά διαμερίσματα των Δωδεκανήσων, των Κυκλάδων, της Κρήτης, της Αττικής, της Εύβοιας, της Μαγνησίας, της Λακωνίας και της Λέσβου και επιτρέπεται για τις ΠΕ Χίου, Σάμου και Μεσσηνίας. Συμμετέχει στους ερυθρούς οίνους Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (ΠΟΠ) Πεζά, Αρχάνες, Πάρος και είναι αποκλειστικά υπεύθυνη για το ΠΟΠ Ρόδος.



Εικόνα 14. Βότρυς από τον πειραματικό αμπελώνα.

Χαρακτηριστικό της ποικιλίας είναι το μεγάλο μέγεθος σταφυλής αλλά και ράγας. Ο φλοιός είναι παχύς και πλούσιος σε ταννίνες και ανθοκυάνες. Η βλάστηση της Μανδηλαριάς ξεκινά προς το τέλος του Μαρτίου, τέλος Μαΐου έχει ολοκληρωθεί και η άνθιση, ενώ η ικανοποιητική ωρίμανση της σταφυλής συμβαίνει μετά το δεύτερο μισό του Σεπτεμβρίου. Η ποικιλία αυτή είναι πολύ ζωηρή και εύρωστη, με υψηλή παραγωγικότητα και είναι σχετικά όψιμη. Ένας καρποφόρος φέρει δύο σταφυλές κατά κανόνα στον τρίτο και τέταρτο κόμβο, ενώ οι οφθαλμοί στην βάση της κληματίδας και οι ταχυφυείς οφθαλμοί δεν είναι γόνιμοι. Η Μανδηλαριά διαμορφώνεται τόσο σε χαμηλά κύπελλα, αλλά και σε γραμμικά συστήματα διαμόρφωσης, είτε αμφίπλευρα είτε μονόπλευρα (Royat). Το κλάδεμα που δέχεται είναι βραχύ, ωστόσο απαιτεί προσοχή για την αποφυγή χαμηλής παραγωγής, εξαιτίας των λίγων λανθανόντων οφθαλμών. Παρουσιάζει συμβατότητα με τα περισσότερα υποκείμενα, χωρίς πρόβλημα. Ως ποικιλία είναι ανθεκτική στην ξηρασία και έχει ικανοποιητική παραγωγή σε θερμές περιοχές με ελαφρά και μέσης σύστασης εδάφη. Σε υψηλότερο υψόμετρο και πιο γόνιμα εδάφη απαιτεί σωστή διαχείριση της άρδευσης και της λίπανσης για να αποφευχθεί η υψηλή και όψιμη παραγωγή, που πιθανώς να οδηγήσει σε προσβολές των σταφυλιών από ασθένειες. Η Μανδηλαριά παρουσιάζει ανθεκτικότητα στο οίδιο, αλλά φαίνεται να είναι ευαίσθητη στον περονόσπορο και τον βοτρυτή (Σταυρακάκης, 2010) .

Το γλεύκος της Μανδηλαριάς χαρακτηρίζεται από υψηλές συγκεντρώσεις σε φαινολικά συστατικά (900-1100mg/kg ραγών), και ανθοκυάνες (1900-2100 mg/kg

ραγών) και γι' αυτό χαρίζει στους οίνους βαθύ πορφυρό χρώμα και πλούσιες ταννίνες. Η περιεκτικότητα σε σάκχαρα κυμαίνεται από 180 έως 200g/L, η ολική οξύτητα υπολογίζεται 5,2 - 7,8g/L τρυγικού οξέος και το pH συνήθως βρίσκεται στο 3,2-3,3.

1.7 Ποικιλία Λημνιώνα



Εικόνα 15. Τοπική σταφυλή Λημνιώνας (www.winetuned.com)

Πρόκειται για μια ανερχόμενη γηγενή ερυθρή ποικιλία που καλλιεργείται κατά κύριο λόγο στην Καρδίτσα και τον Τύρναβο, ενώ οι πιο εντατικές προσπάθειες για την αναβίωσή της ξεκίνησαν μόλις το 2000.

Χαρακτηρίζεται από μεγάλη σταφυλή αλλά κι έντονα πυκνόρραγη. Η ράγα επίσης είναι μεγάλη και σφαιρική. Επίσης η ποικιλία θεωρείται ζωηρή και παραγωγική. Η Λημνιώνα ευνοείται από ζεστά κλίματα και διαμορφώνεται είτε σε κυπελλοειδές σχήμα είτε σε γραμμικό αμφίπλευρο Royat, ενώ θεωρείται όψιμη ποικιλία. Το σταφύλι φτάνει σε ικανοποιητικά επίπεδα ωρίμανσης και είναι έτοιμο να τρυγηθεί περί τα μέσα του Σεπτεμβρίου. Οι παραγόμενοι οίνοι της Λημνιώνας έχουν ζωηρό σκούρο πορφυρό χρώμα, κομπά αρώματα κόκκινων και μαύρων φρούτων και νότες μπαχαρικών. Διαθέτει έντονες αλλά όχι επιθετικές ταννίνες με μέτριο γενικά φαινολικό δυναμικό και μέτρια οξύτητα. Η Λημνιώνα δύναται να δώσει κρασιά με υψηλή σχετικά περιεκτικότητα σε αλκοόλη (Σταυρακάκης, 2010).

1.8. Ξεφύλλισμα

Το ξεφύλλισμα αποτελεί μια θερινή καλλιεργητική επέμβαση στον αμπελώνα που στόχο έχει την διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ βλάστησης και παραγωγής για την παραγωγή ποιοτικών προϊόντων. Πιο συγκεκριμένα, είναι η αφαίρεση φύλλων στη βάση των κύριων βλαστών, ο αριθμός των οποίων εξαρτάται από την αυστηρότητα του

ξεφυλλίσματος και μπορεί να συμβεί από της αρχή της βλάστησης μέχρι και λίγο πριν το στάδιο της ωρίμανσης των σταφυλιών. Ο χρόνος εφαρμογής του ξεφυλλίσματος εξαρτάται από την ποικιλία, την περιοχή φύτευσης και τον τύπο του παραγόμενου οίνου. Το ξεφύλλισμα που συμβαίνει πριν την καρπόδεση χαρακτηρίζεται πρώιμο, ενώ μετά τον περκασμό θεωρείται όψιμο. Ακόμη μπορεί να διακριθεί αναλόγως του τρόπου εφαρμογής του σε αμφίπλευρο ή μονόπλευρο και μηχανικό ή χειρωνακτικό.



Εικόνα 16. Ξεφυλλισμένο πρέμνο του πειραματικού αμπελώνα στην ποικιλία Αγιωργίτικο (Προσωπικό αρχείο)

Το ξεφύλλισμα αποτελεί μία επίπονη και χρονοβόρα διαδικασία με σημαντικά όμως αποτελέσματα. Στοχεύει στην βελτίωση του μικροκλίματος γύρω από τους βότρες, καθοδηγεί έμμεσα τα προϊόντα της φωτοσύνθεσης προς τα σταφύλια και διευκολύνει τις μετέπειτα εργασίες στον αμπελώνα, όπως τους ψεκασμούς και τον τρύγο. Σύμφωνα με τους Baravesco et al. (2008), δεν φαίνεται να επηρεάζεται το σύνολο της παραγωγής ως προς το βάρος της, ανεξάρτητα την ποικιλία και τις επικρατούσες συνθήκες. Ωστόσο, άλλες έρευνες υποστηρίζουν πως σε αμπελουργικές περιοχές με ήπιες κλιματικές συνθήκες, ξεφύλλισμα που εφαρμόζεται λίγο πριν ή λίγο μετά την άνθηση προκαλεί μείωση του μεγέθους της ράγας της σταφυλής και μείωση στο σύνολο της παραγωγής (Acimovic et al., 2016), ενώ αν το ξεφύλλισμα συμβεί μετά την καρπόδεση δεν επηρεάζει το βάρος, παρά μόνο βελτιώνει την ποιότητα (Chorti et al. 2010). Γενικά, με το ξεφύλλισμα επιτυγχάνεται καλύτερος αερισμός και καλύτερες συνθήκες φωτισμού και θερμοκρασίας στη ζώνη καρποφορίας (Koblet et al. 1994). Ακόμη το ξεφύλλισμα αποτελεί ένα σημαντικό μέτρο πρόληψης προσβολής από βοτρυτή (*Botrytis cinerea*), ιδιαίτερα σε ψυχρές με υψηλή υγρασία περιοχές. (Intrieri et al., 2008, Poni & Intrieri, 2001, Zoecklein et al., 1992).

Η απευθείας έκθεση των σταφυλιών στην ηλιακή ακτινοβολία επηρεάζει και την χημική σύσταση του γλεύκους και κατ' επέκταση του οίνου. Συμβάλλει στην αύξηση της συγκέντρωσης των ραγών σε σάκχαρα αλλά και μείωση της ολικής οξύτητας και ταυτόχρονα αύξηση των φαινολικών συστατικών (Crippen & Morrison, 1986, Reynolds et al., 1986, Smart et al., 1985). Ωστόσο, οι Chorti et al. (2010), αναφέρουν πως μπορεί να προκληθούν εγκαύματα στις ράγες από υπερβολική έκθεση στον ήλιο, ενώ οι Sprayd et al. 2002, αναφέρουν πως η έκθεση των σταφυλιών σε θερμοκρασίες άνω των 35°C, μπορεί να αναστείλει την ωρίμανση και να μειώσει τη σύνθεση οξέων, φαινολικών ενώσεων κι άλλων μεταβολιτών. Για τον λόγο αυτό στις περισσότερες αμπελουργικές ζώνες της Ελλάδας που οι θερμοκρασίες είναι ιδιαίτερα υψηλές, το ξεφύλλισμα θα πρέπει να γίνεται με ελεγχόμενη αυστηρότητα και να αξιολογούνται τα αποτελέσματα αυτής της πρακτικής. Απόρροια της έκθεσης των σταφυλιών στον ήλιο είναι και η αύξηση της θερμοκρασίας στην επιφάνεια των ραγών που αυξάνουν την ταχύτητα των ενζυμικών και βιοσυνθετικών δραστηριοτήτων. Στα πρέμνα που είναι ξεφυλλισμένα και τα σταφύλια εκτεθειμένα στο φως παρατηρείται χαμηλότερη συγκέντρωση μηλικού οξέος (Lakso & Kliewer, 1976) και μικρότερη συγκέντρωση μεθοξυπυραζινών σε σύγκριση με τα σκιαζόμενα σταφύλια στο ίδιο στάδιο ωρίμανσης, ενώ όπως προαναφέρθηκε οι Crippen & Morrison (1986b) παρατήρησαν περισσότερες ανθοκυάνες και φαινολικά συστατικά στα σταφύλια με έκθεση στον ήλιο.

Σύμφωνα με τον Douglas et al. (2017), το ξεφύλλισμα σε *Cabernet Sauvignon* οδήγησε σε αύξηση των σακχάρων στο γλεύκος και του αλκοολικού τίτλου στον παραγόμενο οίνο, χωρίς να επηρεάζονται τα αποτελέσματα αυτά από τον χρόνο εφαρμογής, ενώ παρατηρήθηκε μείωση στο βάρος της σταφυλής και το μέγεθος της ράγας με ταυτόχρονη αύξηση των ολικών στερεών υπολειμμάτων. Ταυτόχρονα στην ποικιλία *Pinot noir* με αυστηρό ξεφύλλισμα από την βάση μέχρι το υψηλότερο σταφύλι πάνω στον βλαστό παρατηρείται αύξηση μερικών ανθοκυανών και γλυκοζιδίων, καθώς και κάποιων πτητικών ενώσεων και πρόδρομων τους. Ωστόσο δεν φαίνεται κάποια επίδραση στη συγκέντρωση των ολικών διαλυτών στερεών, του τρυγικού οξέος και στο pH.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Στόχος και σχεδιασμός του πειράματος

Στόχος της μελέτης αυτής είναι η αξιολόγηση των χαρακτηριστικών και κυρίως του ανθοκυανικού προφίλ τεσσάρων εμβληματικών ερυθρών οινοποιήσιμων ελληνικών ποικιλιών και των παραγόμενων οίνων τους και η παρατήρηση των διαφορών που προκύπτουν εξαιτίας της έκθεσής τους ή όχι στον ήλιο μέσω της τεχνικής του ξεφυλλίσματος που λαμβάνει χώρα κατά το στάδιο του περκασμού. Οι ποικιλίες που διερευνήθηκαν είναι το Αγιωργίτικο, το Ξινόμαυρο, η Μανδηλαριά και η Λημνιώνα.

Μεταξύ των διάφορων αμπελουργικών πρακτικών στο αμπέλι, η έκθεση των σταφυλιών στο ηλιακό φως με την επιλεκτική απομάκρυνση φύλλων (ξεφύλλισμα) είναι αποδεκτή ως ένα πολύ ισχυρό και άμεσο εργαλείο για την τροποποίηση της φαινολικής σύστασης των σταφυλιών και των οίνων. Η έκθεση των σταφυλιών στο άμεσο φως έχει αποδειχτεί ότι προκαλεί μια γενική επαγωγή της έκφρασης των γονιδίων που εμπλέκονται στο βιοσυνθετικό μονοπάτι των φλαβονοειδών στο σταφύλι. Ιδιαίτερα η σύνθεση ανθοκυανών φαίνεται να είναι ευαίσθητη στην ηλιακή ακτινοβολία. (Kotseridis et. al., 2012), (Jeong et. al., 2004).

Έτσι, για τον σκοπό της μελέτης αυτής κατά την καλλιεργητική περίοδο του 2021 συλλέχθηκαν με πλήρως τυχαιοποιημένο σχέδιο σταφύλια από επίσημη αμπελογραφική συλλογή στην περιοχή της Νεμέας στην ΠΕ Κορινθίας, που περιείχε και τις τέσσερις ποικιλίες που μελετώνται (Αγιωργίτικο, Ξινόμαυρο, Μανδηλαριά, Λημνιώνα) και θεωρείται πως οι επικρατούσες εδαφοκλιματικές συνθήκες είναι κοινές για όλα. Το σύστημα διαμόρφωσης των πρέμων είναι αμφίπλευρο γραμμικό τύπου Royat με προσανατολισμό Β-Ν. Έγινε διαχωρισμός σε 8 plots, που το καθένα αποτελούνταν από 2 σειρές. Τα plots που αποτέλεσαν τους μάρτυρες δεν έγινε καμία επέμβαση, ενώ σε αυτά που πραγματοποιήθηκε το ξεφύλλισμα έγινε χειρωνακτικά, εντατικά και αμφίπλευρα κατά το στάδιο του περκασμού με αποτέλεσμα την πλήρη έκθεση των σταφυλιών στο ηλιακό φως.

Παράλληλα πραγματοποιήθηκε η παραγωγή οίνων με σταφύλια από το κάθε plot με ίδιο πρωτόκολλο οινοποίησης σε όλα τα δείγματα και τους μάρτυρες της κάθε ποικιλίας.

2.2 Δειγματοληψία σταφυλιών

Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε στις 22/09/2021 για το Αγιωργίτικο και στις 29/09/2021 για το Ξινόμαυρο, την Μανδηλαριά και την Λημνιώνα, όταν τα σταφύλια ήταν σε ικανοποιητικά επίπεδα ωριμότητας. Συλλέχθηκαν αρχικά ολόκληροι βότρες από το κάθε plot και από διαφορετικά σημεία σε κάθε πρέμνο, αποκλείοντας τα σταφύλια από τα ακριανά πρέμνα, καθώς και αυτά που είχαν συμπτώματα μολύνσεων. Δημιουργήθηκε με αυτόν τον τρόπο για κάθε plot ένα ομοιογενές αντιπροσωπευτικό δείγμα περίπου 1000 ραγών από το οποίο προέκυψαν τα 3 υποδείγματα των 50 ραγών (επαναλήψεις) για κάθε περίπτωση όπως διαμορφώνεται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1: Κωδικοποίηση των δειγμάτων

Κωδικοποίηση	Ποικιλία	Επέμβαση
AGCO	Αγιωργίτικο	Μάρτυρας
AGLR	Αγιωργίτικο	Ξεφυλλισμένο
XCO	Ξινόμαυρο	Μάρτυρας
XLR	Ξινόμαυρο	Ξεφυλλισμένο
LCO	Λημνιώνα	Μάρτυρας
LLR	Λημνιώνα	Ξεφυλλισμένο
MDCO	Μανδηλαριά	Μάρτυρας
MDLR	Μανδηλαριά	Ξεφυλλισμένο

Στη συνέχεια τα 3 υποδείγματα που προέκυψαν ψύχθηκαν απευθείας σε ξηρό πάγο και στη συνέχεια μεταφέρθηκαν σε βαθιά κατάψυξη (-80°C) μέχρι τον διαχωρισμό τους στους επιμέρους ιστούς. Οι υπόλοιπες ράγες από το αντιπροσωπευτικό δείγμα (bulk sample) των 1000 ραγών από το κάθε plot, πολτοποιήθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό του pH, της ολικής οξύτητας και της σακχαροπεριεκτικότητας του γλεύκους τους κατά τον τρύγο.

2.3 Προσδιορισμός της περιεκτικότητας σακχάρων των σταφυλιών με διαθλασιμετρία

Ο προσδιορισμός των σακχάρων στο γλεύκος των σταφυλιών που τρυγήθηκαν έγινε με την χρήση διαθλασίμετρου χειρός, το οποίο ήταν βαθμονομημένο σε βαθμούς Brix. Η μέτρηση του διαθλασίμετρου αντιστοιχεί στην περιεκτικότητα σακχάρων ως εξής: Brix: g σακχάρων/100g διαλύματος, καθώς θεωρούμε πως το σύνολο των διαλυτών στερεών αποτελούν σάκχαρα. Ταυτόχρονα μετρήθηκε και η θερμοκρασία του γλεύκους

με θερμόμετρο οينوπνεύματος, προκειμένου να διορθωθεί η ένδειξη του διαθλασίμετρου στην θερμοκρασία αναφοράς (Κοτσερίδης, 2015).

2.4. Προσδιορισμός ολικής ή ογκομετρούμενης οξύτητας

Με τον όρο ολική ή ογκομετρούμενη οξύτητας εννοείται το σύνολο των ογκομετρούμενων οξέων όταν το pH του οίνου ρυθμίζεται στο 7 με την προσθήκη κάποιου τιτλοδοτημένου αλκαλικού διαλύματος και δε συνυπολογίζεται το διοξείδιο του άνθρακα. Το μπλε της βρωμοθυμόλης χρησιμοποιείται ως δείκτης του οποίου η περιοχή αλλαγής χρώματος είναι το 7.

Κατά την μέτρηση της ολικής οξύτητας προστείνονται 10 mL γλεύκους σε μια κωνική φιάλη, λίγες σταγόνες του δείκτη και 30 mL απεσταγμένο νερό. Η προχοΐδα γεμίζεται με πρότυπο διάλυμα NaOH 0.1M και τιτλοδοτείται το διάλυμα μέχρι να αλλάξει το χρώμα του σε κυανοπράσινο. Η διαφορά της αρχικής με την τελική τιμή της προχοΐδας εκφράζει την ποσότητα του πρότυπου διαλύματος που χρησιμοποιήθηκε για την τιτλοδότηση και καταγράφεται (n). Για την έκφραση της ολικής οξύτητας του γλεύκους σε γραμμάρια τρυγικού οξέος ανά λίτρο (g τρυγικού οξέος/L) πολλαπλασιάζεται η ποσότητα του πρότυπου διαλύματος που καταναλώθηκε (n) με 0,75 (Κοτσερίδης, 2015) :

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

2.5. Μέτρηση pH/ ενεργούς οξύτητας

Το pH στο γλεύκος εκφράζει το σύνολο των καρβοξυλομάδων των οξέων που βρίσκονται σε διάσταση και δίνουν ιόντα H⁺. Η μέτρηση του pH έγινε υπό ανάδευση του γλεύκους σε θερμοκρασία περίπου 22oC με pHμετρο ψηφιακό (HANNA HI 112).

2.6. Προετοιμασία δείγματος για εκχύλιση

Η ανάλυση των ανθοκυανών για το σταφύλι έλαβε χώρα μόνο στον φλοιό, όπου εντοπίζονται σχεδόν αποκλειστικά οι ανθοκυάνες. Ο διαχωρισμός των κατεψυγμένων ραγών σε γίγαρτα, φλοιό και σάρκα έγινε με την χρήση λαβίδας. Ο φλοιός ξεπλένεται από υπολείμματα σάρκας με κρύο απιονισμένο νερό για αποφυγή εκχύλισης των συστατικών του και στεγνώνεται με διηθητικό χαρτί. Κατόπιν αλέθεται με την χρήση ηλεκτρικού πολυκόφτη και ζυγίζεται σε προζυγισμένους δειγματοφορείς PP (πολυπροπυλενίου) το μικτό βάρος του φλοιού. Ακολουθεί λυοφιλίωση για δύο ημέρες σε συσκευή λυοφιλίωσης

και έπειτα ζυγίζεται ξανά το μικτό βάρος του φλοιού, κονιοποιούνται τυχόν συσσωματώματα και τα δείγματα φλοιού σε μορφή σκόνης πλέον αποθηκεύονται σε αεροστεγείς δειγματοφορείς σε απλή κατάψυξη (-25°C), έτοιμα προς εκχύλιση των ανθοκυανών.

2.7. Εκχύλιση ανθοκυανών από του φλοιούς και προσδιορισμός τους με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)

2.7.1. Υλικά

Για την διαδικασία εκχύλισης των ανθοκυανών από τον λυοφιλιωμένο φλοιό χρησιμοποιήθηκε υπερκάθαρο νερό, μεθανόλη χρωματογραφικής καθαρότητας HPLC (Chem-Lab), ακετόνη για ανάλυση (Merck) και φορμικό οξύ για ανάλυση (Carlo Erba). Επίσης έγινε χρήση τριφθοροξικού οξέος (TFA) χρωματογραφικής καθαρότητας LC-MS (Fluka). Από τα παραπάνω αντιδραστήρια δημιουργήθηκαν τα εξής διαλύματα ακετόνη / νερό με TFA 0,05%, 70/30 (v/v) και φορμικό οξύ 0,134%.

2.7.2. Μέθοδος

Ζυγίζονται 14mg λυοφιλιωμένου ιστού για κάθε δείγμα και εκχυλίζονται με 200μL μεθανόλης και 1,4 mL του διαλύματος ακετόνης/νερό με TFA 0,05%, 70/30 (v/v). Έπειτα αναδεύονται και εισάγονται σε σκοτεινό λουτρό υπερήχων για 10 λεπτά περίπου στους 4°C. Ακολουθεί ανάδευση σε περιστροφικό αναδευτήρα με ταχύτητα 40 rpm, θερμοκρασία στους 4°C και απουσία φωτός. Οι διαδικασίες ανάδευσης επαναλαμβάνονται. Εν συνεχεία τα δείγματα φυγοκεντρούνται με ταχύτητα 10.000 rpm για 10 λεπτά στους 4°C. Λαμβάνεται το υπερκείμενο υγρό σε φιαλίδια erpendorf των 2mL και συμπυκνώνεται μέχρι την πλήρη ξήρανσή του σε συσκευή συμπύκνωσης με διαβίβαση ρεύματος αζώτου.

Κατόπιν γίνεται επαναδιαλυτοποίηση με την προσθήκη 250 μL μεθανόλης και 750 μL διαλύματος φορμικού οξέος σε 0,134% . Τα δείγματα εισάγονται και πάλι σε σκοτεινό λουτρό υπερήχων στους 4°C για 15 min, αναδεύονται σε συσκευή Vortex και ακολουθούν ακόμη 15 min στο λουτρό υπερήχων και ανάδευση. Αμέσως μετά φυγοκεντρούνται στους 4°C με ταχύτητα 14.000 rpm για 15 min και τέλος φιλτράρονται με την βοήθεια πλαστικής σύριγγας ινσουλίνης του 1 mL και φίλτρα σύριγγας Cartina πορότητας 0,45μm και συλλέγονται σε καφέ φιαλίδια του 1,5 mL που περιέχουν insert των 400μL και μεταφέρονται άμεσα προς ανάλυση στον χρωματογράφο.

Πίνακας 2: Μέθοδος προσδιορισμού των μονομερών ανθοκυανών με HPLC

Μέθοδος	Προσδιορισμός ανθοκυανών						
Στήλη	Nucleosil 100-5 C ₁₈ (200 x 4.6 mm x 5 μm)						
Ρυθμός ροής διαλυτών	1 mL/min						
Ανιχνευτής	UV-Vis						
Μήκος κύματος ανίχνευσης	520 nm						
Ποσότητα ένεσης (injection)	5 μL						
Διαλύτες	A : 5% φορμικό οξύ σε υπερκάθαρο νερό (MQ)						
	B : μεθανόλη (MeOH) καθαρότητας HPLC						
Πρόγραμμα HPLC	Χρόνος σε λεπτά :	0	22	32	34	35	40
	% διαλύτης A	90	50	5	95	90	90
	% διαλύτης B	10	50	95	95	10	10

Για την ανάλυση των μονομερών ανθοκυανών χρησιμοποιήθηκε η χρωματογραφική μέθοδος των Kalogiouri N., et. al., (2022) με έλεγχο της επαναληψιμότητας και της αναπαραγωγιμότητας της μεθόδου. Εφαρμόστηκε ένα σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης συζευγμένη με φασματοφωτομετρία UV-Vis. Χρησιμοποιήθηκε HPLC/DAD (High Performance Liquid Chromatograph/ Diode Array Detector) της Spectra System (Thermo Separation Products, Austin, TX, USA) με απαερωτή κινητής φάσης σε σειρά με δυαδική αντλία κινητής φάσης P2000, αυτόματο δειγματολήπτη AS3000 με βρόγχο δείγματος όγκου 0,1ml και ενσωματωμένο θερμοστατούμενο θάλαμο στήλης, καθώς και ανιχνευτή συστοιχίας φωτοδίοδων UV6000LP. Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε είναι η Nucleosil 100-5 C₁₈, 250×4.6 mm×5μm αντίστροφης φάσης (Macherey–Nagel, Düren, Germany) και εφαρμόστηκε βαθμιδωτή έκλυση υδατικής κινητής φάσης οξινομένης με 5 % φορμικό οξύ, υπό ροή 1 mL/min. Ο όγκος της έγχυσης ήταν 5 μL και η θερμοκρασία της στήλης στους 40°C. Η

καταγραφή του σήματος του ανιχνευτή πραγματοποιούνταν στα 520 nm με τη βοήθεια του λογισμικού ChromQuest 5.0 (ThermoFisher Scientific Inc.).

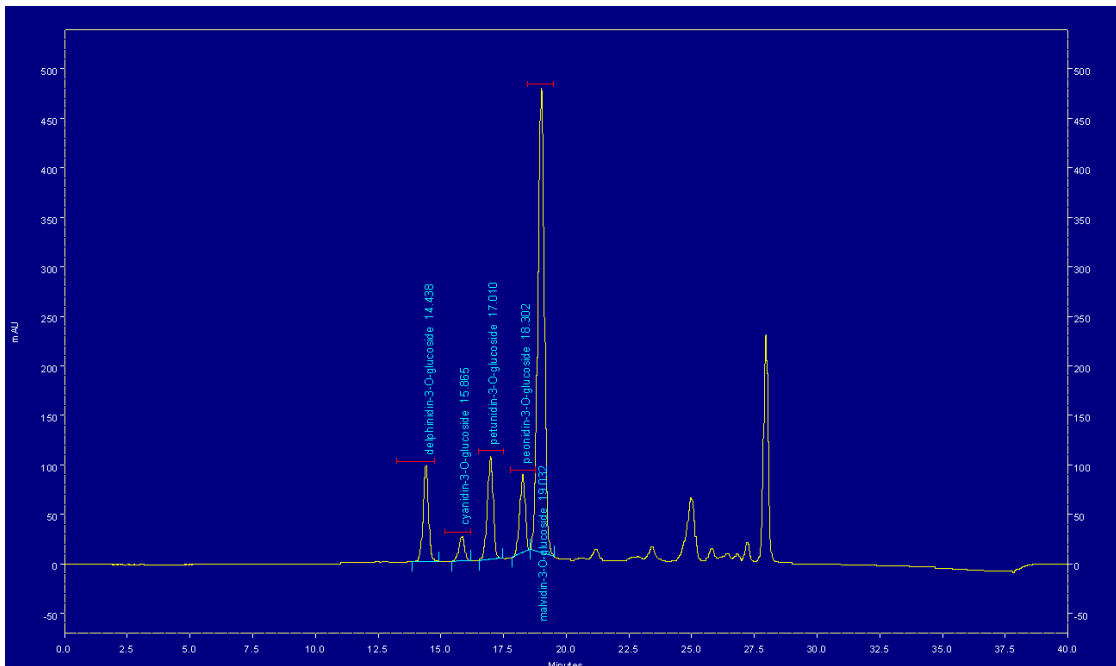
Για την δημιουργία των πρότυπων καμπυλών χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω πρότυπες ουσίες από την εταιρία Extrasynthese με έδρα στη Γαλλία: kuromaninchloride (cyanidin-3-O-glucosidechloride) καθαρότητας 96.2% και μάζας 10 mg, myrtillinchloride (delfinidin-3-O-glucosidechloride) καθαρότητας 99.5% και μάζας 10 mg, oeninchloride (malvidin-3-O-glucosidechloride) καθαρότητας 96.7% και μάζας 10 mg, peonidin-3-O-glucosidechloride καθαρότητας 96.6% και μάζας 5 mg και petunidin-3-O-glucosidechloride καθαρότητας 97.5% και μάζας 5 mg.

Από κάθε πρότυπη ουσία παρασκευάστηκε διάλυμα συγκέντρωσης 1mg/mL σε MeOH καθαρότητας LC-MS με 0,1% HCl (σύμφωνα με τις προδιαγραφές), όγκου 5 mL. Επιπλέον παρασκευάστηκε μίγμα των πέντε πρότυπων ουσιών συγκέντρωσης 200 μg/mL για κάθε μια, λαμβάνοντας 200 μL από κάθε πρότυπο διάλυμα για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης και των πέντε πρότυπων. Μετά το πέρας των πειραμάτων τα πρότυπα διαλύματα, τόσο της κάθε ουσίας όσο και των μειγμάτων, συμπυκνώθηκαν και αποθηκεύτηκαν σε βαθιά κατάψυξη -80°C.

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης παρασκευάστηκαν με κατάλληλες διαδοχικές αραιώσεις πρότυπα διαλύματα συγκεντρώσεων 1, 5, 10, 20, 40 και 50μg/mL. Βρέθηκε ότι υπάρχει γραμμική συσχέτιση για συγκεντρώσεις από 1 έως 50μg/mL και για τις πέντε πρότυπες ενώσεις. Οι εξισώσεις που περιγράφουν τις πρότυπες καμπύλες φαίνονται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3: Οι πρότυπες καμπύλες των 5 κύριων μονομερών ανθοκυανόν και συντελεστής προσδιορισμού R²

ΜΟΝΟΓΛΥΚΟΖΙΤΗΣ	ΠΡΟΤΥΠΗ ΚΑΜΠΥΛΗ	R ²
Δελφινιδίνη (Dlp)	$y=72031,3x - 8266,87$	0,999601
Κυανιδίνη(Cyn)	$y=77893,6x - 6867,71$	0,999838
Πετουδίνη(Pt)	$y=73634,8x + 2305,05$	0,999802
Παιονιδίνη (Pn)	$y=68782,6x + 1052,59$	0,999781
Μαλβιδίνη(Mlv)	$y=55442,4x + 1894,58$	0,999794



Εικόνα 17.Χρωματογράφημα από τους φλοιούς του μάρτυρα της Λημιώνας (LCO2).

2.8. Πρωτόκολλο οινοποίησης

Η παραγωγή των οίνων που εξετάστηκαν, έγινε από σταφύλια που προήλθαν από τις ίδιες σειρές που έγινε και δειγματοληψία για την ανάλυση των σταφυλιών. Οπότε και στην περίπτωση των οίνων προκύπτουν 8 διαφορετικά κρασιά, 2 για κάθε ποικιλία. Το ένα της κάθε ποικιλίας προκύπτει από τις σειρές που ξεφυλλίστηκαν και το άλλο από τον μάρτυρα. Για όλα τα κρασιά ακολουθήθηκε το ίδιο πρωτόκολλο οινοποίησης. Τα σταφύλια συγκομίστηκαν κατά τις πρωινές ώρες σε τελάρα των 20kg που είχαν σημανθεί κατάλληλα και στη συνέχεια μεταφέρθηκαν σε ψυγιοθάλαμο, όπου παρέμειναν καθ' όλη την διάρκεια της νύχτας στους 8-9 C. Την επόμενη μέρα πραγματοποιήθηκε η αποβοστρύχωση και το σπάσιμο των ραγών. Κατά το σπάσιμο πραγματοποιήθηκε προσθήκη θειώδους ανυδρίτη (metabisulfite) της σταφυλομάζας 12g/hKg. Την επόμενη μέρα έγινε ο εμβολιασμός της σταφυλομάζας με την ζύμη Vitilevure MT (Martin Vialatte Oenologie) σε συγκέντρωση 20gr/hL και περίπου 2 ώρες μετά ακολούθησε προσθήκη του θρεπτικού Preferm (οργανικό άζωτο, ανενεργοί μύκητες) (Martin Vialatte) σε ποσότητα που αντιστοιχεί σε 20gr/hL. Η παρακολούθηση της αλκοολικής ζύμωσης έγινε με καθημερινές μετρήσεις αραιομετρίας και θερμοκρασίας και η ζύμωση έλαβε χώρα σε θερμοκρασίες μεταξύ 22-28 °C. Στο στάδιο που το γλεύκος βρίσκεται στα 8-10 Baume προστέθηκε και το φωσφορικό διαμμώνιο (DAP) σε συγκέντρωση 20gr/hL. Κατά τις πρώτες 5 ημέρες της αλκοολικής ζύμωσης γινόταν διαβροχή των στεμφύλων και σπάσιμο του “καπέλου” 2 φορές την ημέρα. Για τις επόμενες 2 μέρες γινόταν διαβροχή 1 φορά την ημέρα.

Ο διαχωρισμός των στεμφύλων πραγματοποιήθηκε την 8η μέρα, με απλή εκροή του γλεύκους, χωρίς πίεση. Λίγο πριν την ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης, έγινε εμβολιασμός με γαλακτικά βακτήρια (*Oenococcus Oeni*/ *Viniflora* CINE, CHR Hansen) για την πραγματοποίηση της μηλογαλακτικής ζύμωσης. Με την ολοκλήρωση και της μηλογαλακτικής ζύμωσης, ο οίνος απολασπώθηκε και θειώθηκε συμπληρωματικά με 10g/hL metabisulfite. Έπειτα διατηρήθηκε ο κάθε οίνος στο δεξαμενάκι του για περίπου 2 μήνες για φυσική διαύγαση. Πριν την εμφιάλωση του απολασπώθηκε άλλη μια φορά και εμφιαλώθηκε σε φιάλες των 0,75L.

2.9. Προσδιορισμός ανθοκυανών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) στους οίνους

Η συγκέντρωση των μονομερών ανθοκυανών στους οίνους προσδιορίστηκε με την πραγματοποίηση της μεθόδου της άμεσης έγχυσης. Τα δείγματα των οίνων φιλτραρίστηκαν με φίλτρα σύριγγας πορώδους 0,45μm και συλλέχθηκαν σε καφέ γυάλινα φιαλίδια του αυτόματου δειγματολήπτη του χρωματογράφου. Ο εξοπλισμός και η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε είναι ίδια με αυτή που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των ανθοκυανών και στους φλοιούς (Kalogiouri N., et. al., 2022).

Στους παραγόμενους οίνους πραγματοποιήθηκαν επίσης οι κλασικές αναλύσεις βασιζόμενες στις επίσημες αναλύσεις του OIV. Πιο συγκεκριμένα έγινε ο προσδιορισμός της ολικής και της ενεργούς οξύτητας, των αναγόντων σακχάρων της πτητικής οξύτητας και του αλκοολικού τίτλου των οίνων.

2.10. Προσδιορισμός αλκοολικού τίτλου

Ο αλκοολικός τίτλος σε περιεκτικότητα κατ' όγκο για έναν οίνο ορίζεται ως ο αριθμός των λίτρων της άνυδρης αιθανόλης που περιέχεται σε 100 λίτρα του οινικού προϊόντος μετρημένοι στους 20°C και συμβολίζεται με % vol.

Ο προσδιορισμός του αλκοολικού τίτλου πραγματοποιείται με την διαδικασία της απόσταξης της αλκοόλης που περιέχεται στον οίνο κι έπειτα πραγματοποιείται μέτρηση του αποστάγματος με αραιόμετρο Gay-Lussac. Πιο συγκεκριμένα, λαμβάνονται 200mL οίνου και θερμομετρούνται. Το δείγμα μεταφέρεται στην σφαιρική φιάλη της αποστακτικής συσκευής. Προστίθενται 10mL εναιωρήματος CaOH προκειμένου το δείγμα να γίνει αλκαλικό καθώς και 2 τεμάχια πορώδους ανενεργού υλικού. Η σφαιρική φιάλη συνδέεται με την αποστακτική συσκευή και πραγματοποιείται θέρμανση και απόσταξη. Το απόσταγμα συλλέγεται σε ογκομετρική φιάλη των 200mL μέχρι να μαζευτεί ποσότητα ίση με τα 3/4 του αρχικού όγκου

του δείγματος και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τα 200mL με απεσταγμένο νερό. Έπειτα μεταφέρεται σε ογκομετρικό κύλινδρο, όπου λαμβάνεται η θερμοκρασία και εμβαπτίζεται το αραιόμετρο. Λαμβάνεται ο φαινομενικός αλκοολικός τίτλος κατά την εξισορρόπηση του αλκοολομέτρου και διορθώνεται στη θερμοκρασία αναφοράς με την βοήθεια πίνακα (Κοτσερίδης, 2015).

2.11. Προσδιορισμός ολικής οξύτητας και pH

Η ολική ή ογκομετρούμενη οξύτητα των οίνων προσδιορίστηκε με την ίδια μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της ολικής οξύτητας και στο γλεύκος και εκφράζεται και πάλι σε g τρυγικού οξέος/L (OIV - MA - AS313-01). Ενώ για την μέτρηση του pH των οίνων χρησιμοποιήθηκε και πάλι ψηφιακό pH-μετρο.

2.12. Προσδιορισμός πτητικής οξύτητας

Η πτητική οξύτητα προκύπτει από τα οξέα της σειράς του οξικού οξέος που υπάρχουν μέσα στον οίνο ελεύθερα ή σε μορφή αλάτων. Τα αλειφατικά οξέα με μικρό αριθμό ατόμων άνθρακα, όπως το μυρμηκικό, βουτυρικό, προπιονικό και οξικό οξύ επηρεάζουν δυσμενώς την ποιότητα του οίνου, επιδρώντας αρνητικά στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων. Σε έναν ισορροπημένο οίνο μετά την αλκοολική ζύμωση η συγκέντρωση του οξικού οξέος παίρνει τιμές 0,3-0,4g/L οξικού οξέος, ενώ στους ερυθρούς οίνους ύστερα από μηλογαλακτική ζύμωση η συγκέντρωση κυμαίνεται στα 0,5g/L οξικού οξέος. Η αυξημένη πτητική οξύτητα είναι δείγμα βακτηριακής προσβολής.

Ο προσδιορισμός της πτητικής οξύτητας γίνεται με τιτλοδότηση των πτητικών οξέων που διαχωρίζονται από τον οίνο με απόσταξη μεθ' υδρατμών και ανακαθαρισμό των ατμών. Πιο συγκεκριμένα, γίνεται απαέρωση για την απομάκρυνση του CO₂ από το δείγμα κρασιού με την χρήση αντλίας κενού. Έπειτα 20mL δείγματος μεταφέρονται σε φιάλη απόσταξης μαζί με 0,5g τρυγικού οξέος. Στη συνέχεια συλλέγονται 250mL αποστάγματος. Το απόσταγμα ογκομετρείται με διάλυμα NaOH παρουσία δείκτη φαινολοφθαλεΐνης, όπου n mL ο όγκος του διαλύματος που καταναλώθηκε. Στη συνέχεια προστίθενται 4 σταγόνες από αραιωμένο διάλυμα HCl, 2mL διαλύματος αμύλου και μερικοί κρύσταλλοι ιωδιούχου καλίου και γίνεται ογκομέτρηση του ελεύθερου SO₂, όπου n' mL ο όγκος διαλύματος που καταναλώθηκε. Κατόπιν προστίθεται κορεσμένο διάλυμα Na₂B₄O₇·10H₂O μέχρι το διάλυμα να αποκτήσει μια ροδίζουσα χρώση. Το δεσμευμένο SO₂ ογκομετρείται με ιωδιούχο διάλυμα 0,005M, όπου n'' mL ο όγκος του διαλύματος που καταναλώθηκε. Η πτητική οξύτητα εκφράζεται σε g οξικού

οξέος/L με δύο δεκαδικά ψηφία και υπολογίζεται με τον εξής τύπο: $0,300 * (n - 0,1 * n' - 0,05 * n'')$. (OIV-MA-AS313-02).

2.13. Προσδιορισμός των αναγόντων σακχάρων

Το σύνολο των αναγόντων σακχάρων στον οίνο είναι αυτά που διαθέτουν ελεύθερη αλδεϋδική ή κετονική ομάδα και μπορούν να προσδιοριστούν εύκολα με χημικές μεθόδους καθώς έχουν την ιδιότητα να ανάγουν τον δισθενή χαλκό σε μονοσθενή, όταν βρεθούν σε αλκαλικό περιβάλλον. Μετά το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης ανάλογα με την περιεκτικότητά των αναγόντων σακχάρων, οι οίνοι διακρίνονται σε:

- *Ξηρός (sec)*: < 2 g/L ανάγοντα σάκχαρα (< 4g/L για την ελληνική νομοθεσία)
- *Ημίξηρος(demi-sec)*: 2-18 g/L
- *Ημίγλυκος (demi-doux)*: 18-40 g/L
- *Γλυκός (doux)*: > 40 g/L

Ο προσδιορισμός των αναγόντων σακχάρων στους εξεταζόμενους οίνους έγινε με την μέθοδο Lüff. Αρχικά έγινε διαύγαση των οίνων ώστε να απομακρυνθούν συστατικά που παρεμβαίνουν στην μέτρηση, όπως είναι τα φαινολικά. Για τον λόγο αυτό, σε ογκομετρική φιάλη των 100mL, προστίθενται 50mL οίνου, 2,5 mL οξικού μολύβδου $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$, 0,5g $CaCO_3$ και 0.5 (n-0,5) mL NaOH, 1M (όπου n τα mL διαλύματος NaOH 0,1M που καταναλώθηκαν κατά τον προσδιορισμό της ολικής οξύτητας 10 mL οίνου). Ακολουθεί ανάδευση και αναμονή για 15 λεπτά. Συμπληρώνεται ο όγκος στα 100mL με απιονισμένο νερό και το διάλυμα διηθείται. Σε κωνική φιάλη των 300mL προστίθενται 25mL από το διήθημα, 25 mL θειικού χαλκού $CuSO_4$ και μερικά τεμάχια ελαφρόπετρας. Η κωνική φιάλη εφαρμόζεται σε κάθετο ψυκτήρα και το δείγμα βράζει για 10 λεπτά. Έπεται άμεση και ταχεία ψύξη με τρεχούμενο νερό και η προσθήκη 10mL ιωδιούχο κάλιο KI 30%, 25 mL θειικό οξύ H_2SO_4 25% και 2mL δείκτη αμύλου. Το μείγμα τιτλοδοτείται με θειοθειικό νάτριο $Na_2S_2O_3$ 0,1N και το τελικό σημείο της τιτλοδότησης προσδιορίζεται με την αλλαγή του χρώματος σε λευκό.

Έστω n mL $Na_2S_2O_3$ (θειοθειικού νατρίου) που καταναλώθηκαν κατά την τιτλοδότηση του δείγματος και n' mL που καταναλώθηκαν στον μάρτυρα. Η διαφορά n-n' αντιστοιχίζεται σε mg σακχάρου, με την βοήθεια πίνακα, και διαιρείται με το συντελεστή διαίρεσης 25 (25 mL διηθήματος που χρησιμοποιήθηκαν). Το αποτέλεσμα διπλασιάζεται και με αυτό τον τρόπο υπολογίζεται η συγκέντρωση αναγόντων σακχάρων σε g/L δείγματος (OIV-MA-AS311-01A).

2.14. Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων

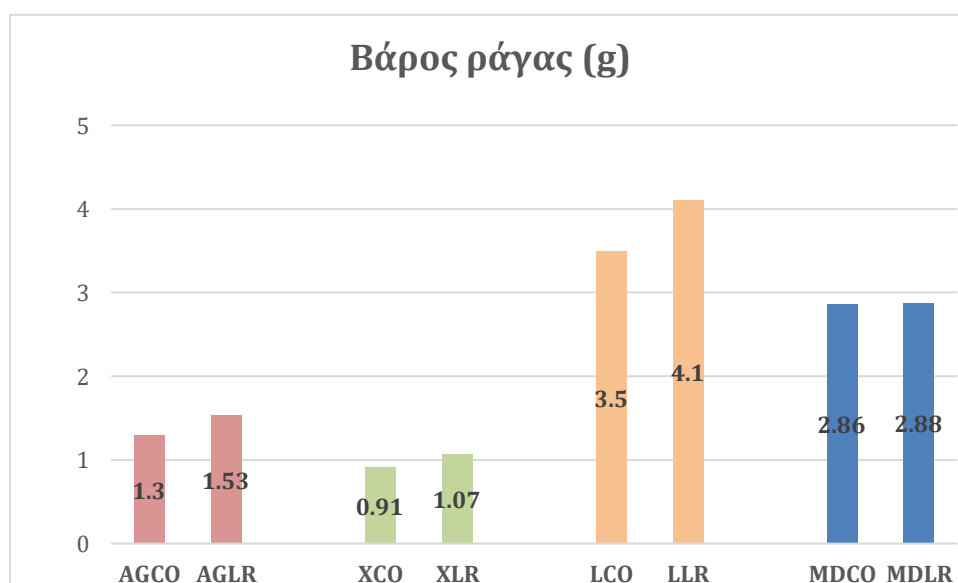
Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια του Microsoft Excel (Microsoft, ΗΠΑ) και την χρήση του εργαλείου Ανάλυσης Δεδομένων. Για τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των ανθοκυανών στους οίνους και αντίστοιχα στα εκχυλίσματα των φλοιών εφαρμόστηκε μονόδρομη ανάλυση της διασποράς τους (one -way ANOVA) σε επίπεδο σημαντικότητας (p value), $p < 0,05$ με την χρήση του IBM SPSS Statistics V.26. Έπειτα το Tukey's HSD (honest significant difference) test χρησιμοποιήθηκε για την σύγκριση των δειγμάτων. Με a, b, c κ.ο.κ. χαρακτηρίζεται η στατιστική διαφορά των δειγμάτων (σε επίπεδο σημαντικότητας 5%), ενώ δείγματα με ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους. Το μέσο σφάλμα των επαναλήψεων παρουσιάζεται ως \pm του μέσου όρου των τιμών των επαναλήψεων ή ως μπάρες στα ραβδογράμματα στα παρακάτω αποτελέσματα.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1. Επίδραση του ξεφυλλίσματος στα σταφύλια κατά τον τρύγο

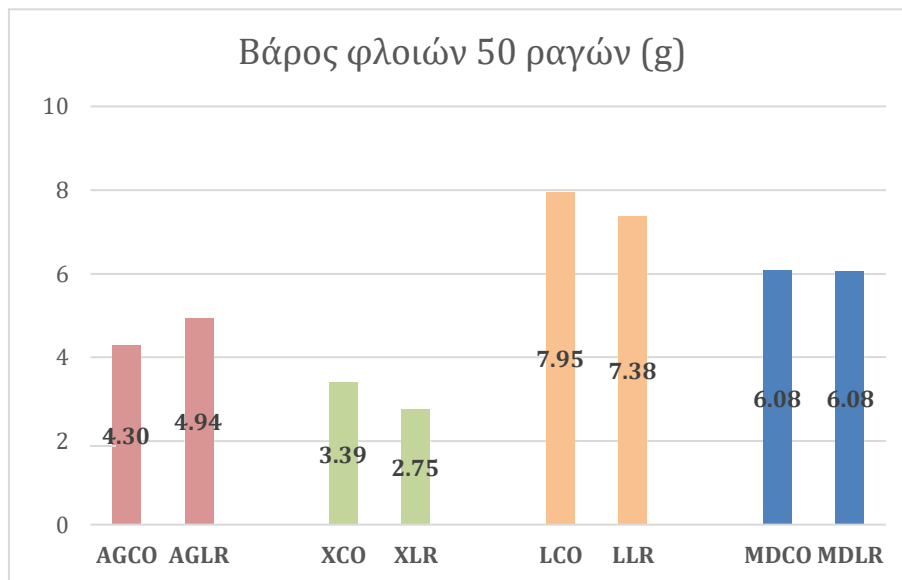
Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά τον τρύγο, όπου τα σταφύλια για κάθε ποικιλία είχαν φτάσει στην τεχνολογική τους ωριμότητα. Σε ότι αφορά το βάρος της ράγας για κάθε ποικιλία τόσο στον μάρτυρα, όσο και σε αυτές που προήλθαν από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο γράφημα 1. Για την κάθε τιμή στο γράφημα 1, μετρήθηκαν ράγες από τυχαίο δείγμα 50 ραγών κατά τον τρύγο και λήφθηκε η μέση τιμή τους. Η Λημιώνα παρουσιάζει το μεγαλύτερο βάρος ράγας μεταξύ των ποικιλιών με μέση τιμή 3,5g στις ράγες που προήλθαν από τα αζεφύλλιστα πρέμνα (LCO) και 4,1g σε αυτές που προήλθαν από τα ξεφυλλισμένα (LLR). Το Ξινόμαυρο αντίστοιχα παρουσιάζει το μικρότερο βάρος ράγας και για τις δύο επεμβάσεις, με 0,91g στον μάρτυρα (XCO) και 1,07g στις ράγες από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα (XLR).

Και στις τέσσερις προς μελέτη ποικιλίες φαίνεται πως στα φυτά που έχει εφαρμοστεί ξεφύλλισμα το μέσο βάρος της ράγας είναι μεγαλύτερο συγκριτικά με τις ράγες από τα φυτά μάρτυρες.



Γράφημα 1. Μέσο βάρος ράγας (g) των δειγμάτων κατά τον τρύγο

Ακόμη καταγράφηκε το βάρος των φλοιών κατά τον διαχωρισμό τους από την υπόλοιπη ράγα στις τρεις επαναλήψεις των 50 ραγών για την κάθε επέμβαση πριν την λυοφιλίωσή τους. Έπειτα λήφθηκε ο μέσος όρος του συνολικού βάρους φλοιών 50 ραγών της κάθε επανάληψης για κάθε διαφορετική ποικιλία και επέμβαση όπως φαίνεται στο γράφημα 2.



Γράφημα 2. Μέσο βάρους φλοιών 50 ραγών στα δείγματα μετά τον τρύγο

Στο Αγιωργίτικο, το βάρος των φλοιών φαίνεται να είναι μεγαλύτερο στα σταφύλια από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα (AGLR), ενώ στο Ξινόμαυρο, την Λημνιώνα και την Μανδηλαριά, οι μάρτυρες έχουν μεγαλύτερο βάρος φλοιών.

Η Λημνιώνα που έχει και την μεγαλύτερη ράγα σε σχέση με τις άλλες τρεις ποικιλίες το βάρος των φλοιών της στον μάρτυρα (LCO) είναι 7,95g και το βάρος των φλοιών από τα ξεφυλλισμένα (LLR) είναι 7,38g. Το μικρότερο βάρος φλοιών μεταξύ των ποικιλιών παρουσιάζει το Ξινόμαυρο σε μάρτυρα και ράγες από φυτά που εφαρμόστηκε ξεφύλλισμα με τιμές XCO: 3,39g και XLR: 2,75g αντίστοιχα.

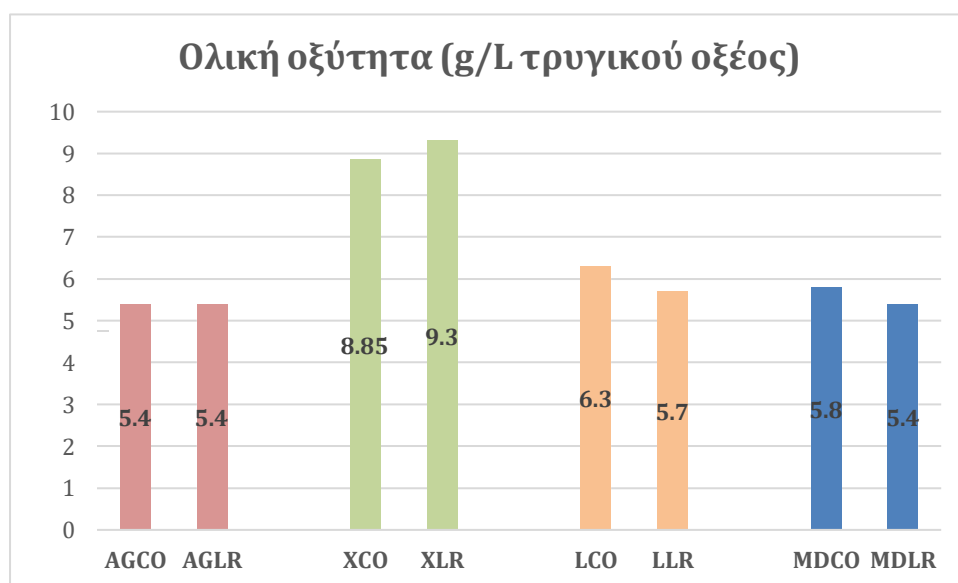
Προηγούμενες μελέτες (Poni et al., 2009) έδειξαν πως η αναλογία φλοιού και σάρκας επηρεάζεται από το ξεφύλλισμα και συγκεκριμένα από το χρονικό σημείο που θα εφαρμοστεί, σύμφωνα με τις οποίες το προανθικό ξεφύλλισμα τείνει να αυξάνει το βάρος των φλοιών σε σχέση με το σύνολο της ράγας. Ωστόσο στην παρούσα μελέτη η εφαρμογή του ξεφύλλισματος έγινε κατά τον περκασμό και φαίνεται στις τρεις από τις τέσσερις ποικιλίες να επηρέασε αρνητικά την αύξηση του φλοιού της ράγας.

Από το μαζικό δείγμα (bulk sample) που συλλέχθηκε για κάθε ποικιλία από τα φυτά μάρτυρες που δεν είχαν κάποια επέμβαση (CO) και τα ξεφυλλισμένα (LR), προέκυψαν 3 υποδείγματα των 50 ραγών. Από αυτά προέκυψε το μέσο βάρος ράγας και φλοιών όπως αναφέρθηκε παραπάνω και οι υπόλοιπες ράγες χρησιμοποιήθηκαν για τις προζυμωτικές μετρήσεις στο γλεύκος τους, ύστερα από την έκθλιψή τους. Συγκεκριμένα μετρήθηκαν η ολική οξύτητα, το pH και τα Baume.

Στο γράφημα 3 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την ανάλυση της ολικής οξύτητας για κάθε πειραματική μονάδα. Το Ξινόμαυρο και στις δύο επεμβάσεις παρουσιάζει

τις υψηλότερες τιμές με διαφορά από τις υπόλοιπες τρεις ποικιλίες, γεγονός που είναι αναμενόμενο της ποικιλίας. Το γλεύκος που προέρχεται από τον μάρτυρα (XCO) έχει τιμή, 8,85 g/L τρυγικού οξέος, ενώ το XLR έχει 9,3 g/L τρυγικού οξέος. Το Αγιωργίτικο, η Λημιώνα και η Μανδηλαριά παρουσιάζουν μέτρια οξύτητα με τιμές 5,4- 6,3 g/L τρυγικού οξέος.

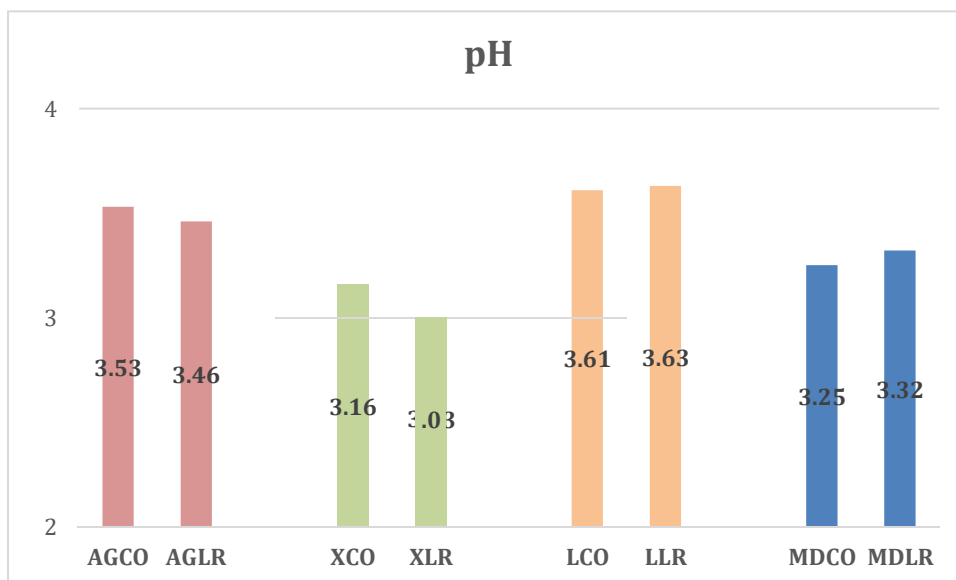
Το ξεφύλλισμα δεν φαίνεται να έχει σαφή επίδραση στην ολική οξύτητα του γλεύκους. Η Λημιώνα και η Μανδηλαριά παρουσιάζουν μεγαλύτερη οξύτητα στα φυτά – μάρτυρες σε σχέση με τα ξεφυλλισμένα, ενώ το Ξινόμαυρο μικρότερη. Το Αγιωργίτικο έχει την ίδια τιμή ολικής οξύτητας και για τις δύο επεμβάσεις.



Γράφημα 3. Ολική οξύτητα του γλεύκους των δειγμάτων προζυμωτικά

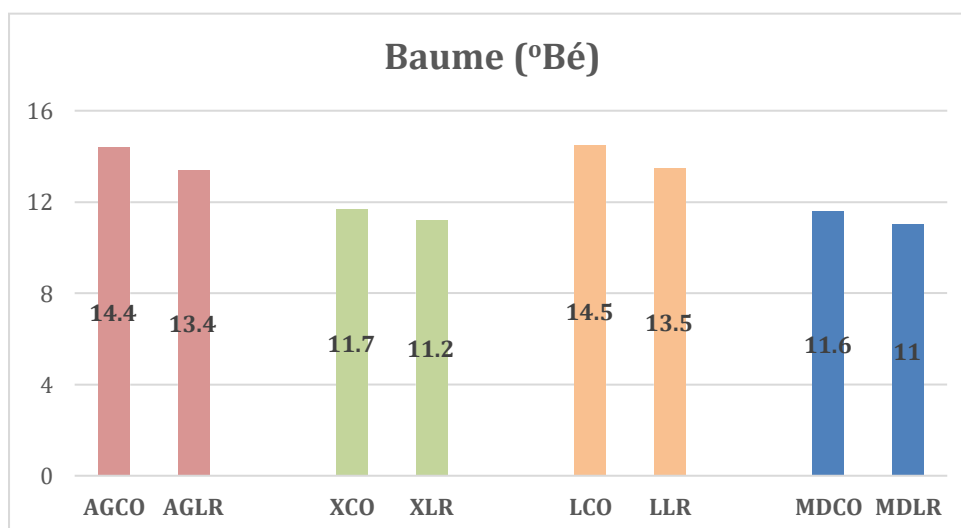
Στο γράφημα 4 φαίνονται οι τιμές του pH για το γλεύκος με αναμενόμενες τιμές για τις ποικιλίες με το Ξινόμαυρο και την Μανδηλαριά να παρουσιάζονται ελαφρώς όξινες, ωστόσο η διακύμανση των τιμών μεταξύ των ποικιλιών για το pH παραμένει μικρή.

Η επέμβαση του ξεφυλλίσματος κατά τον περκασμό φαίνεται να μην έχει επηρεάσει σαφώς το pH, καθώς το Αγιωργίτικο και το Ξινόμαυρο παρουσιάζουν ελαφρώς μικρότερο pH στα ξεφυλλισμένα πρέμνα, ενώ η Λημιώνα και η Μανδηλαριά μεγαλύτερο.



Γράφημα 4. pH του γλεύκος των δειγμάτων προζυμοτικά

Στο γράφημα 5 φαίνονται οι τιμές Baume (°Bé) στο γλεύκος κατά τον τρύγο της κάθε ποικιλίας. Και στις τέσσερις ποικιλίες που μελετώνται φαίνεται πως τα σταφύλια που προήλθαν από τα πρέμνα που δεν έγινε καμία επέμβαση παρουσιάζουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ολικά στερεά, άρα και υψηλότερους βαθμούς °Bé. Το Αγιωργίτικο και η Λημνιώνα φαίνεται να είναι πλουσιότερες σε ολικά στερεά στο γλεύκος τους, ενώ η Μανδηλαριά από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα έχει τον χαμηλότερο βαθμό Baume, με μόλις 11°Bé.

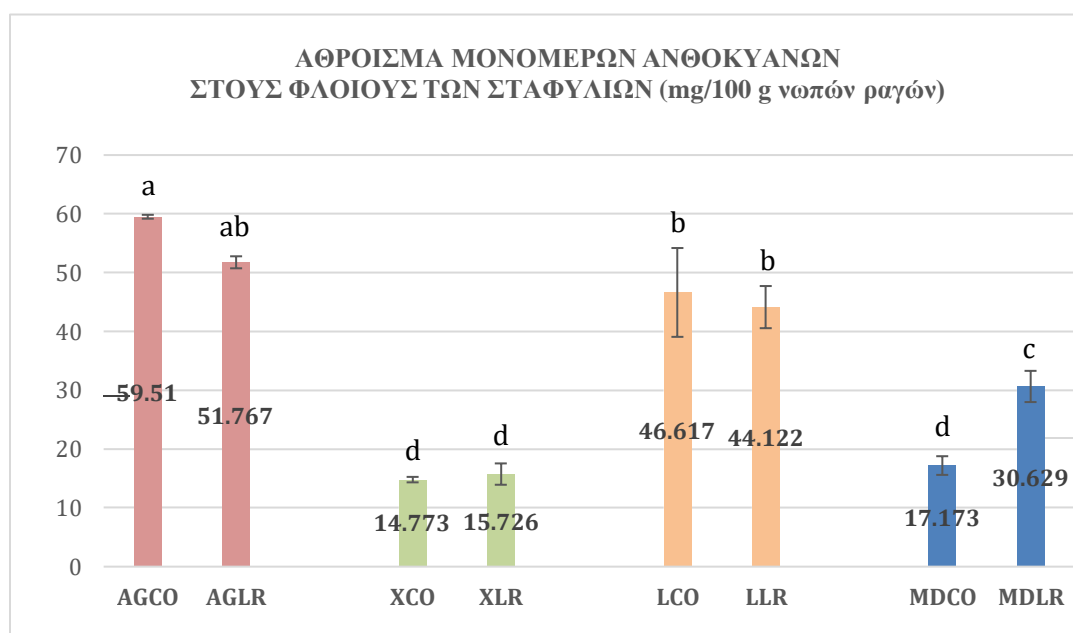


Γράφημα 5. Ολικά στερεά Baume (°Bé) του γλεύκος των δειγμάτων προζυμοτικά

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των αναλύσεων για τις μονομερείς ανθοκυάνες σε κάθε ποικιλία και την επίδραση που μπορεί να έχει το ξεφύλλισμα κατά το στάδιο του περκασμού σε αυτές. Όπως αναφέρεται και στην προηγούμενη ενότητα, οι

αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε λυοφιλωμένο και αλεσμένο ιστό φλοιού που προέρχεται από υποδείγμα 50 ραγών. Για κάθε ποικιλία και κάθε επέμβαση έγιναν 3 επαναλήψεις στον προσδιορισμό των ανθοκυανών σε 3 υποδείγματα των 50 ραγών με την χρήση της υγρής χρωματογραφίας (HPLC).

Αρχικά, στο γράφημα 6 φαίνεται το άθροισμα του μέσου όρου της συγκέντρωσης των μονομερών ανθοκυανών στους φλοιούς εκφρασμένα σε mg/100g νωπών ραγών. Η ποικιλία που παρουσιάζει την μεγαλύτερη συγκέντρωση ανθοκυανών είναι το Αγιωργίτικο τόσο στα σταφύλια που προέρχονται από τον μάρτυρα με 59,51 mg/100g νωπών ραγών, όσο και από τα ξεφυλλισμένα με 51,77 mg/100g νωπών ραγών. Ακολουθεί η Λημιώνα και έπειτα η Μανδηλαριά και το Ξινόμαυρο με μικρότερη τιμή στον μάρτυρά του με 14,77 mg/100g νωπών ραγών. Η συνολική περιεκτικότητα των φλοιών σε ανθοκυάνες διαφέρει σημαντικά μεταξύ των ποικιλιών και χαρακτηρίζει την κάθε ποικιλία που μελετήθηκε, ενώ μόνο στην Μανδηλαριά παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά εντός της ποικιλίας μεταξύ του μάρτυρα και της επέμβασης, όπου η επέμβαση παρουσιάζει και μεγαλύτερο άθροισμα.

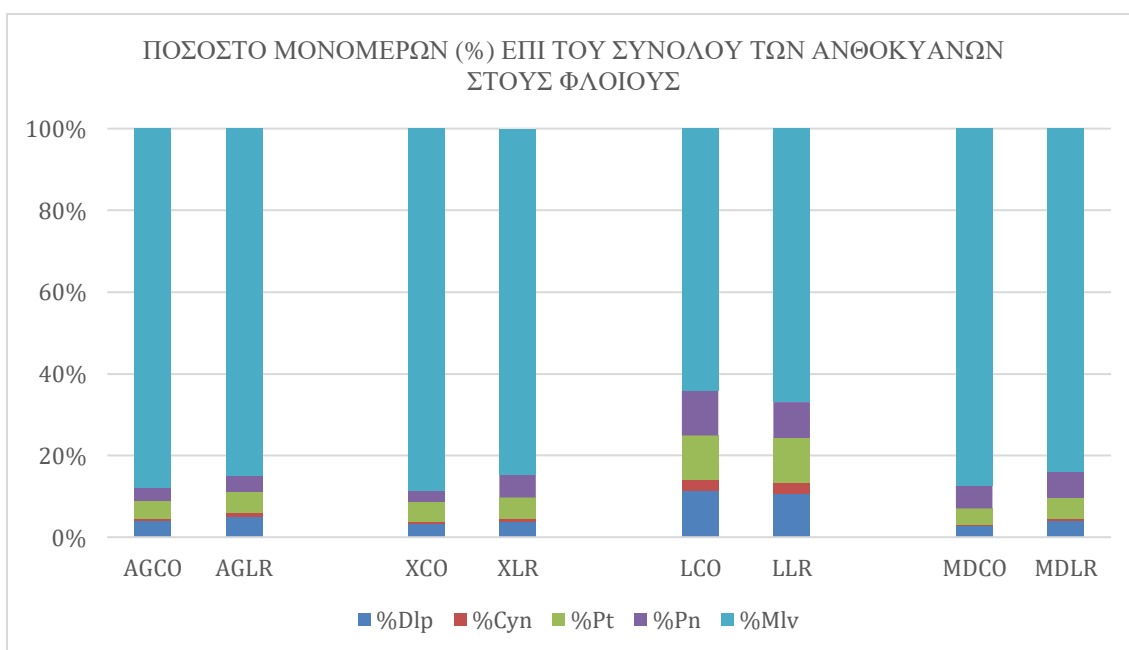


Γράφημα 6. Άθροισμα των μονομερών ανθοκυανών στους φλοιούς των δειγμάτων εκφρασμένο σε mg/100 g νωπών σταφυλιών. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (a,b) διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test HSD $p < 0.05$)

Αναλυτικότερα, στην ποικιλία Αγιωργίτικο και Λημιώνα το σύνολο φαίνεται να είναι μεγαλύτερο στους φλοιούς που προέρχονται από τις ράγες του μάρτυρα (CO) σε ποσοστό 7,74% και 2,50% αντίστοιχα, ενώ στο Ξινόμαυρο και τη Μανδηλαριά οι φλοιοί από τα ξεφυλλισμένα σταφύλια παρουσιάζουν μεγαλύτερο άθροισμα ανθοκυανών σε σχέση με το μάρτυρα σε ποσοστό 0,95% και 13,46% αντίστοιχα. Ωστόσο οι έρευνες αναφέρουν πως τα

σταφύλια παρουσιάζουν αυξημένη συγκέντρωση ανθοκυανών στα πρέμνα που έχει εφαρμοστεί ξεφύλλισμα (Crippen και Morrison, 1986, Reynolds et al., 1986, Smart et al., 1990, Mazza et al., 1999).

Στο γράφημα 7, παρουσιάζονται τα ποσοστά της μέσης τιμής των μονομερών ανθοκυανών, έπειτα από τον διαχωρισμό και την ποσοτικοποίησή τους με τη βοήθεια της ενόργανης ανάλυσης και συγκεκριμένα της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC) στο σύνολο κάθε ποικιλίας και επέμβασης. Παρατηρούμε ότι η Δημιώνα είναι η μόνη ποικιλία, η οποία περιέχει στον φλοιό της τον μονογλυκοζίτη της Κυανιδίνης σε υπολογίσιμο ποσοστό της τάξης του 2,5% τόσο στον μάρτυρα, όσο και στον φλοιό από τα ξεφυλλισμένα σταφύλια. Ακόμη στη Δημιώνα παρουσιάζεται ο πιο ισορροπημένος καταμερισμός στις συγκεντρώσεις των 5 κύριων μονομερών ανθοκυανών που μελετώνται. Ο μονογλυκοζίτης της Μαλβιδίνης σε όλες τις περιπτώσεις βρίσκεται στο μεγαλύτερο ποσοστό με το μάρτυρα του Ξινόμαυρου να είναι το υψηλότερο με 88,79%. Με μια πρώτη παρατήρηση των αποτελεσμάτων και συγκεκριμένα του προφίλ των ανθοκυανών στην κάθε ποικιλία παρατηρείται πως δεν υπάρχουν αξιοσημείωτες διαφορές μεταξύ του μάρτυρα και των ξεφυλλισμένων φυτών. Παρακάτω μελετάται αναλυτικότερα η επίδραση του ξεφυλλίσματος σε κάθε ποικιλία για κάθε μονομερή ανθοκυάνη ξεχωριστά.



Γράφημα 7. Ποσοστό των μονομερών ανθοκυανών επί του συνόλου των ανθοκυανών στους φλοιούς των σταφυλιών των δειγμάτων

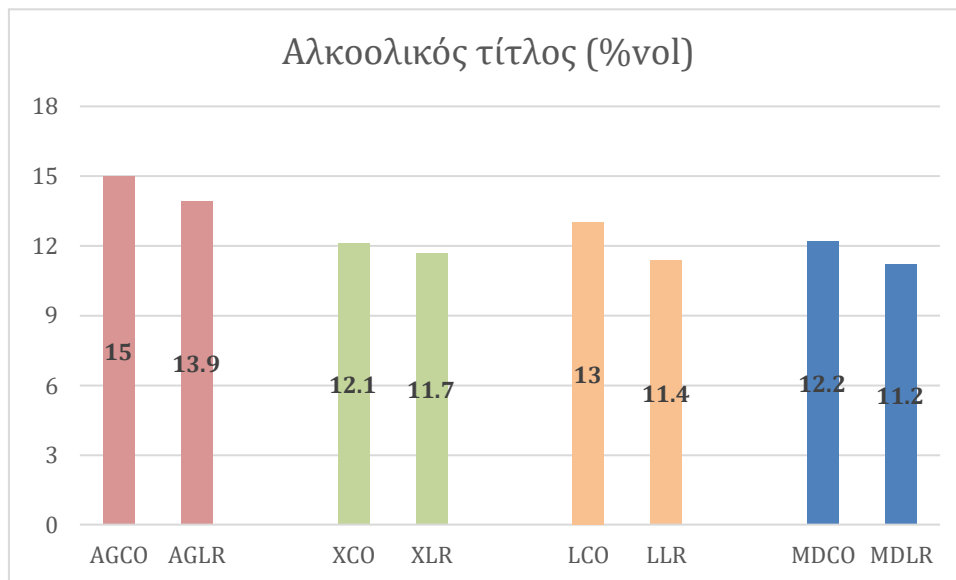
Πίνακας 4: Μέσες συγκεντρώσεις Δελφινιδίνης, Κυανιδίνης, Πετουνιδίνης, Παιονιδίνης και Μαλβιδίνης στα εκχυλίσματα φλοιών εκφρασμένα σε mg/100 g νερού βάρους ράγας. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέση τιμή (Μ.Τ) ± τυπική απόκλιση (Τ.Α)

Δείγματα	Δελφινιδίνη	Κυανιδίνη	Πετουνιδίνη	Παιονιδίνη	Μαλβιδίνη
AGCO	2.422±0.43	0.268±0.01	2.727±0.58	1.728±0.15	52.365±1.33
AGLR	2.684±0.14	0.355±0.03	2.715±0.12	2.004±0.13	44.009±0.96
XCO	0.497±0.06	0.056±0.01	0.724±0.05	0.379±0.07	13.117±0.32
XLR	0.59±0.04	0.107±0.02	0.825±0.06	0.893±0.20	13.311±1.55
LCO	5.332±1.55	1.163±0.86	5.104±1.63	5.087±1.95	29.931±1.77
LLR	4.684±0.76	1.159±0.21	4.845±0.62	3.876±0.45	29.558±1.76
MDCO	0.486±0.08	0.045±0.01	0.676±0.08	0.927±0.11	15.039±1.48
MDLR	1.271±0.37	0.138±0.05	1.61±0.39	1.841±0.37	25.769±1.55

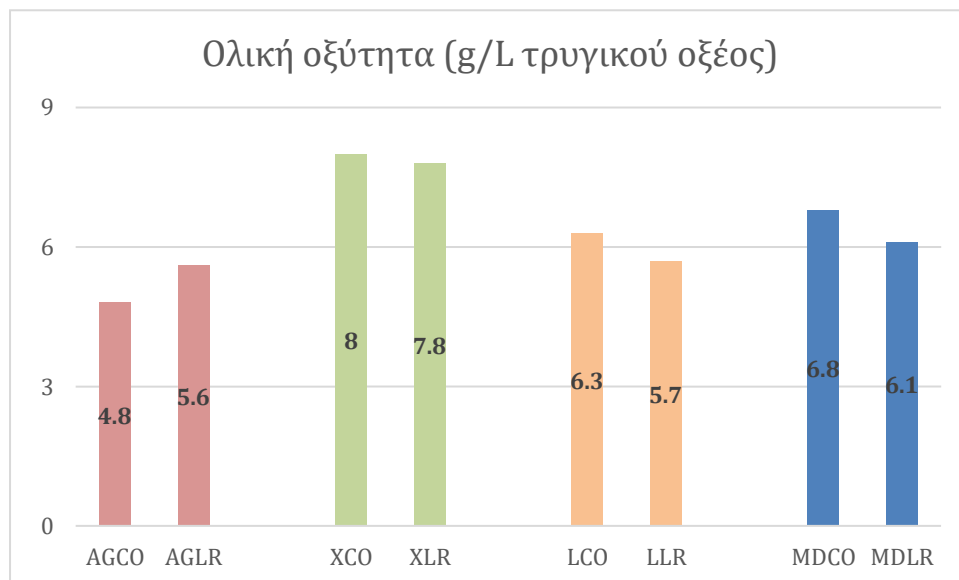
3.2. Επίδραση του ξεφυλλίσματος στους παραγόμενους οίνους

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά των οίνων που προέκυψαν από τα σταφύλια που τρυγήθηκαν από κάθε ποικιλία τόσο για τα φυτά μάρτυρες όσο και για τα σταφύλια που προέκυψαν από τα πρέμνα που ξεφυλλίστηκαν. Τα σταφύλια αυτά οινοποιήθηκαν ξεχωριστά με το ίδιο πρωτόκολλο, προκειμένου να αποτυπωθούν οι διαφορές της πρώτης ύλης στους παραγόμενους οίνους με το μικρότερο δυνατό σφάλμα. Αρχικά έγιναν οι βασικές αναλύσεις των οίνων και συγκεκριμένα προσδιορίστηκε ο αλκοολικός τίτλος, η ενεργός και η ολική οξύτητα, η πτητική οξύτητα και τα ανάγοντα σάκχαρα στο τέλος της αλκοολικής ζύμωσης.

Στο γράφημα 8 φαίνεται ο αλκοολικός τίτλος του οίνου που προέκυψε για την κάθε ποικιλία από τον μάρτυρα, καθώς και από τα ξεφυλλισμένα σταφύλια. Παρατηρούνται διαφορές τόσο μεταξύ των ποικιλιών όσο και μεταξύ του οίνου που προέρχεται από τις δύο συνθήκες. Υψηλότερος αλκοολικός τίτλος εντοπίζεται στο Αγιωργίτικο με 15%vol. να έχει ο μάρτυρας και 13,9% vol. ο οίνος από την επέμβαση. Ακολουθεί η Λημνιώνα, η Μανδηλαριά και το Ξινόμαυρο. Και στις 4 ποικιλίες παρατηρείται πως ο μάρτυρας έχει μεγαλύτερο αλκοολικό τίτλο από τον οίνο που έχει εφαρμοστεί η επέμβαση του ξεφυλλίσματος. Το γεγονός αυτό ήταν και αναμενόμενο καθώς οι βαθμοί °Bé στο γλεύκος από τα σταφύλια που δεν υπήρξε επέμβαση ήταν μεγαλύτεροι. Συμπεραίνεται, οπότε, πως το ξεφύλλισμα έχει αρνητική επίδραση στη συγκέντρωση των σακχάρων στη ράγα τα οποία κατά την αλκοολική ζύμωση θα παράγουν την αλκοόλη.



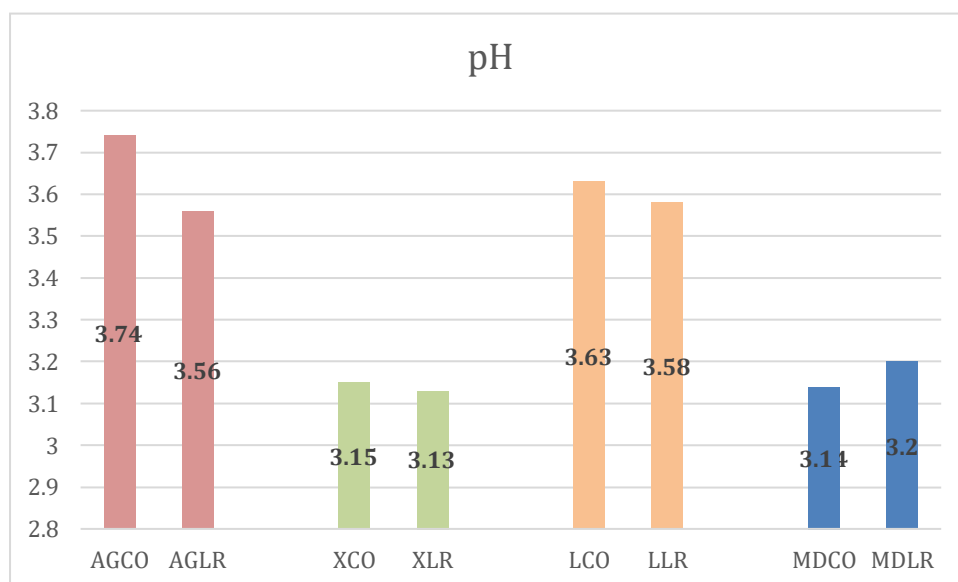
Γράφημα 8. Αλκοολικός τίτλος (% vol) των οίνων που προέκυψαν από τα σταφύλια των αγροτεμαχίων της κάθε περίπτωσης



Γράφημα 9: Ολική οξύτητα (g/L τρυγικού οξέος) των οίνων που προέκυψαν από τα σταφύλια των αγροτεμαχίων της κάθε περίπτωσης

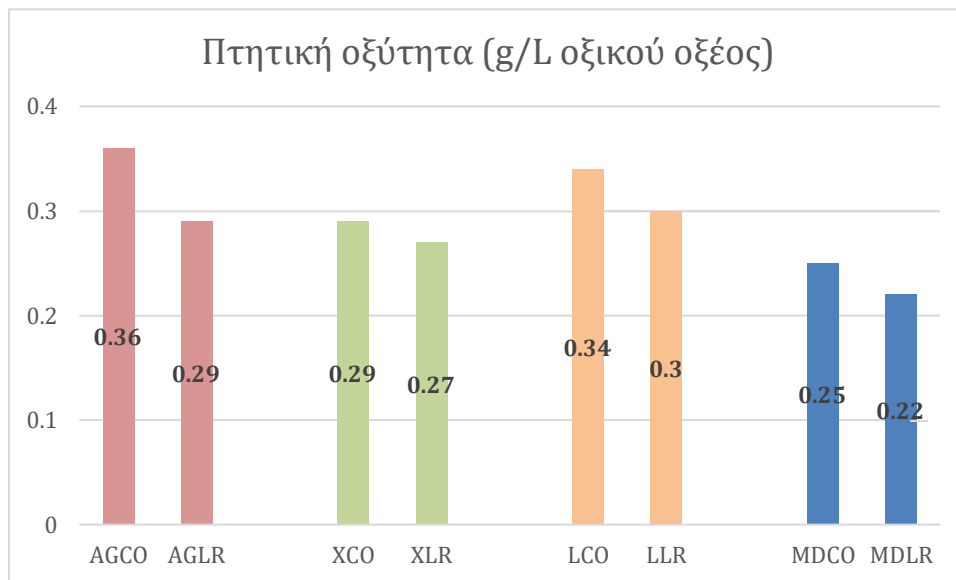
Στο γράφημα 9, φαίνεται η διαφοροποίηση των παραγόμενων οίνων ως προς την ολική οξύτητα εκφρασμένη σε g/L τρυγικού οξέος. Το Ξινόμαυρο παρουσιάζει ιδιαίτερα υψηλή οξύτητα, αναμενόμενα για την ποικιλία, ενώ το Αγιωργίτικο παρουσιάζει τη μικρότερη οξύτητα μεταξύ των ποικιλιών που μελετώνται. Στο Ξινόμαυρο, τη Λημνιώνα και τη Μανδηλαριά, ο μάρτυρας παρουσιάζει υψηλότερη ογκομετρούμενη οξύτητα, ενώ εξαίρεση αποτελεί το Αγιωργίτικο, με 4,8g/L στον μάρτυρα και 5,6g/L στον οίνο από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα. Το ξεφύλλισμα κατά τον περκασμό δεν φαίνεται να δρα καθοριστικά στην συγκέντρωση των οξέων και άρα στην ολική οξύτητα.

Στο γράφημα 10 παρατίθενται οι τιμές του pH των παραγόμενων οίνων. Οι τιμές σε όλες τις ποικιλίες κυμαίνονται σε αναμενόμενα επίπεδα με αμελητέα διακύμανση μεταξύ των επεμβάσεων και των μαρτύρων. Ο οίνος του Ξινόμαυρου που προήλθε από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα έχει την χαμηλότερη τιμή pH, 3,13, ενώ μεγαλύτερη τιμή pH έχει ο οίνος του Αγιωργίτικου που προήλθε από τον μάρτυρα με τιμή 3,74.



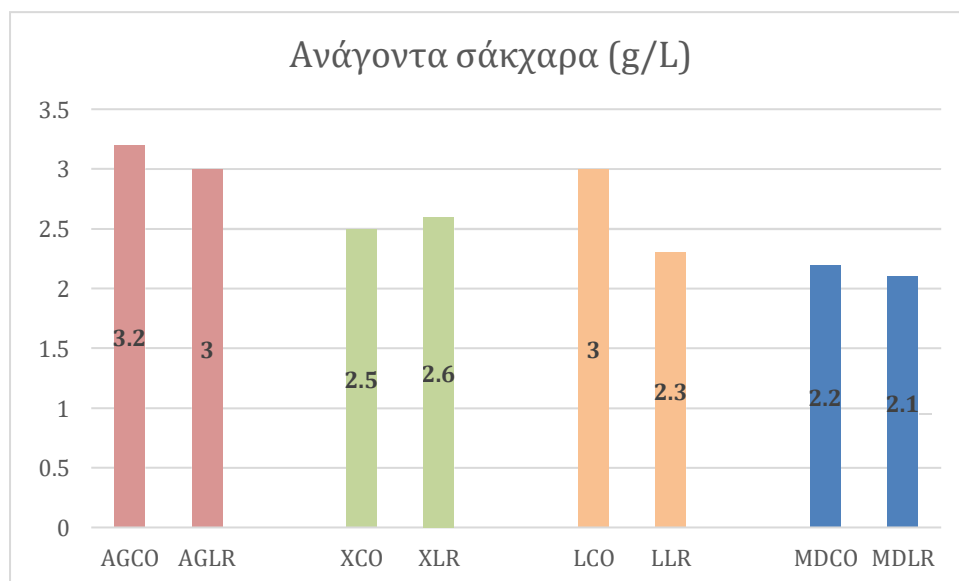
Γράφημα 10. pH των οίνων που προέκυψαν από τα σταφύλια των αγροτεμαχίων της κάθε περίπτωσης

Οι τιμές της πτητικής οξύτητας των οίνων σε g/L οξικού οξέος παρουσιάζονται στο γράφημα 11. Σε όλους τους εξεταζόμενους οίνους η πτητική οξύτητα κυμαίνεται σε φυσιολογικά επίπεδα και εντός των νόμιμων ορίων. Για όλες τις ποικιλίες, οι οίνοι που προέρχονται από τα σταφύλια-μάρτυρες παρουσιάζουν υψηλότερη πτητική οξύτητα σε σύγκριση με τους οίνους που προέρχονται από τα σταφύλια που έχει εφαρμοστεί ξεφύλλισμα. Σημειώνεται πως σε κάθε περίπτωση η πρώτη ύλη είναι υγιής και η αλκοολική ζύμωση εξελίχθηκε φυσιολογικά. Διαφοροποίηση σχετικά με την επίδραση της επέμβασης του ξεφυλλίσματος στη συγκέντρωση της πτητικής οξύτητας παρατηρείται μόνο στους οίνους του Αγιωργίτικου και της Λημνιώνας. Οι τιμές της πτητικής οξύτητας διαφέρουν μεταξύ των ποικιλιών. Συμπεραίνεται λοιπόν, πώς το ξεφύλλισμα κατά τον περκασμό, μπορεί να δώσει σταφύλια, τα οποία έπειτα από μια ομαλή αλκοολική ζύμωση θα παράξουν οίνους με χαμηλότερη πτητική οξύτητα.



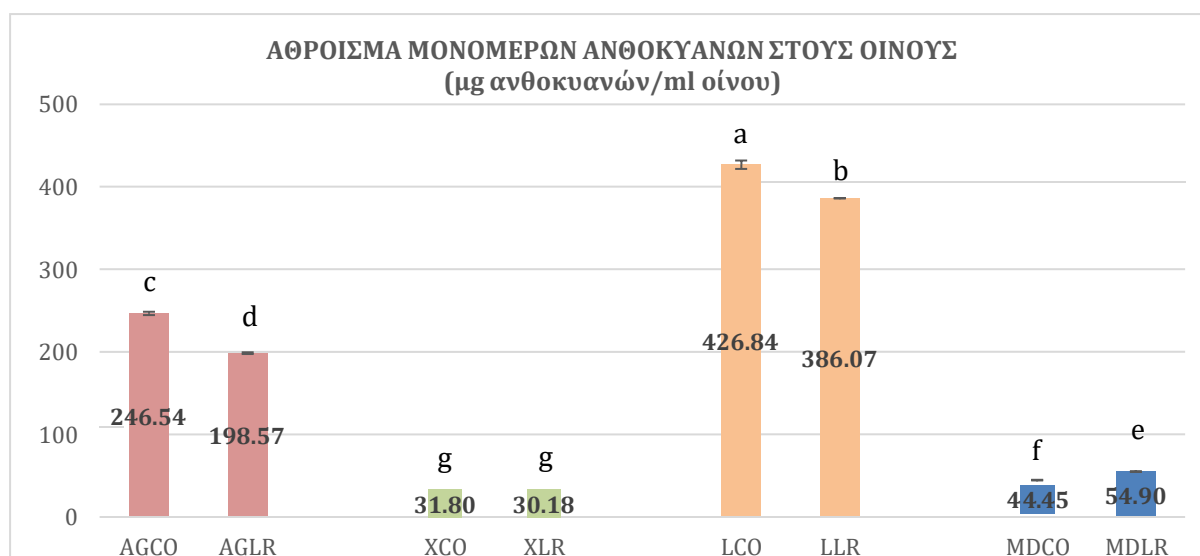
Γράφημα 11. Πτητική οξύτητα (g/L οξικού οξέος) των οίνων που προέκυψαν από τα σταφύλια των αγροτεμαχίων της κάθε περίπτωσης

Στο γράφημα 12, παρουσιάζονται οι τιμές της περιεκτικότητας των αναγόντων σακχάρων στους οίνους. Με την ανάλυση αυτή πιστοποιείται η ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης. Όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 12., όλοι οι οίνοι ολοκλήρωσαν επιτυχώς και ομαλά την αλκοολική ζύμωση. Δεν είναι σαφής η επιρροή του ξεφυλλίσματος σε αυτό το χαρακτηριστικό των οίνων. Την μεγαλύτερη διαφοροποίηση μεταξύ μάρτυρα και επέμβασης παρουσιάζει ο οίνος της Λημινιώνας. Στις υπόλοιπες τρεις εξεταζόμενες ποικιλίες δεν εντοπίζεται ιδιαίτερη διαφορά μεταξύ του οίνου-μάρτυρα και του οίνου από ξεφυλλισμένα σταφύλια κατά τον περκασμό.



Γράφημα 12. Ανάγοντα σάκχαρα (g/L) των οίνων που προέκυψαν από τα σταφύλια των αγροτεμαχίων της κάθε περίπτωσης

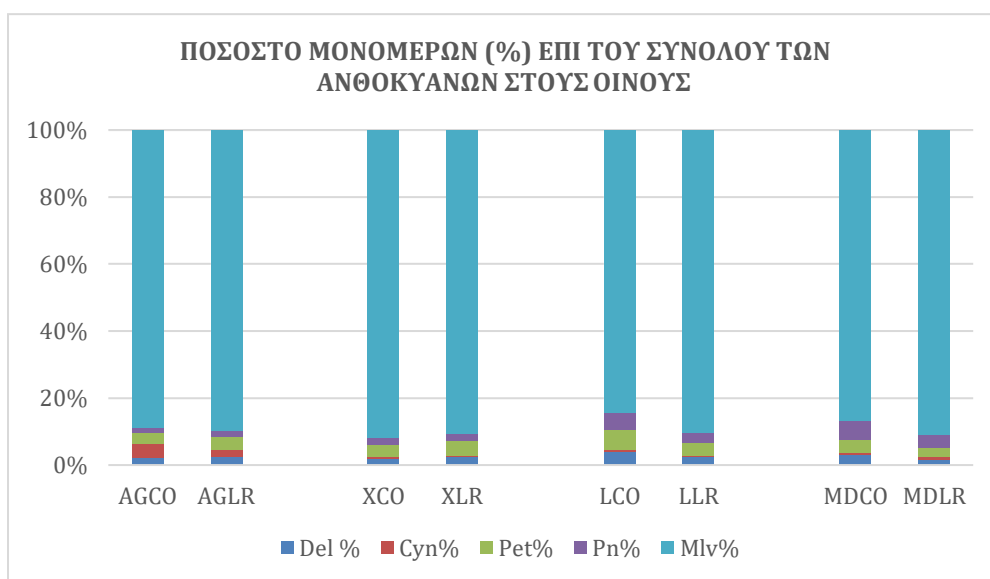
Το χρώμα των ερυθρών οίνων προκύπτει από την εκχύλιση των χρωστικών φαινολικών συστατικών, δηλαδή τον ανθοκυανών, που εντοπίζονται στους φλοιούς των σταφυλιών και συνυπάρχουν με το γλεύκος κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Η συγκέντρωση αλλά και το είδος των ανθοκυανών στους φλοιούς εξαρτάται από την ποικιλία, το κλίμα ανάπτυξης των σταφυλιών, τις καλλιεργητικές επεμβάσεις, αλλά και το στάδιο ωριμότητας τους κατά τον τρύγο. Για τον λόγο αυτό προσδιορίστηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν οι κύριες μονομερείς ανθοκυάνες με τη βοήθεια της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC) στους παραγόμενους οίνους. Συγκεκριμένα προσδιορίστηκαν οι μονογλυκοζίτες της Δελφινιδίνης, της Κυανιδίνης, της Πετουνιδίνης, της Παιονιδίνης και της Μαλβιδίνης. Για την κάθε ποικιλία και επέμβαση πραγματοποιήθηκαν 3 αναλυτικές επαναλήψεις. Στο γράφημα 13 παρουσιάζονται οι μέσοι όροι του αθροίσματος των μονομερών ανθοκυανών από τις 3 επαναλήψεις για κάθε ποικιλία και επέμβαση, εκφρασμένα σε μg ανθοκυανών/ml οίνου.



Γράφημα 13. Αθροισμα των μονομερών ανθοκυανών των οίνων που προέκυψαν από τα σταφύλια των αγροτεμαχίων της κάθε περίπτωσης εκφρασμένο σε μg ανθοκυανών/ml οίνου. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (a,b) διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test HSD $p < 0.05$)

Γίνεται εύκολα αντιληπτό πως υπάρχει σημαντική διακύμανση μεταξύ των ποικιλιών και το σύνολο των ανθοκυανών στους οίνους είναι χαρακτηριστικό για την κάθε ποικιλία. Την μεγαλύτερη συγκέντρωση σε μονομερείς ανθοκυάνες φαίνεται να έχουν οι οίνοι της Λημνιώνας με 426,84 μg ανθοκυανών/ml για τον οίνο που προέρχεται από τον μάρτυρα και 386,07 μg ανθοκυανών/ml για τον οίνο από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα. Ακολουθεί το Αγιωργίτικο, έπειτα η Μανδηλαριά και τέλος το Ξινόμαυρο, στο οποίο και δεν διαφέρει σημαντικά ο οίνος-μάρτυρας με την επέμβαση. Οι υπόλοιποι οίνοι που προέρχονται από τον μάρτυρα παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη συνολική συγκέντρωση σε

ανθοκυάνες συγκριτικά με τον οίνο που προέρχεται από τα σταφύλια που έχει εφαρμοστεί ξεφύλλισμα. Εξάιρεση αποτελεί η Μανδηλαριά, όπου ισχύει το αντίστροφο, με σημαντική διαφορά και πάλι.



Γράφημα 14. Ποσοστό των μονομερών ανθοκυανών επί του συνόλου των ανθοκυανών των οίνων που προέκυψαν από τα σταφύλια των αγροτεμαχίων της κάθε περίπτωσης

Πίνακας 5: Μέσες συγκεντρώσεις Δελφινιδίνης, Κυανιδίνης, Πετουινιδίνης, Παιονιδίνης και Μαλβιδίνης στους οίνους, εκφρασμένα σε $\mu\text{g}/\text{mL}$ οίνου. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέση τιμή (Μ.Τ) \pm τυπική απόκλιση (Τ.Α)

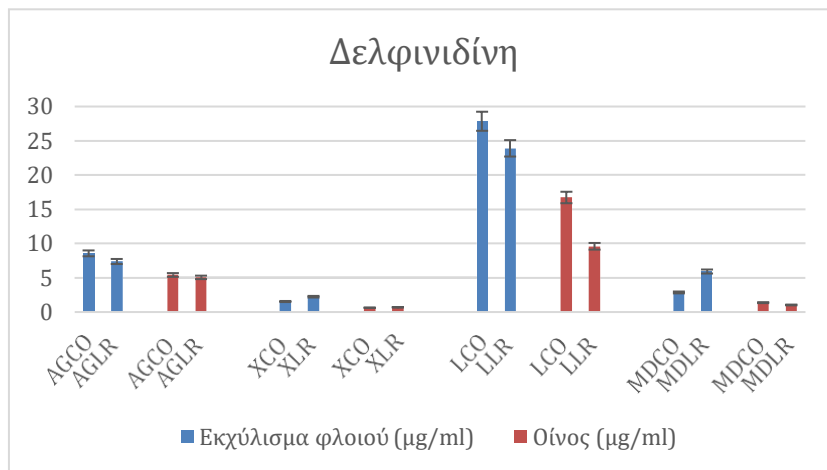
Δείγματα	Δελφινιδίνη	Κυανιδίνη	Πετουινιδίνη	Παιονιδίνη	Μαλβιδίνη
AGCO	5.415 \pm 0.03	9.724 \pm 1.62	8.413 \pm 0.56	4.062 \pm 0.02	218.932 \pm 3.10
AGLR	5.058 \pm 0.43	3.95 \pm 1.58	7.621 \pm 0.26	3.542 \pm 0.12	178.395 \pm 0.63
XCO	0.619 \pm 0.02	0.156 \pm 0.01	1.144 \pm 0.19	0.633 \pm 0.00	29.251 \pm 0.03
XLR	0.696 \pm 0.16	0.136 \pm 0.00	1.365 \pm 0.67	0.625 \pm 0.11	27.362 \pm 0.33
LCO	16.718 \pm 1.06	2.327 \pm 0.80	26.414 \pm 2.59	21.05 \pm 0.11	360.327 \pm 0.53
LLR	9.596 \pm 0.06	0.831 \pm 0.02	15.771 \pm 0.14	11.872 \pm 0.01	348 \pm 0.26
MDCO	1.36 \pm 0.04	0.258 \pm 0.01	1.668 \pm 0.01	2.614 \pm 0.03	38.551 \pm 0.31
MDLR	1.035 \pm 0.02	0.259 \pm 0.11	1.534 \pm 0.01	2.212 \pm 0.00	49.857 \pm 0.20

Όσο αφορά την ποσοστιαία κατανομή των 5 μονομερών ανθοκυανών στην κάθε περίπτωση οίνου φαίνεται, όπως είναι αναμενόμενο, η Μαλβιδίνη να αποτελεί την κύρια ανθοκυάνη όλων των οίνων σε ποσοστά που κυμαίνονται από 84% έως 91%, ακολουθεί η Πετουινιδίνη σε ποσοστά από μόλις 2% έως 6% και η Παιονιδίνη από 1% έως 5%. Οι Κυανιδίνη ανιχνεύεται σε ίχνη και μόνο στους οίνους του Αγιωργίτικου βρίσκεται σε

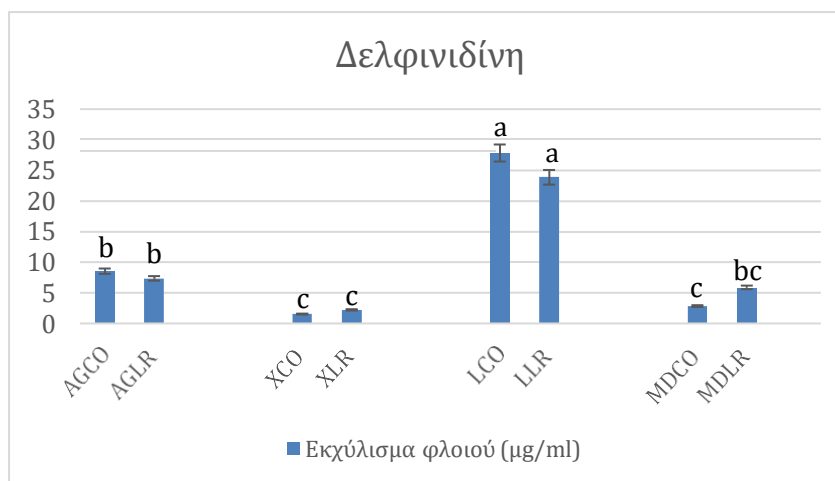
αξιοσημείωτο ποσοστό. Η εφαρμογή του ξεφυλλίσματος των σταφυλιών κατά τον περκασμό δεν φαίνεται να μεταβάλλει την κατανομή των μονομερών ανθοκυανών στους παραγόμενους οίνους.

3.3. Συγκεντρώσεις των πέντε κύριων μονομερών ανθοκυανών σε σταφύλια και οίνους

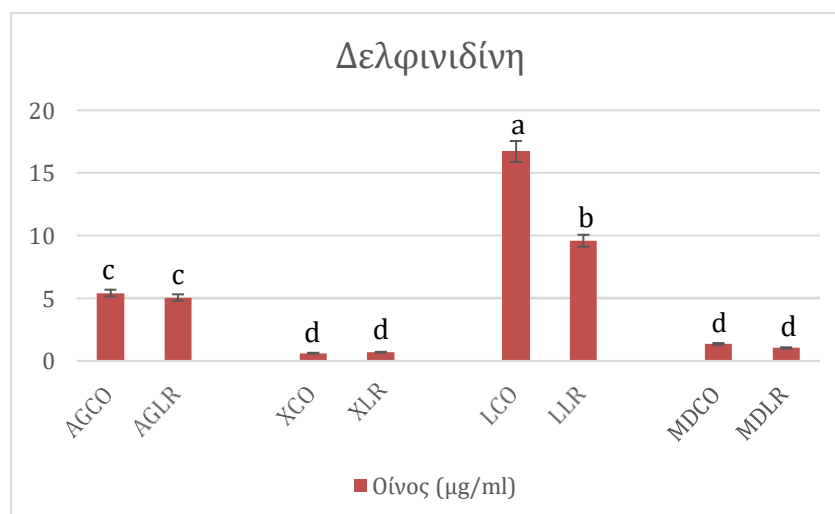
Στα παρακάτω γραφήματα παρουσιάζονται αναλυτικά οι συγκεντρώσεις της κάθε μονομερούς ανθοκυανής τόσο στο εκχύλισμα του φλοιού των σταφυλιών όσο και στους οίνους για την κάθε πειραματική μονάδα εκφρασμένα σε $\mu\text{g/mL}$ εκχυλίσματος και $\mu\text{g/mL}$ οίνου αντίστοιχα. Ξεκινώντας με τη Δελφινιδίνη στα γραφήματα 15, 15α και 15β, παρατηρούμε πως η μεγαλύτερη συγκέντρωση μεταξύ των ποικιλιών συναντάται στη Λημνιώνα, τόσο στον φλοιό των σταφυλιών όσο και στους παραγόμενους οίνους. Ακολουθεί το Αγιωργίτικο, η Μανδηλαριά και τέλος το Ξινόμαυρο. Όπως είναι αναμενόμενο οι τιμές των συγκεντρώσεων στα εκχυλίσματα των φλοιών είναι υψηλότερες από τις συγκεντρώσεις στους οίνους. Για το Αγιωργίτικο, την Λημνιώνα και την Μανδηλαριά, ο μάρτυρας σε φλοιούς και παραγόμενους οίνους παρουσιάζει υψηλότερη συγκέντρωση σε Δελφινιδίνη, σε σχέση με τις πειραματικές μονάδες που είχαν υποστεί ξεφύλλισμα. Αντίθετα για το Ξινόμαυρο, που οι συγκεντρώσεις είναι και οι μικρότερες μεταξύ των ποικιλιών, παρατηρούνται μεγαλύτερες συγκεντρώσεις Δελφινιδίνης στους φλοιούς και τους οίνους που προέρχονται από τα σταφύλια που ξεφυλλίστηκαν. Συνολικά εντοπίζεται σημαντικά στατιστική διαφορά τις συγκεντρώσεις του μονογλυκοζίτη της Δελφινιδίνης μεταξύ των ποικιλιών τόσο για το εκχύλισμα του φλοιού όσο και για τους οίνους, με εξαίρεση τους οίνους του Ξινόμαυρου και της Μανδηλαριάς που η συγκέντρωση της Δελφινιδίνης δεν διαφέρει σημαντικά. Σημειώνεται πως το ξεφύλλισμα δεν φαίνεται να επηρεάζει τη συγκέντρωση της Δελφινιδίνης στους φλοιούς αλλά και τους παραγόμενους οίνους της κάθε ποικιλίας.



Γράφημα 15. Μέσες συγκεντρώσεις του μονογλυκοζιτη της Δελφινιδίνης (μg/mL) στο εκχύλισμα των φλοιών και στους παραγόμενους οίνους της κάθε περίπτωσης όπως προέκυψαν από την HPLC

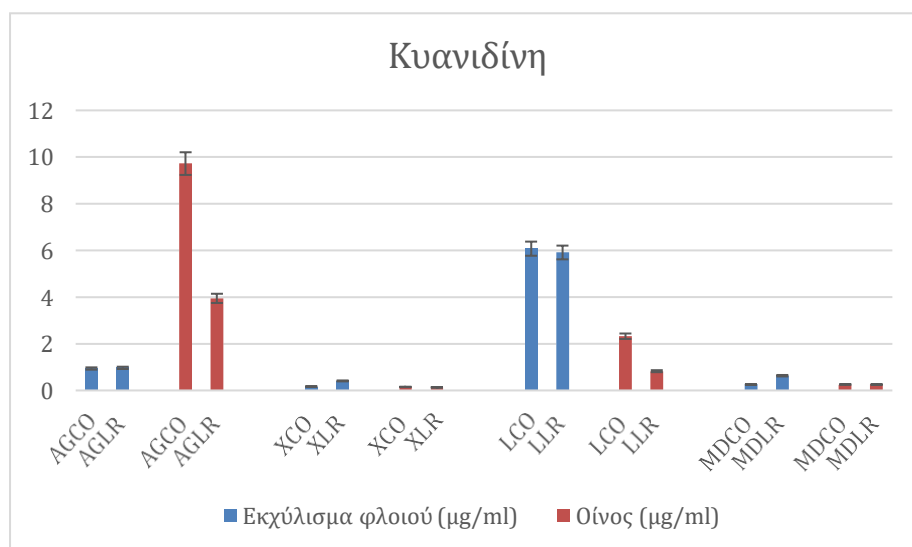


Γράφημα 15α. Μέσες συγκεντρώσεις του μονογλυκοζιτη της Δελφινιδίνης (μg/mL) στο εκχύλισμα των φλοιών της κάθε περίπτωσης όπως προέκυψαν από την HPLC. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (a,b) διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test HSD $p < 0.05$)

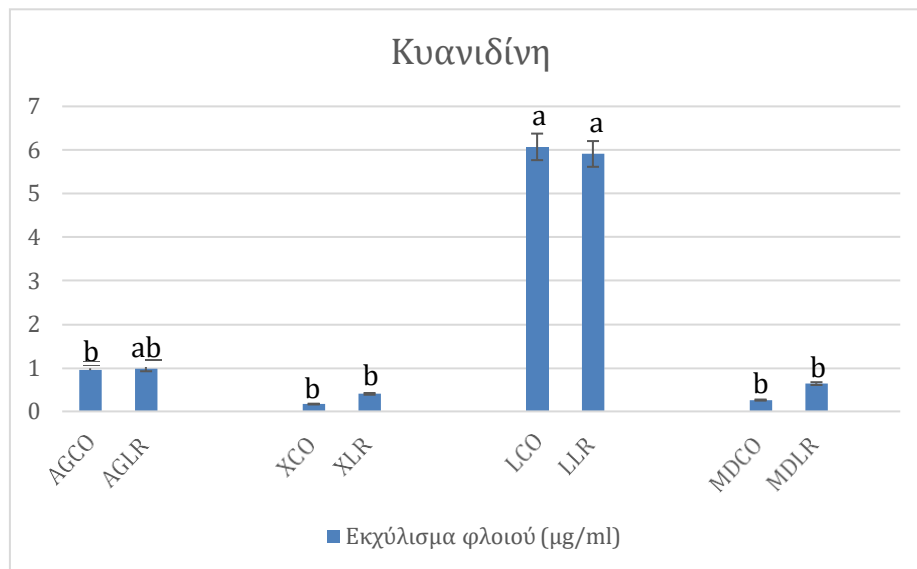


Γράφημα 15β. Μέσες συγκεντρώσεις του μονογλυκοζιτη της Δελφινιδίνης (μg/mL) στους παραγόμενους οίνους της κάθε περίπτωσης όπως προέκυψαν από την HPLC. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (a,b) διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test HSD $p < 0.05$)

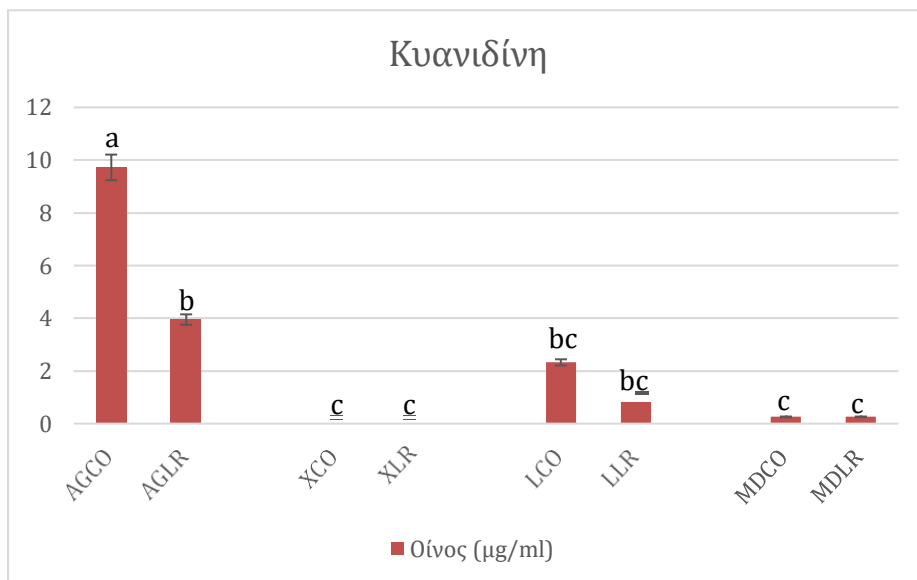
Αναφορικά με τη συγκέντρωση της Κυανιδίνης στα εκχυλίσματα των φλοιών αλλά και τα παραγόμενων οίνων, την εντοπίζουμε σε ίχνη σε όλες τις ποικιλίες και επεμβάσεις, όπως φαίνεται και στα γραφήματα 16, 16α και 16β, καταλαμβάνοντας το μικρότερο ποσοστό επί του συνόλου των ανθοκυανών σε κάθε πειραματική μονάδα. Αξίζει να σημειωθούν τα υψηλότερα ποσοστά που εντοπίζονται στους οίνους του Αγιωργίτικου, ενώ αντίστοιχα δεν εντοπίζονται στους φλοιούς των σταφυλιών της ίδιας ποικιλίας. Ακόμη, η διακύμανση της συγκέντρωσης του μονογλυκοζίτη της Κυανιδίνης είναι σημαντική μεταξύ του οίνου μάρτυρα και τις επέμβασης. Παράλληλα, άξιο αναφοράς είναι και η παρουσία της Κυανιδίνης στους φλοιούς της Λημιώνας, χωρίς ωστόσο να παρατηρείται σημαντική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα και των σταφυλιών που εφαρμόστηκε ξεφύλλισμα. Γενικά, δεν μπορεί να βγει κάποιο ασφαλές συμπέρασμα σχετικά με την επίδραση του ξεφύλλισματος στον συγκεκριμένο μονογλυκοζίτη, ωστόσο μπορούμε να παρατηρήσουμε πως η παρουσία του είναι χαρακτηριστική στην ποικιλία της Λημιώνας.



Γράφημα 16. Μέσες συγκεντρώσεις του μονογλυκοζίτη της Κυανιδίνης (µg/mL) στο εκχύλισμα των φλοιών και στους παραγόμενους οίνους της κάθε περίπτωσης όπως προέκυψαν από την HPLC



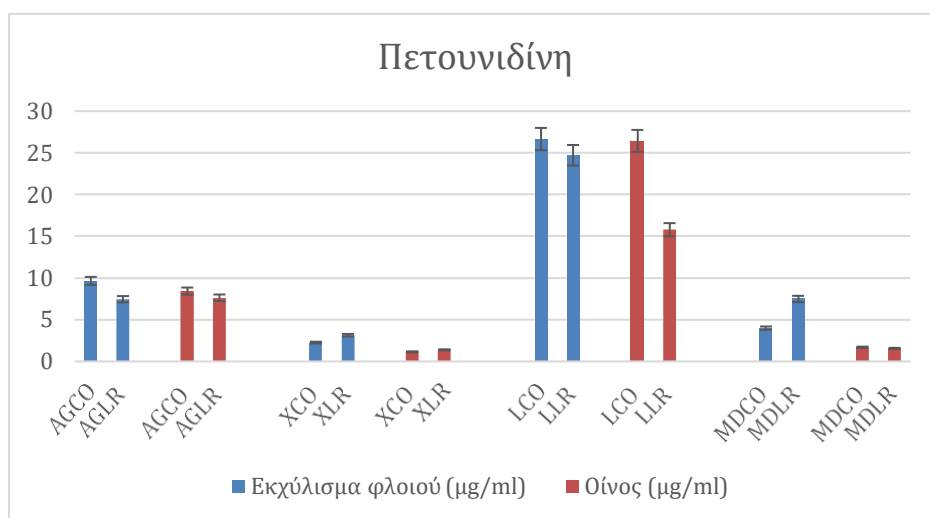
Γράφημα 16α. Μέσες συγκεντρώσεις του μονογλυκοζίτη της Κυανιδίνης (µg/mL) στο εκχύλισμα των φλοιών της κάθε περίπτωσης όπως προέκυψαν από την HPLC. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (a,b) διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test HSD $p < 0.05$)



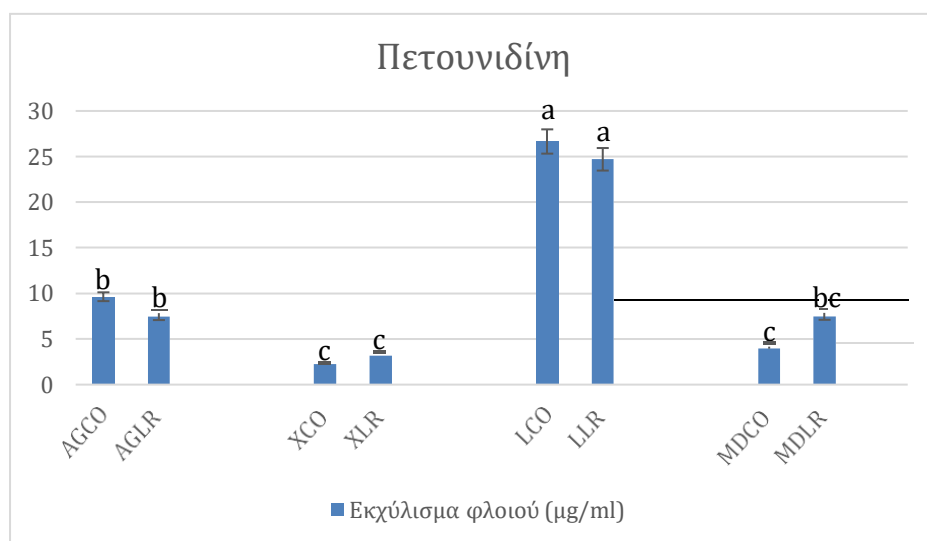
Γράφημα 16β. Μέσες συγκεντρώσεις του μονογλυκοζίτη της Κυανιδίνης (µg/mL) στους παραγόμενους οίνους της κάθε περίπτωσης όπως προέκυψαν από την HPLC. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (a,b) διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test HSD $p < 0.05$)

Όπως φαίνεται στα γραφήματα 17, 17α και 17β, η μέση συγκέντρωση της Πετουινιδίνης παρουσιάζεται μεγαλύτερη στους μάρτυρες των φλοιών και των οίνων σε Αγιωργίτικο και Λημιώνα, ενώ στο Ξινόμαυρο και τη Μανδηλαριά παρατηρείται μεγαλύτερη μέση συγκέντρωση στους φλοιούς και τους οίνους που προήλθαν από τα σταφύλια που είχαν υποστεί ξεφύλλισμα κατά τον περκασμό. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση της Πετουινιδίνης παρατηρείται στη Λημιώνα τόσο στους φλοιούς όσο και στους οίνους με 26,6 µg/ml και 24,7 µg/ml στους φλοιούς του μάρτυρα και της επέμβασης αντίστοιχα και 26,4µg/ml και 15,8µg/ml στους οίνους της Λημιώνας για τον μαρτυρά και την επέμβαση. Χαρακτηριστική είναι η

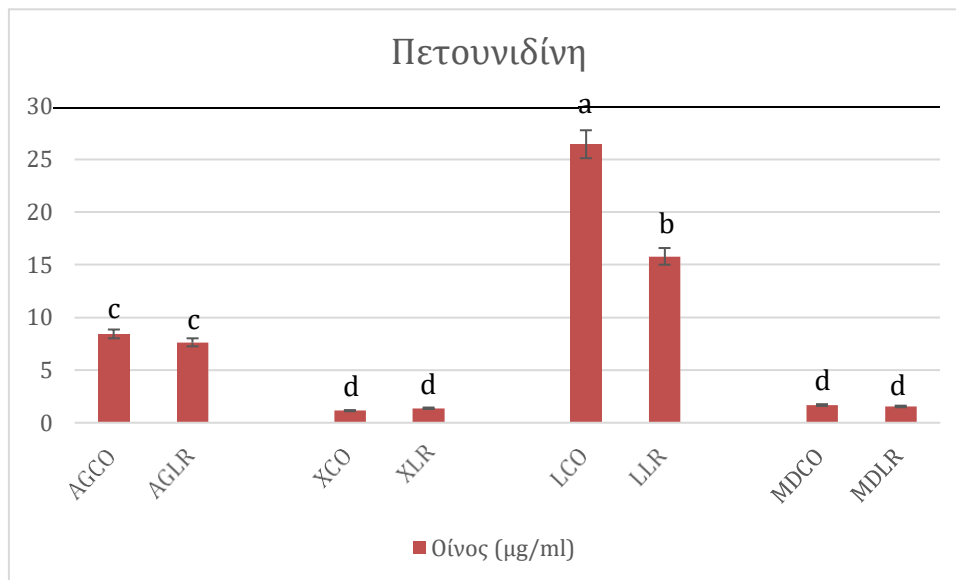
σημαντική διακύμανση που εντοπίζεται μεταξύ του μάρτυρα και της επέμβασης στον οίνο της Λημνιώνας.



Γράφημα 17. Μέσες συγκεντρώσεις του μονογλυκοζίτη της Πετουνιδίνης (μg/mL) στο εκχύλισμα των φλοιών και στους παραγόμενους οίνους της κάθε περίπτωσης όπως προέκυψαν από την HPLC

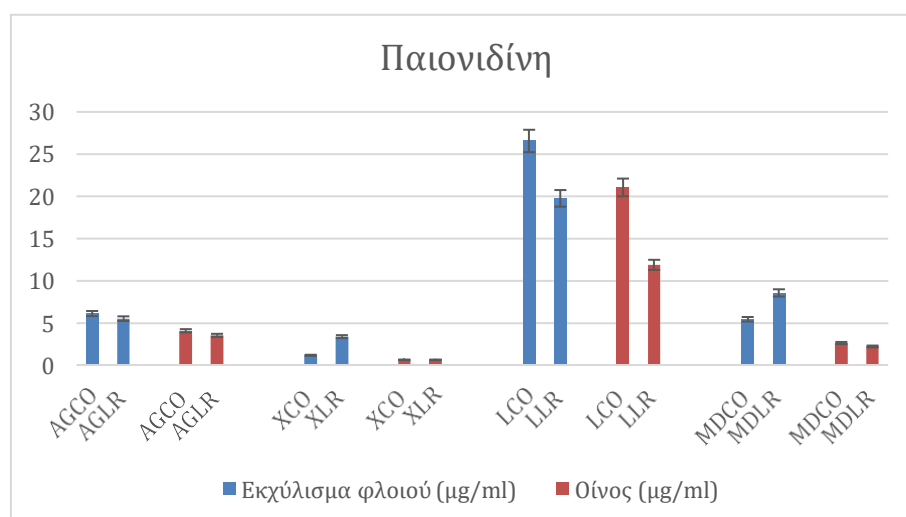


Γράφημα 17α. Μέσες συγκεντρώσεις του μονογλυκοζίτη της Πετουνιδίνης (μg/mL) στο εκχύλισμα των φλοιών της κάθε περίπτωσης όπως προέκυψαν από την HPLC. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (a,b) διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test HSD $p < 0.05$)

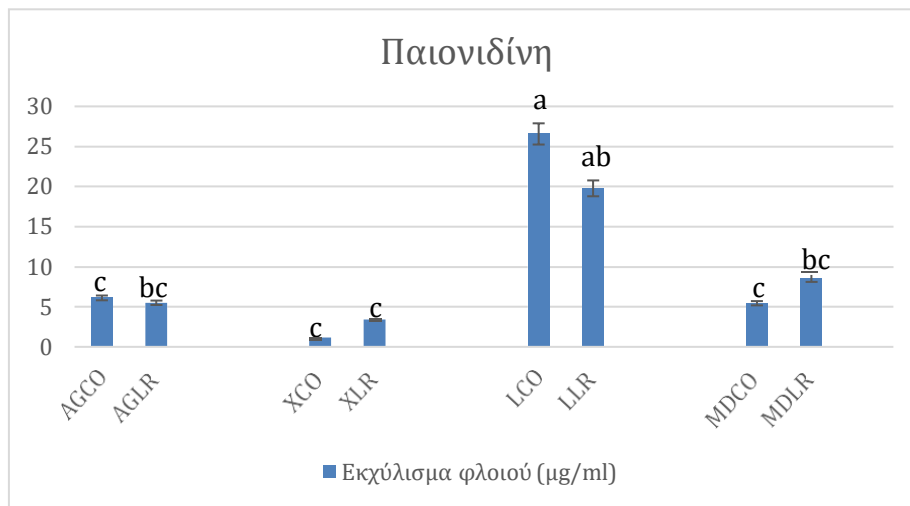


Γράφημα 17β. Μέσες συγκεντρώσεις του μονογλυκοζίτη της Δελφινιδίνης (μg/mL) στους παραγόμενους οίνους της κάθε περίπτωσης όπως προέκυψαν από την HPLC. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (a,b) διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test HSD $p < 0.05$)

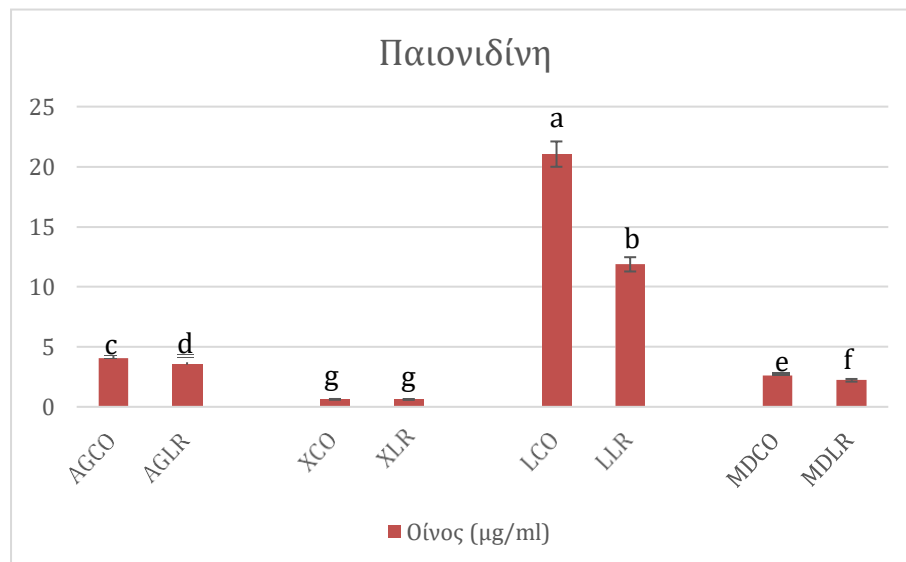
Το ξεφύλλισμα φαίνεται να επηρέασε αρνητικά την συγκέντρωση της Παιονιδίνης σε φλοιούς και οίνους για το Αγιωργίτικο και την Λημιώνα, ενώ φαίνεται η θετική επίδραση στους φλοιούς του Ξινόμαυρου και της Μανδηλαριάς, όπως φαίνεται στα γραφήματα 18, 18α και 18β. Η Λημιώνα παρουσιάζει με στατιστικά σημαντική διαφορά την μεγαλύτερη συγκέντρωση σε Παιονιδίνη σε όλες τις επεμβάσεις τόσο στα σταφύλια όσο και στους οίνους που προκύπτουν από αυτά. Ακόμη αξίζει να σημειωθεί η στατιστικά σημαντική διαφορά που παρατηρείται στις συγκεντρώσεις της Παιονιδίνης στους οίνους του Αγιωργίτικου, της Μανδηλαριάς και της Λημιώνας μεταξύ του μάρτυρα και αυτού που προήλθε από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα.



Γράφημα 18. Μέσες συγκεντρώσεις του μονογλυκοζίτη της Παιονιδίνης (μg/mL) στο εκχύλισμα των φλοιών και στους παραγόμενους οίνους της κάθε περίπτωσης όπως προέκυψαν από την HPLC

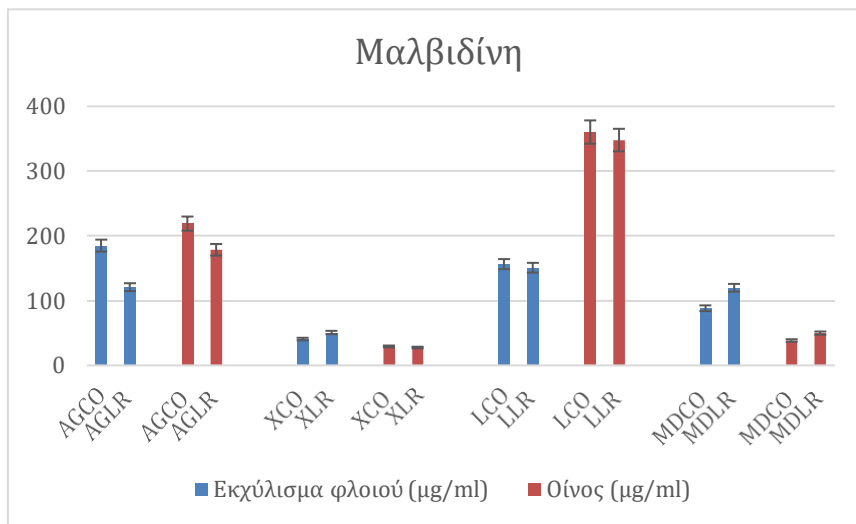


Γράφημα 18α. Μέσες συγκεντρώσεις του μονογλυκοζίτη της Παιονιδίνης (μg/mL) στο εκχύλισμα των φλοιών της κάθε περίπτωσης όπως προέκυψαν από την HPLC. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (a,b) διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test HSD $p < 0.05$)

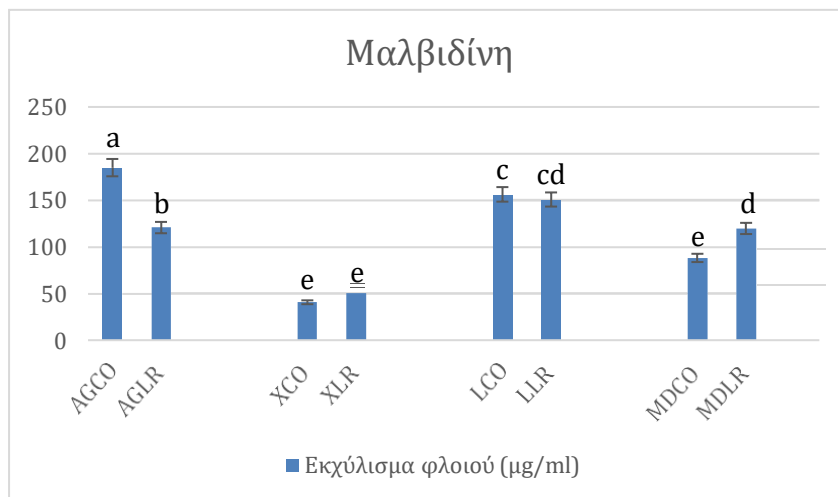


Γράφημα 18β. Μέσες συγκεντρώσεις του μονογλυκοζίτη της Παιονιδίνης (μg/mL) στους παραγόμενους οίνους της κάθε περίπτωσης όπως προέκυψαν από την HPLC. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (a,b) διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test HSD $p < 0.05$)

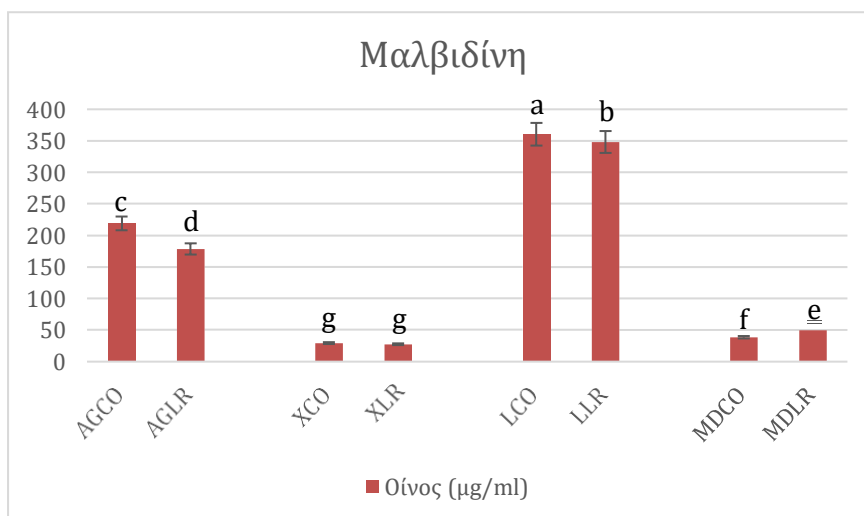
Η Μαλβιδίνη, όπως παρουσιάζεται και στα γραφήματα 19, 19α και 19β αποτελεί αναμενόμενα την κύρια μονομερή ανθοκυάνη όλων των ποικιλιών τόσο στους φλοιούς των σταφυλιών, όσο και στους παραγόμενους οίνους. Τα επίπεδα της συγκέντρωσής της κυμαίνονται από 27,3 μg/ml όπως φαίνεται στους οίνους που προήλθαν από την επέμβαση τους ξεφυλλίσματος στο Ξινόμαυρο και φτάνει μέχρι τα 360,3 μg/ml στους οίνους του μάρτυρα της Δημιονάσας. Στα εκχυλίσματα των φλοιών αλλά και στους παραγόμενους οίνους του Αγιωργίτικου και της Μανδηλαριάς παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά στην συγκέντρωση της Μαλβιδίνης μεταξύ του μάρτυρα και της επέμβασης. Το ξεφύλλισμα στο Αγιωργίτικο φαίνεται να επιδρά αρνητικά, ενώ το αντίστροφο ισχύει για την Μανδηλαριά.



Γράφημα 19. Μέσες συγκεντρώσεις του μονογλυκοζίτη της Μαλβιδίνης (µg/mL) στο εκχύλισμα των φλοιών και στους παραγόμενους οίνους της κάθε περίπτωσης όπως προέκυψαν από την HPLC



Γράφημα 19α. Μέσες συγκεντρώσεις του μονογλυκοζίτη της Μαλβιδίνης (µg/mL) στο εκχύλισμα των φλοιών της κάθε περίπτωσης όπως προέκυψαν από την HPLC. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (a,b) διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test HSD $p < 0.05$)



Γράφημα 19β. Μέσες συγκεντρώσεις του μονογλυκοζίτη της Μαλβιδίνης (µg/mL) στους παραγόμενους οίνους της κάθε περίπτωσης όπως προέκυψαν από την HPLC. Τιμές με διαφορετικά γράμματα (a,b) διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Tukey's test HSD $p < 0.05$)

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η επίδραση του ξεφυλλίσματος κατά τον περκασμό σε μερικά χαρακτηριστικά και κυρίως στο ανθοκυανικό προφίλ των σταφυλιών και των οίνων τεσσάρων εμβληματικών ελληνικών ερυθρών ποικιλιών: του Ξινόμαυρου, του Αγιωργίτικου, της Λημνιάνας, και της Μανδηλαριάς.

Αρχικά, όσον αφορά το βάρος της ράγας, φάνηκε η Λημνιάνα να έχει το μεγαλύτερο μέσο βάρος ράγας μεταξύ των ποικιλιών που μελετήθηκαν, ενώ το Ξινόμαυρο αντίστοιχα έχει το μικρότερο βάρος. Με το ξεφύλλισμα κατά τον περκασμό παρατηρήθηκε αύξηση του βάρους της ράγας για όλες τις ποικιλίες, αντίθετα με προηγούμενες έρευνες που το ξεφύλλισμα έχει ως αποτέλεσμα μικρότερες και πιο ελαφριές ράγες. Ταυτόχρονα, το βάρος του φλοιού της ράγας δεν φαίνεται να επηρεάστηκε σαφώς από το ξεφύλλισμα που πραγματοποιήθηκε στον περκασμό, καθώς μόνο στο Αγιωργίτικο ήταν μεγαλύτερο στα σταφύλια από τα ξεφυλλισμένα πρέμνα. Παρατηρείται πως η μελέτη του βάρους της σταφυλής και της μέσης παραγωγής ανά πρέμνο θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε ασφαλέστερα συμπεράσματα για την επίδραση του ξεφυλλίσματος στην συνολική παραγωγή της κάθε ποικιλίας και καλό θα ήταν να εξεταστούν σε μεταγενέστερες μελέτες.

Επιπλέον, σχετικά με τις βασικές αναλύσεις του γλεύκους σε κάθε ποικιλία (ολική οξύτητα, pH, Baume), το ξεφύλλισμα φαίνεται να επηρεάζει αρνητικά την συγκέντρωση των ολικών στερεών και το γλεύκος που προέρχεται από τα σταφύλια των ξεφυλλισμένων πρέμνων παρουσίασε χαμηλότερους βαθμούς Baume (°Bé) σε όλες της ποικιλίες που μελετήθηκαν. Παρατηρείται, ωστόσο, πως το Ξινόμαυρο έχει την μεγαλύτερη συγκέντρωση οξέων στο γλεύκος και το χαμηλότερο pH.

Συνεχίζοντας με το σύνολο των ανθοκυανών για κάθε ποικιλία, ήταν αναμενόμενο οι συγκεντρώσεις να είναι αυξημένες στους φλοιούς που εφαρμόστηκε ξεφύλλισμα, καθώς είναι γνωστό πως η έκθεση των σταφυλιών στην ηλιακή ακτινοβολία επιδρά θετικά στην αύξηση των ανθοκυανών, ωστόσο αυτό συνέβη σε δύο από τις τέσσερις ποικιλίες, την Μανδηλαριά και το Ξινόμαυρο. Ακόμη παρατηρήθηκε πως την υψηλότερη συνολική συγκέντρωση ανθοκυανών παρουσιάζει το Αγιωργίτικο, ενώ το Ξινόμαυρο την χαμηλότερη.

Τέλος αξίζει να σημειωθεί πως όσο αφορά την συγκέντρωση των μονομερών ανθοκυανών στους φλοιούς, ο μονογλυκοζίτης της Μαλβιδίνης, αναμενόμενα, παρουσιάζεται σε μεγαλύτερο ποσοστό σε όλες τις ποικιλίες και τις περιπτώσεις, ενώ ο μονογλυκοζίτης της Κυανιδίνης ανιχνεύεται σε αξιοσημείωτο ποσοστό μόνο στην Λημνιάνα. Το ξεφύλλισμα δεν φάνηκε να διαφοροποιεί τον καταμερισμό των μονομερών ανθοκυανών στην κάθε ποικιλία.

Παρόλα αυτά η ποσοστιαία κατανομή των μονομερών ανθοκυανών στους φλοιούς είναι ιδιαίτερη για κάθε ποικιλία και η Λημνιώνα παρουσιάζει την πιο ισορροπημένη.

Περνώντας στις αναλύσεις των οίνων που πραγματοποιήθηκαν με το ίδιο πρωτόκολλο οиноποίησης σε όλες τις περιπτώσεις, παρατηρείται μεγαλύτερος αλκοολικός τίτλος σε αυτούς που προέρχονται από τον μάρτυρα και για τις τέσσερις ποικιλίες. Συμπεραίνεται, οπότε, πώς το ξεφύλλισμα δεν είχε θετική επίδραση στη συγκέντρωση των σακχάρων στη ράγα και κατά συνέπεια στη συγκέντρωση αλκοόλης που προέκυψε έπειτα από την αλκοολική ζύμωση. Ταυτόχρονα, οι οίνοι που προήλθαν από τον μάρτυρα παρουσίασαν και την υψηλότερη πτητική οξύτητα σε όλες τις ποικιλίες. Στις τιμές της ολικής οξύτητας και του pH των οίνων δεν παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη διαφοροποίηση από το ξεφύλλισμα.

Επιπλέον, παρατηρείται πως το σύνολο των ανθοκυανών και στους οίνους διαφέρει μεταξύ των ποικιλιών, με τον οίνο της Λημνιώνας να έχει την μεγαλύτερη συνολική συγκέντρωση ανθοκυανών. Σε αντίθεση με προηγούμενες μελέτες, φαίνεται πως οι οίνοι που προέρχονται από τον μάρτυρα παρουσιάζουν υψηλότερη συνολική συγκέντρωση σε ανθοκυάνες, συγκριτικά με τον οίνο που προέρχεται από σταφύλια που εφαρμόστηκε ξεφύλλισμα. Συνολικά, και στους παραγόμενους οίνους η Μαλβιδίνη αποτελεί αναμενόμενα την κύρια μονομερή ανθοκυάνη, ενώ η Κυανιδίνη ανιχνεύεται σε αξιοσημείωτο ποσοστό μόνο στους οίνους του Αγιωργίτικου. Οι συγκεντρώσεις της Δελφινιδίνης και της Παιονιδίνης είναι μεγαλύτερες με διαφορά στους οίνους και τους φλοιούς της Λημνιώνας.

Ολοκληρώνοντας, για την εξαγωγή ασφαλέστερων αποτελεσμάτων όσον αφορά την επίδραση τους ξεφυλλίσματος κατά τον περκασμό στις τέσσερις ποικιλίες που μελετήθηκαν και το ανθοκυανικό προφίλ τους, κρίνεται απαραίτητος ο πειραματισμός σε περισσότερες εσοδείες, καθώς και η διερεύνηση επιπρόσθετων χαρακτηριστικών, όπως είναι η εκχυλισιμότητα των ανθοκυανών των φλοιών αλλά και η ένταση και η απόχρωση των οίνων. Το ξεφύλλισμα αδιαμφισβήτητα αποτελεί μια τεχνική που μπορεί να επηρεάσει την σύσταση της ράγας άρα και των παραγόμενων οίνων με την ισορροπία βλάστησης και καρποφορίας, αλλά είναι κι ένα μέσο προστασίας της υγιεινής των σταφυλιών με την επίτευξη καλύτερου αερισμού και ευνοϊκότερων συνθηκών φωτισμού και θερμοκρασίας. Ωστόσο, θα πρέπει να γίνεται την κατάλληλη χρονική περίοδο ανάλογα την ποικιλία και την κλιματικές συνθήκες για την παραγωγή ισορροπημένων σταφυλιών με ικανοποιητική αναλογία φλοιού και σάρκας, πλούσιων σε ανθοκυάνες.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

5.1. Διεθνής βιβλιογραφία

- Acimovic, D., Tozzini, L., Green, A., Sivilotti, P. and Sabbatini, P., 2016. Identification of a defoliation severity threshold for changing fruitset, bunch morphology and fruit composition in Pinot Noir. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 22(3), pp.399–408.
- Adams, D.O., 2006. Phenolics and ripening in grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3), pp.249–256.
- Alasalvar, C., Grigor, J.M., Zhang, D., Quantick, P.C. and Shahidi, F., 2001. Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3), pp.1410–1416.
- Arnous, A., Makris, D.P. and Kefalas, P., 2001. Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant characteristics of aged red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(12), pp.5736–5742.
- Benavente-García, O., Castillo, J., Marin, F.R., Ortuño, A. and Del Río, J.A., 1997. Uses and properties of citrus flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(12), pp.4505–4515.
- Boss, P.K., Davies, C. and Robinson, S.P., 1996. Anthocyanin composition and anthocyanin pathway gene expression in grapevine sports differing in Berry Skin Colour. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 2(3), pp.163–170.
- Boss, P.K., Davies, C. and Robinson, S.P., 1996a. Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* L. cv shiraz grape berries and the implications for pathway regulation. *Plant Physiology*, 111(4), pp.1059–1066.
- Boss, P.K., Davies, C. and Robinson, S.P., 1996b. Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* L. cv shiraz grape berries and the implications for pathway regulation. *Plant Physiology*, 111(4), pp.1059–1066.
- Bravo, L., 2009. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), pp.317–333.
- Cacho, J., Fernández, P., Ferreira, V. and Castells, J.E., 1992. Evolution of five anthocyanidin-3-glucosides in the skin of the tempranillo, Moristel, and Garnacha grape varieties and influence of climatological variables. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43(3), pp.244–248.
- Cantos, E., Espín, J.C. and Tomás-Barberán, F.A., 2002. Varietal differences among the polyphenol profiles of seven table grape cultivars studied by lc–dad–ms–ms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(20), pp.5691–5696.
- Casassa, L.F., Larsen, R.C., Beaver, C.W., Mireles, M.S., Keller, M., Riley, W.R., Smithyman, R. and Harbertson, J.F., 2013a. Impact of extended maceration and regulated deficit irrigation (RDI) in cabernet sauvignon wines: Characterization of proanthocyanidin distribution, anthocyanin extraction, and chromatic properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(26), pp.6446–6457.
- Casassa, L.F., Beaver, C.W., Mireles, M.S. and Harbertson, J.F., 2013b. Effect of extended maceration and ethanol concentration on the extraction and evolution of phenolics, colour

- components and sensory attributes of merlot wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 19(1), pp.25–39.
- Chira, K., Schmauch, G., Saucier, C., Fabre, S. and Teissedre, P.-L., 2009. Grape variety effect on proanthocyanidin composition and sensory perception of skin and seed tannin extracts from Bordeaux wine grapes (cabernet sauvignon and merlot) for two consecutive vintages (2006 and 2007). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(2), pp.545–553.
- Chorti, E., Guidoni, S., Ferrandino, A. and Novello, V., 2010. Effect of different cluster sunlight exposure levels on ripening and anthocyanin accumulation in Nebbiolo grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61(1), pp.23–30.
- Coombe, B.G., 1992. Research on development and ripening of the grape Berry. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43(1), pp.101–110.
- Crippen, D.D. and Morrison, J.C., 1986a. The effects of sun exposure on the compositional development of cabernet sauvignon berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37(4), pp.235–242.
- Crippen, D.D. and Morrison, J.C., 1986b. The effects of sun exposure on the phenolic content of cabernet sauvignon berries during development. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37(4), pp.243–247.
- Des Gachons, C.P. and Kennedy, J.A., 2003. Direct method for determining seed and skin proanthocyanidin extraction into red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(20), pp.5877–5881.
- Deytieux, C., Geny, L., Lapaillerie, D., Claverol, S., Bonneu, M. and Doneche, B., 2007. Proteome analysis of grape skins during ripening. *Journal of Experimental Botany*, 58(7), pp.1851–1862.
- Downey, M. O., Harvey, J. S. and Robinson, S. P., 2003. Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout Berry Development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9(1), pp.15–27.
- Downey, M. O., Harvey, J. S. and Robinson, S. P., 2003. Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9(2), pp. 110–121.
- Eiro, M.J. and Heinonen, M., 2002. Anthocyanin color behavior and stability during storage: effect of Intermolecular Copigmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(25), pp.7461–7466.
- Fujimaki, T., Mori, S., Horikawa, M. and Fukui, Y., 2018. Isolation of proanthocyanidins from red wine, and their inhibitory effects on melanin synthesis in vitro. *Food Chemistry*, 248, pp.61–69.
- Geny, L., Saucier, C., Bracco, S., Daviaud, F. and Glories, Y., 2003. Composition and cellular localization of tannins in grape seeds during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27), pp.8051–8054.
- Gómez-Alonso, S., García-Romero, E. and Hermosín-Gutiérrez, I., 2007. HPLC analysis of diverse grape and wine phenolics using direct injection and multidetection by dad and fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(7), pp.618–626.

- Gómez-Ariza, J.L., García-Barrera, T. and Lorenzo, F., 2006. Anthocyanins profile as fingerprint of wines using atmospheric pressure photoionisation coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 570(1), pp.101–108.
- Grainger, K. and Tattersall, H., 2005. *Wine production: vine to bottle*. Oxford UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Harbertson, J.F., Mireles, M.S., Harwood, E.D., Weller, K.M. and Ross, C.F., 2009. Chemical and sensory effects of saignée, water addition, and extended maceration on High brix must. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60(4), pp.450–460.
- Herrera, J., Guesalaga, A. and Agosin, E., 2003. Shortwave near infrared spectroscopy for non-destructive determination of maturity of wine grapes. *Measurement Science and Technology*, 14(5), pp.689–697.
- Holton, T.A. and Cornish, E.C., 1995. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *The Plant Cell*, pp.1071–1083.
- Intrieri, C., Filippetti, I., Allegro, G., Centinari, M. and Poni, S., 2008. Early defoliation (hand vs mechanical) for improved crop control and grape composition in sangiovese (*vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 14(1), pp.25–32.
- Jackson, D.I. and Lombard, P.B., 1993. Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality - A Review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 44(4), pp.409–430.
- Jackson, R.S., 2008. *Wine Science, Principles and Applications*. 3d Edition. San Diego, California: Academic Press.
- Jeong, S.T., Goto-Yamamoto, N., Kobayashi, S. and Esaka, M., 2004. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins. *Plant Science*, 167(2), pp.247–252.
- Kallithraka, S., Arvanitoyannis, I., El-Zajouli, A. and Kefalas, P., 2001. The application of an improved method for trans-resveratrol to determine the origin of Greek Red Wines. *Food Chemistry*, 75(3), pp.355–363.
- Kallithraka, S., Bakker, J. and Clifford, M.N., 1998. Evidence that salivary proteins are involved in astringency. *Journal of Sensory Studies*, 13(1), pp.29–43.
- Kallithraka, S., Kim, D., Tsakiris, A., Paraskevopoulos, I. and Soleas, G., 2011. Sensory assessment and chemical measurement of astringency of Greek wines: Correlations with analytical polyphenolic composition. *Food Chemistry*, 126(4), pp.1953–1958.
- Kalogiouri, N.P., Karadimou, C., Avgidou, M.S., Petsa, E., Papadakis, E.-N., Theocharis, S., Mourtzinis, I., Menkissoglu-Spiroudi, U. and Koundouras, S., 2022. An optimized HPLC-dad methodology for the determination of anthocyanins in grape skins of red Greek winegrape cultivars (*vitis vinifera* L.). *Molecules*, 27(20), p.7107.
- Kennedy, J.A. and Jones, G.P., 2001. Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4), pp.1740–1746.
- Khanbabaei, K. and van Ree, T., 2001. Tannins: Classification and definition. *Natural Product Reports*, 18, pp.641–649

- Koblet, W., Candolfi-Vasconcelos, M.C., Zweifel, W. and Howell, G.S., 1994. Influence of leaf removal, rootstock, and training system on yield and fruit composition of pinot noir grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45(2), pp.181–187.
- Koes, R.E., Quattrocchio, F. and Mol, J.N., 1994. The flavonoid biosynthetic pathway in plants: Function and evolution. *BioEssays*, 16(2), pp.123–132.
- Kotseridis, Y., Georgiadou, A., Tikos, P., Kallithraka, S. and Koundouras, S., 2012. Effects of severity of post-flowering leaf removal on Berry growth and composition of three Red *Vitis vinifera* L. cultivars grown under semiarid conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(23), pp.6000–6010.
- Koundouras, S., Marinos, V., Gkoulioti, A., Kotseridis, Y. and van Leeuwen, C., 2006. Influence of vineyard location and vine water status on fruit maturation of nonirrigated cv. Agiorgitiko (*vitis vinifera*L.). effects on wine phenolic and aroma components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(14), pp.5077–5086.
- Krithika, V., Naik, R. and Pragalyaashree, S., 2015a. Functional properties of grape (*vitis vinifera*) seed extract and possible extraction techniques -A Review. *Agricultural Reviews*, 36(4).
- Krithika, V., Naik, R. and Pragalyaashree, S., 2015b. Functional properties of grape (*vitis vinifera*) seed extract and possible extraction techniques -A Review. *Agricultural Reviews*, 36(4).
- Lakso, A.N. and Kliewer, W.M., 1975. The influence of temperature on malic acid metabolism in grape berries. *Plant Physiology*, 56(3), pp.370–372.
- Lorrain, B., Chira, K. and Teissedre, P.-L., 2011. Phenolic composition of merlot and cabernet-sauvignon grapes from Bordeaux vineyard for the 2009-vintage: Comparison to 2006, 2007 and 2008 vintages. *Food Chemistry*, 126(4), pp.1991–1999.
- Makris, D.P., Kallithraka, S. and Kefalas, P., 2006. Flavonols in grapes, grape products and wines: Burden, profile and influential parameters. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(5), pp.396–404.
- Makris, D.P., Kallithraka, S. and Mamalos, A., 2006. Differentiation of young red wines based on cultivar and geographical origin with application of chemometrics of principal polyphenolic constituents. *Talanta*, 70(5), pp.1143–1152.
- Mazza, G. and Francis, F.J., 1995. Anthocyanins in grapes and grape products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35(4), pp.341–371.
- Moreno-Arribas, M.V. and Polo, M.C., 2009. *Wine Chemistry and Biochemistry*, p.378, Ed. 1st, New York: Springer.
- Mori, K., Goto-Yamamoto, N., Kitayama, M. and Hashizume, K., 2007. Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. *Journal of Experimental Botany*, 58(8), pp.1935–1945.
- Mori, K., Sugaya, S. and Gemma, H., 2005. Decreased anthocyanin biosynthesis in grape berries grown under elevated night temperature condition. *Scientia Horticulturae*, 105(3), pp.319–330.
- Obrique-Slier, E., Peña-Neira, Á., López-Solís, R., Zamora-Marín, F., Ricardo-da Silva, J.M. and Laureano, O., 2010a. Comparative study of the phenolic composition of seeds and skins

- from carménère and cabernet sauvignon grape varieties (*vitis vinifera* L.) during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(6), pp.3591–3599.
- Obreque-Slier, E., Peña-Neira, Á., López-Solís, R., Zamora-Marín, F., Ricardo-da Silva, J.M. and Laureano, O., 2010b. Comparative study of the phenolic composition of seeds and skins from carménère and cabernet sauvignon grape varieties (*vitis vinifera* L.) during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(6), pp.3591–3599.
- Ojeda, H., Andary, C., Kraeva, E., Carbonneau, A. and Deloire, A. 2002. Influence of pre and post veraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53, pp. 261-267.
- Ollé, D., Guiraud, J.L., Souquet, J.M., Terrier, N., Ageorges, A., Cheynier, V. and Verries, C., 2011. Effect of pre- and post-veraison water deficit on proanthocyanidin and anthocyanin accumulation during Shiraz Berry Development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17(1), pp.90–100.
- Poni, S. and Intrieri, C., 2001. Grapevine photosynthesis: effects linked to light radiation and leaf age. *Advances in Horticultural Science*, 15(1/4), pp. 5–15.
- Poni, S., Bernizzoni, F., Civardi, S. and Libelli, N., 2009. Effects of pre-bloom leaf removal on growth of berry tissues and must composition in two red *vitis vinifera* L. cultivars. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 15(2), pp.185–193.
- Prieur, C., Rigaud, J., Cheynier, V. and Moutounet, M., 1994. Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochemistry*, 36(3), pp.781–784.
- Pérez-Magariño, S. and González-San José, M.L., 2006. Polyphenols and colour variability of red wines made from grapes harvested at different ripeness grade. *Food Chemistry*, 96(2), pp.197–208.
- Randhir, R., Lin, Y. and Shetty, K., 2004. Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 13, pp.295-307
- Reynolds, A.G., Pool, R.M. and Mattick, L.R., 1986. Influence of cluster exposure on fruit composition and wine quality of Seyval blanc. *Vitis*, 25, pp. 85–95.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. and Dubourdieu, D., 2006. *Handbook of enology: the chemistry of wine stabilization and treatments (Vol. 2)*.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. and Dubourdieu, D., 2006. *Handbook of enology: the microbiology of wine and vinifications (Vol. 1)*.
- Rinaldi, A., Jourdes, M., Teissedre, P.L. and Moio, L., 2014. A preliminary characterization of Aglianico (*vitis vinifera* L. cv.) grape Proanthocyanidins and evaluation of their reactivity towards salivary proteins. *Food Chemistry*, 164, pp.142–149.
- Rodríguez-Delgado, M.-Á., González-Hernández, G., Conde-González, J.-E. and Pérez-Trujillo, J.-P., 2002. Principal component analysis of the polyphenol content in young Red Wines. *Food Chemistry*, 78(4), pp.523–532.
- Silva, L.R. and Queiroz, M., 2016. Bioactive compounds of red grapes from Dão Region (Portugal): Evaluation of phenolic and organic profile. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(4), pp.315–321.

- Smart, R.E., Robinson, J.B., Due, G.R. and Brien, C.J., 1985. Canopy microclimate modification for the cultivar Shiraz II. Effects on must and wine composition. *Vitis*, 24, pp. 119- 128.
- Sun, B., Neves, A.C., Fernandes, T.A., Fernandes, A.L., Mateus, N., De Freitas, V., Leandro, C. and Spranger, M.I., 2011. Evolution of phenolic composition of red wine during vinification and storage and its contribution to wine sensory properties and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(12), pp.6550–6557.
- Teixeira, A., Eiras-Dias, J., Castellarin, S. and Gerós, H., 2013. Berry Phenolics of grapevine under challenging environments. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(9), pp.18711–18739.
- Versari, A., Laurie, V.F., Ricci, A., Laghi, L. and Parpinello, G.P., 2014. Progress in authentication, typification and traceability of grapes and wines by chemometric approaches. *Food Research International*, 60, pp.2–18.
- Yamane, T., Jeong, S.T., Goto-Yamamoto, N., Koshita, Y. and Kobayashi, S., 2006. Effects of temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(1), pp.54–59.
- Zarrouk, O., Francisco, R., Pinto-Marijuan, M., Brossa, R., Santos, R.R., Pinheiro, C., Costa, J.M., Lopes, C. and Chaves, M.M., 2012. Impact of irrigation regime on Berry development and flavonoids composition in Aragonez (syn. tempranillo) grapevine. *Agricultural Water Management*, 114, pp.18–29.
- Zoecklein, B.W., Wolf, T.K., Duncan, N.W., Judge, J.M. and Cook, M.K., 1992. Effects of fruit zone leaf removal on yield, fruit composition, and fruit rot incidence of Chardonnay and white riesling (*vitis vinifera*L.) grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43(2), pp.139–148.
- Zoecklein, B., Fugelsang, K., Gump, B. and Nury, F., 1995. *Wine analysis and production*. New York: The Chapman and Hall Enology Library
- Ćurko, N., Kovačević Ganić, K., Gracin, L., Đapić, M., Jourdes, M. and Teissedre, P.L., 2014. Characterization of seed and skin polyphenolic extracts of two red grape cultivars grown in Croatia and their sensory perception in a wine model medium. *Food Chemistry*, 145, pp.15–22.

5.2. Ελληνική Βιβλιογραφία

- Καλλίθρακα, Σ. (2021). *Διαφάνειες Παραδόσεων Χημεία Γλεύκους και Οίνου - Μέθοδοι Ανάλυσης 2021-2022*.
- Κοτσερίδης, Γ.,(2015). *Οινολογία Ι. Εργαστηριακές Ασκήσεις*, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Αθήνα
- Κοτσερίδης, Γ. (2022). *Διαφάνειες Παραδόσεων Τεχνολογίας Οίνου ΙΙ 2021- 2022*.
- Κουνδουράς, Σ., (2021). *Σημειώσεις Αμπελουργίας για Οινολόγους*, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Αθήνα
- Κουράκου - Δραγώνα, Σ., (1998). *Θέματα Οινολογίας, Επιστήμη και Τεχνολογία στον τομέα της οينوποιητικής τεχνικής*. Αθήνα: Εκδόσεις Τροχαλία

- Νικολάου, Ν. Α., (2008). *Αμπελουργία*. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Σύγχρονη παιδεία.
- Σουφλερός, Ε. Η., (2000). *Οινολογία : επιστήμη και τεχνογνωσία*. Θεσσαλονίκη.
- Σπινθηροπούλου, Χ., (2000). *Οινοποιήσιμες ποικιλίες του ελληνικού αμπελώνα*. Αθήνα: Olive press.
- Σταύρακας, Δ. Ε., (2011). *Αμπελογραφία*. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Ζήτη.
- Σταυρακάκης, Μ., (2010). *Αμπελογραφία*. Αθήνα: Εκδόσεις Τροπή
- Σταυρακάκης, Μ., (2013). *Αμπελουργία*. Αθήνα: Εκδόσεις Τροπή
- Ταβερναράκη, Ν., Μαρίνος, Β και Glories, Υ. (1998). Το φαινολικό δυναμικό των σταφυλιών της ποικιλίας Ξινόμαυρο. *Β' Πανελλήνιο Συνέδριο Οινολογίας*.
- Τσακίρης, Α., (2014). *Οινολογία: Από το σταφύλι στο κρασί*. Εκδόσεις Ψύχαλος
- Τσέτουρας, Π. Λ., (2009). *Η τέχνη της αμπελουργίας: Αμπέλι οινοποιίας*. Αθήνα: Εκδόσεις Σταμούλη Α.Ε.
- Χαρβαλιά, Α. και Μπενά- Τζούρου, Ε., (1982). Τα φαινολικά συστατικά και το χρώμα των ελληνικών οίνων. *Ελληνικά Οινολογικά χρονικά*, 2, 1-77, Ινστιτούτο Οίνου, Αθήνα