



**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

Ερυθρός ξηρός οίνος από λιαστά σταφύλια Λημνιώνας:
επίδραση της αφυδάτωσης στην στυπτικότητα

Αναστασία Γ. Τσιμπίδη

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:
Σταματίνα Καλλίθρακα, Καθηγήτρια ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ
2024**

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

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Ερυθρός ξηρός οίνος από λιαστά σταφύλια Λημνιώνας:
επίδραση της αφυδάτωσης στην στυπτικότητα

Red dry wine from sun-dried Limniona grapes:
the effect of dehydration on astringency

Αναστασία Γ. Τσιμπίδη

Εξεταστική Επιτροπή:

Σταματίνα Καλλίθρακα, Καθηγήτρια ΓΠΑ

Μαρία Μετάφα, Ερευνήτρια ΕΛΓΟ – ΔΗΜΗΤΡΑ

Χρυσανγή Γαρδέλη, Καθηγήτρια ΓΠΑ

Παραγωγή ερυθρού λιαστού ξηρού οίνου από την ποικιλία Λημνιώνα και μελέτη της επίδρασης της αφυδάτωσης στον πολυμερισμό των φαινολών και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου

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

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα μελέτη εξετάζει την επίδραση της αφυδάτωσης μέσω λιασίματος στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του ερυθρού οίνου από την ποικιλία Λημνιώνα. Τα σταφύλια προήλθαν από αμπελώνα κοντά στο χωριό Βελιές στον νομό Λακωνίας, ενώ η οινοποίηση και εμφιάλωση πραγματοποιήθηκε στο οινοποιείο της επιχείρησης Γ. Τσιμπίδης και ΣΙΑ ΕΕ, Οινοποιητική Μονεμβασιάς. Η πειραματική διαδικασία περιλάμβανε τρεις διαφορετικές προετοιμασίες σταφυλιών για οινοποίηση: χωρίς αφυδάτωση, λιάσιμο για 8 ημέρες και λιάσιμο για 12 ημέρες, ακολουθώντας τα στάδια της οινοποίησης, της εμφιάλωσης και της ανάλυσης για την αξιολόγηση των αλλαγών στη σύσταση και ποιότητα του οίνου.

Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, με βάση τις μεθόδους που προβλέπει η ευρωπαϊκή νομοθεσία και ο ΟΙV. Εκτός από βασικές μετρήσεις όπως ο προσδιορισμός σακχάρων, ολικής και πτητικής οξύτητας, αλκοολικού τίτλου, pH, αναγόντων σακχάρων, μηλικού οξέος και θειάδους ανυδρίτη, πραγματοποιήθηκαν εξειδικευμένες αναλύσεις για την αξιολόγηση του χρώματος και των φαινολικών συστατικών. Αυτές περιλάμβαναν την ένταση, την απόχρωση του χρώματος, τις ολικές φαινολικές ενώσεις (Folin-Ciocalteu), τον Δείκτη Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ), τις ταννίνες (MCP και BSA), καθώς και την ποσοτικοποίηση ανθοκυανών και άλλων φαινολικών συστατικών μέσω HPLC. Η αφυδάτωση μέσω λιασίματος επηρέασε έντονα τη χημική σύσταση του οίνου, αυξάνοντας συγκεντρώσεις σακχάρων, του μηλικού οξέους και αλκοόλης, με τις μεγαλύτερες αλλαγές να καταγράφονται στο δείγμα L12 (λιάσιμο για 12 μέρες).

Η ανάλυση HPLC έδειξε ότι η διάρκεια του λιασίματος επηρεάζει τη σύνθεση των ανθοκυανών, με μείωση ενώσεων όπως η δελφινιδίνη και η μαλβιδίνη λόγω οξειδωσης, και αύξηση άλλων, όπως η μυρικετίνη και η ισοραμεντίνη στο L12. Το λιάσιμο ενίσχυσε τη συγκέντρωση πολυμερισμένων ταννινών, βελτιώνοντας τη στυπτικότητα και τη δομή του οίνου. Παράλληλα, τα δείγματα παρουσίασαν πλούσια αρώματα και έντονη χρωματική απόχρωση, με το L12 να υπερέχει για την ισορροπία του. Ωστόσο, η παρατεταμένη έκθεση στον ήλιο μπορεί να επηρεάσει τη χημική σταθερότητα, ενώ η στρατηγική παλαίωσης μπορεί να βελτιώσει περαιτέρω την ποιότητα. Η μελέτη επιβεβαιώνει ότι η αφυδάτωση μέσω λιασίματος αποτελεί αξιολογητέα τεχνική για την παραγωγή υψηλής ποιότητας οίνων.

Επιστημονική περιοχή: Οινολογία

Λέξεις κλειδιά: Αφυδάτωση, Λιάσιμο, Ποικιλία Λημνιώνα, Σάκχαρα, Οξέα, Αλκοόλη, Ταννίνες, Πολυμερισμός, Ανθοκυανές, Φαινολικές ενώσεις, Στυφάδα, Στυπτικότητα

Production of red dry wine from sun-dried Limniona grapes: a study on the effect of dehydration on phenolic polymerization and the wine's organoleptic characteristics

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

ABSTRACT

This study examines the impact of dehydration through sun-drying on the qualitative characteristics of red wine made from the Limniona grape variety. The grapes were sourced from a vineyard near the village of Velies in Laconia, and the winemaking and bottling processes were carried out at the winery of G. Tsimpidis & Co., Monemvasia Winery. The experimental procedure involved three different grape preparation methods for winemaking: no dehydration, sun-drying for 8 days, and sun-drying for 12 days, followed by vinification, bottling, and analysis to evaluate changes in the composition and quality of the wine.

The analyses were conducted at the Oenology Laboratory of the Agricultural University of Athens, adhering to European legislation and OIV standards. In addition to basic measurements such as sugar content, total and volatile acidity, alcohol level, pH, reducing sugars, malic acid, and sulfur dioxide, specialized analyses were performed to evaluate color and phenolic compounds. These included color intensity and hue, total phenolic content (Folin-Ciocalteu), Phenolic Substances Index (PSI), tannins (MCP and BSA methods), and quantification of anthocyanins and other phenolic compounds via HPLC.

Dehydration through sun-drying significantly affected the chemical composition of the wine, increasing sugar, malic acid, and alcohol concentrations, with the most notable changes observed in the L12 sample (sun-dried for 12 days). HPLC analysis revealed that the duration of sun-drying influences anthocyanin composition, with a decrease in compounds such as delphinidin and malvidin due to oxidation, and an increase in others like myricetin and isorhamnetin in the L12 sample.

Sun-drying enhanced the concentration of polymerized tannins, improving the wine's astringency and structure. The samples also exhibited rich aromas and intense color, with the L12 sample excelling in balance and richness. However, prolonged sun exposure may affect chemical stability over time, suggesting that an aging strategy could further enhance quality. This study confirms that dehydration through sun-drying is a promising technique for producing high-quality wines.

Scientific Field: Oenology

Keywords: Dehydration, Sun-drying, Limniona variety, Sugars, Acids, Alcohol, Tannins, Polymerization, Anthocyanins, Phenolic compounds, Astringency, Tannic grip.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά, θα ήθελα να εκφράσω την ειλικρινή μου ευγνωμοσύνη προς όλα τα μέλη του εργαστηρίου Οινολογίας και τους υποψήφιους διδάκτορες, των οποίων η αδιάκοπη υποστήριξη και η καθημερινή παρουσία υπήρξαν ανεκτίμητη βοήθεια στη δημιουργία των διπλωματικών μας εργασιών. Ιδιαίτερα, ευχαριστώ θερμά την κ. Στεφανία Χριστοφή και την κ. Νίκη Προξενιά για τις πολύτιμες συμβουλές και την αφοσίωσή τους.

Επίσης, οφείλω ιδιαίτερες ευχαριστίες στην Καθηγήτρια Οινολογίας, κ. Σταματίνα Καλλίθρακα, η οποία στάθηκε αρωγός σε κάθε στάδιο της πτυχιακής μου εργασίας, προσφέροντάς μου γενναιόδωρα τις γνώσεις και την εμπειρία της καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου και υποδέχτηκε με ενθουσιασμό την ιδέα μου.

Κλείνοντας, εκφράζω τη βαθιά μου εκτίμηση προς την ομάδα μου στο οινοποιείο για τη συνεχή τους υποστήριξη. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερω την αδελφή μου, Μαριαλένα, τους γονείς μου, Έλλη και Γιώργο, καθώς και τους συνεργάτες μου, Ανδρέα Ανδρεσάκη, Khurram Shahzad, Πιέρρο Μανωλακάκη και Βασίλη Βλαχάκη, για τη σημαντική συμβολή τους στην επαγγελματική μου πορεία. Ακόμα, ένα μεγάλο ευχαριστώ στους δικούς μου ανθρώπους Αδαμαντία, Άρτεμις, Γιώργο και Διαμάντω, για τη σταθερή τους στήριξη και κατανόηση.

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.

*..... στη θεία μου Τασία και στη γιαγιά μου Μαρίκα που μας μεγάλωσαν με αγάπη,
παρότι οι ίδιες στερήθηκαν ευκαιρίες λόγω του κοινωνικού τους φύλου.*

*Η μνήμη τους ζει μαζί μου, χαρίζοντάς μου δύναμη
για τον αγώνα προς την ισότητα και τις ίσες ευκαιρίες για όλα μας....*

Π Ε Ρ Ι Ε Χ Ο Μ Ε Ν Α

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	11
1.1 Η Λημνιώνα	11
1.1.1 Προέλευση της Ποικιλίας	11
1.1.2 Αμπελογραφικά Χαρακτηριστικά και Φαινολογικά Στάδια	11
1.1.3 Ιδιότητες και καλλιεργητική συμπεριφορά	12
1.1.4 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων από Λημνιώνα.....	13
1.2 Η γημεία του οίνου	14
1.2.1 Αλκοολική ζύμωση	14
1.2.2 Μηλογαλακτική ζύμωση	14
1.2.3 Οι βασικές ενώσεις του οίνου	15
1.2.3.1. Αλκοόλες	15
1.2.3.2. Σάκχαρα.....	16
1.2.3.3 Οργανικά Οξέα	16
1.2.3.4 Άλλες κατηγορίες ενώσεων	17
1.3 Φαινολικά συστατικά του σταφυλιού και του οίνου	19
1.3.1. Μη φλαβονοειδή	19
1.3.2 Φλαβονοειδή	21
1.3.3. Φλαβονόλες.....	22
1.3.4. Τανίνες	25
1.3.5 Ανθοκυάνες	29
1.4 Ερυθρή Οινοποίηση.....	30
1.4.1 Κλασσική μέθοδος ερυθρής οινοποίησης	30
1.4.2 Εκχύλιση και αντιδράσεις φαινολικών συστατικών	31
1.4.2.1 Εκχύλιση φαινολικών συστατικών.....	31
1.4.2.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την εκχύλιση των φαινολικών.....	32
1.4.2.3 Αντιδράσεις φαινολικών συστατικών.....	34
1.5 Αφυδάτωση/Λιάσιμο	36
1.5.1 Η διαδικασία.....	36
1.5.2 Ιστορικές αναφορές και περιοχές.....	37
1.5.3. Ερυθρά αφυδατωμένα σταφύλια για την παραγωγή ερυθρού ξηρού οίνου.....	38
1.5.4. Ερυθροί ξηροί οίνοι “Amarone” και η διαδικασία παραγωγής τους.	38
1.6 Οργανοληπτικός Έλεγχος	39

1.6.1. Εισαγωγή στην Οργανοληπτική εξέταση.....	39
1.6.2. Συμβολή των αισθήσεων.....	40
1.6.3. Τρόπος Δοκιμής.....	40
1.6.4. Συνθήκες δοκιμής.....	42
1.7 Σκοπός και Αντικείμενο της Μελέτης.....	43
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	44
2.1. Πειραματικός σχεδιασμός-Κωδικοποίηση.....	44
2.2. Χημικές Αναλύσεις.....	48
2.2.1. Κλασικές αναλύσεις οίνων.....	49
2.2.1.1 Ενεργή Οξύτητα – pH.....	49
2.2.1.2 Προσδιορισμός σακχάρων με αραιομετρία.....	49
2.2.1.3 Προσδιορισμός ολικής οξύτητας.....	49
2.2.1.4 Προσδιορισμός πτητικής οξύτητας.....	50
2.2.1.5 Προσδιορισμός αλκοολικού τίτλου με απόσταξη και αλκοολόμετρο.....	50
2.2.1.6 Μέτρηση ελεύθερου και ολικού θειώδη ανυδρίτη.....	50
2.2.1.7 Μοριακό διοξείδιο του θείου.....	51
2.2.1.8 Ανάγοντα Σάκχαρα-Μέθοδος Lüff.....	51
2.2.1.9 Μηλικό Οξύ (L-Μηλικό).....	51
2.2.2. Μέθοδοι ανάλυσης χρώματος και φαινολικών συστατικών.....	52
2.2.2.1 Ένταση χρώματος και Απόχρωση.....	52
2.2.2.2 Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ).....	53
2.2.2.3 Προσδιορισμός Ολικών Φαινολικών- Μέθοδος Folin-Ciocalteu.....	53
2.2.2.4 Προσδιορισμός ταννινών – Methyl Cellulose Precipitable (MCP).....	55
2.2.2.5 Προσδιορισμός ταννινών με την μέθοδο BSA (δέσμευση από πρωτεΐνες – δείκτης στυπτικότητας).....	57
2.2.2.6 Προσδιορισμός μονομερών και ολιγομερών φαινολικών.....	62
2.2.3 Οργανοληπτικός έλεγχος.....	63
2.2.4. Στατιστική επεξεργασία.....	63
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	64
3.1 Βασικές αναλύσεις οίνου.....	64
3.1.1 Προσδιορισμός σακχάρων με αραιομετρία (Baume).....	64
3.1.2 Προσδιορισμός ολικής οξύτητας.....	65
3.1.3 Προσδιορισμός πτητικής οξύτητας.....	65

3.1.4 Προσδιορισμός αλκοολικού τίτλου.....	66
3.1.5 pH-Ενεργή Οξύτητα.....	66
3.1.6 Ανάγοντα Σάκχαρα	67
3.1.7 Μηλικό Οξύ.....	68
3.1.8 Ελεύθερο SO ₂	68
3.1.9 Ολικό SO ₂	69
3.2 Χρώμα και φαινολικά συστατικά	69
3.2.1 Ένταση	69
3.2.2 Απόχρωση	70
3.2.3 Προσδιορισμός Ολικών Φαινολικών	71
3.2.4 Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ)	72
3.2.4 Προσδιορισμός ταννινών MCP.....	72
3.2.5 Προσδιορισμός ταννινών με την μέθοδο BSA (δέσμευση από πρωτεΐνες – δείκτης στυπτικότητας).....	74
3.2.6 Αποτελέσματα Ανάλυσης Ανθοκυανών με HPLC	75
3.2.6.1 Δελφινιδίνη (Dp)	75
3.2.6.2 Κυανιδίνη (Cy)	75
3.2.6.3 Πετουνιδίνη (Pt)	76
3.2.6.4 Παιονιδίνη (Pn).....	76
3.2.6.5 Μαλβιδίνη (Mv)	77
3.2.6.6 Οξικός εστέρας μαλβιδίνης (Mv-ac)	78
3.2.6.7 Κουμαρικός εστέρας της μαλβιδίνης (Mv-coum)	78
3.2.7 Αποτελέσματα HPLC για μονομερή και ολιγομερή φαινολικά.....	79
3.2.7.1 Γαλλικό οξύ	79
3.2.7.2 Πρωτοκατεχικό οξύ	80
3.2.7.3 Καφταρικό οξύ	80
3.2.7.4 Κατεχίνη	81
3.2.7.5 Καφεϊκό Οξύ.....	82
3.2.7.6 Κουταρικό οξύ.....	82
3.2.7.7 Σιρηγγικό οξύ	83
3.2.7.8 Φερταρικό οξύ	84
3.2.7.9 Γαλλικός εστέρας της επιγαλλοκατεχίνης.....	84
3.2.7.10 Κουμαρικό οξύ	85
3.2.7.11 Φερουλικό οξύ.....	86

3.2.7.12 Συναπικό οξύ	86
3.2.7.13 Γαλλικός εστέρας της επικατεχίνης.....	87
3.2.7.14 Κονυφεραλδεΐδη	88
3.2.7.15 Μυρικετίνη	88
3.2.7.16 Κερκετίνη	89
3.2.7.17 Ισοραμεντίνη	90
3.2.7.18 Προκυανιδίνη Β1	90
3.3 Αποτελέσματα Οργανοληπτικής Αξιολόγησης Ερυθρών Οίνων Λημνιώνας	91
3.3.1 Οπτική Αξιολόγηση	91
3.3.2 Οσφρητική Αξιολόγηση	92
3.3.3 Γευστική Αξιολόγηση	92
3.3.4 Γενική Εκτίμηση	92
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	93
4.1. Ανάλυση αποτελεσμάτων	93
4.2 Επίλογος.....	94
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	95
5.1. Διεθνής βιβλιογραφία	95
5.2. Ελληνική βιβλιογραφία.....	103
5.3. Ηλεκτρονικές πηγές	104

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η Λημνιώνα

1.1.1 Προέλευση της Ποικιλίας

Η ποικιλία σταφυλιού "Λημνιώνα" είναι μια εκ των ποικιλιών σταφυλιού που καλλιεργούνται στην ευρύτερη περιοχή της Θεσσαλίας στην Ελλάδα και κυρίως στον Τύρναβο, το Μεσσηνικόλα, τα Μετέωρα, τη Ραψάνη και τον Όλυμπο. Η ποικιλία έχει καλλιεργηθεί επίσης εκτενώς σε αρκετές περιοχές της Ελλάδας λόγω της καλής προσαρμοστικότητάς της σε διαφορετικές κλιματικές συνθήκες. Φυτεύσεις βρίσκουμε και στην νότια Ελλάδα, σε περιοχές, όπως η Λακωνία. Οι προσπάθειες αναβίωσης της ξεκίνησαν το 2000, ενώ η καλλιεργούμενη έκταση της σήμερα φτάνει περίπου τα 300 στρέμματα (Σταυρακάκης, 2010).

Ποικιλία ερυθρά, έχει μορφολογικές και αμπελογραφικές ομοιότητες με την ποικιλία Λημνιό, της οποίας θεωρείται λανθασμένα ότι αποτελεί συνώνυμο. Πρόσφατες ερευνητικές εργασίες με αμπελογραφικές και μοριακές μεθόδους (Stavrakaki et al., 2008), έδειξαν ότι πρόκειται για συγγενείς πλην όμως διαφορετικές ποικιλίες αφού ο δείκτης γενετικής ομοιότητας είναι σχετικά χαμηλός (= 0,77). Θεωρείται ισάξια αν όχι καλύτερη από την ποικιλία "Λημνιό" (Σταυρακάκης, 2010).

1.1.2 Αμπελογραφικά Χαρακτηριστικά και Φαινολογικά Στάδια

Η κορυφή της νεαρής βλάστησης είναι ανοιχτή, με πράσινο χρώμα και ερυθρές παρυφές, ενώ η υφή της κυμαίνεται από αραχνούφη έως χνοώδης. Το νεαρό φύλλο είναι ερυθρωπό και χαλκόχρωο, με λεία άνω επιφάνεια και κάτω επιφάνεια αραχνούφη έως χνοώδη, φέροντας νευρώσεις μειοξώδεις και αραχνούφεις. Ο ποώδης βλαστός είναι λείος, αραχνούφης, σχεδόν πλάγιας κατεύθυνσης έως ημιόρθιος, ερυθρωπός με πράσινα στίγματα στη νωτιαία πλευρά και πράσινος με ερυθροειδείς ραβδώσεις στην κοιλιακή. Οι κόμβοι είναι αραχνούφεις, έντονα ερυθροί στη νωτιαία πλευρά, ενώ οι οφθαλμοί είναι ερυθρωποί.

Το ανεπτυγμένο φύλλο είναι μέτριο έως μεγάλο, κυκλικό, συμμετρικό, πεντάκολπο, με ανώτερους και κατώτερους πλάγιους κόλπους μικρού έως μέτριου βάθους, σχήματος U ή V και συγκλίνοντα χείλη. Ο μισχικός κόλπος είναι ανοιχτός, σχήματος U. Το έλασμα είναι κυματώδες, ελαφρώς πομφολυγώδες, μελικηρώδες και στιλπνό, βαθυπράσινο στην άνω και ανοιχτοπράσινο στην κάτω επιφάνεια. Οι νευρώσεις είναι έντονα ερυθρές, λείες στην άνω και μεταξώδεις στην κάτω επιφάνεια. Το μισχικό σημείο είναι έντονα ερυθρό. Ο μίσχος είναι μέτριος, ρόδινος έως ερυθρός, λείος, με οξείς, μικρούς έως μέτριους οδόντες, τοποθετημένους σε δύο σειρές με ανισομεγέθεις πλευρές.

Η σταφυλή είναι μέτρια έως μεγάλη, απλή, κωνική, συχνά με ακανόνιστο σχήμα, περυγώσεις και πυκνή, με ανισομεγέθεις ράγες. Ο ποδίσκος είναι βραχύς, ερυθρωπός και δυσχερούς αποκοπής. Η ράγα είναι μέτρια, σφαιρική έως ελαφρώς ελλειψοειδής, με μέτρια παχύ κυανόμαυρο φλοίο και πυκνή άνθιση. Η σάρκα είναι μέτρια μαλακή, χυμώδης και μάλλον γλυκιά. Ο ποδίσκος είναι βραχύς, με ισχυρή πρόσφυση. Τα γίγαρτα είναι 2-3 ανά ράγα, μικρά, κυρτά και ωοειδή. Η κληματίδα είναι ερυθροκάστανη έως πορτοκαλέρυθρη, με ελλειψοειδή, γωνιώδη και λεία τομή. Η έναρξη της βλάστησης γίνεται το 3ο δεκαήμερο του Μαρτίου, με πλήρη βλάστηση το 2ο δεκαήμερο του Απριλίου. Η άνθιση πραγματοποιείται στις 16-21 Μαΐου, ενώ η ωρίμανση αρχίζει το 3ο δεκαήμερο του Ιουλίου και ολοκληρώνεται στο 1ο-2ο δεκαήμερο του Σεπτεμβρίου (Σταυρακάκης, 2010).



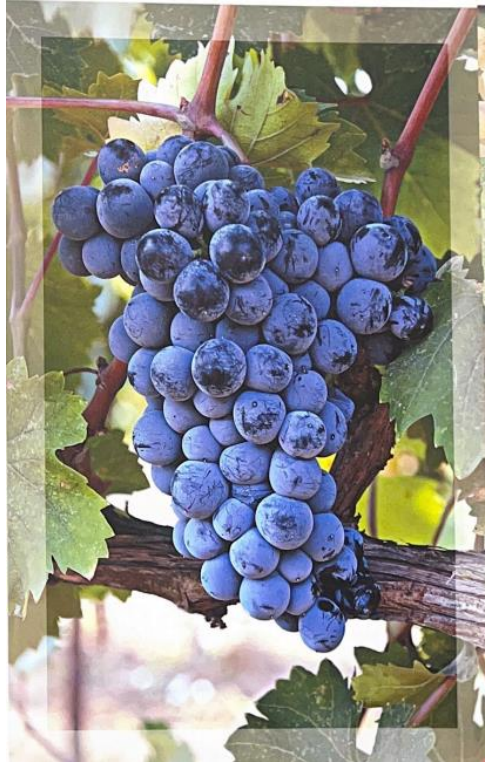
Εικόνα 1.1 Φύλλα της ποικιλίας Λημνιώνα (Πηγή: Σταυρακάκης, 2010)

1.1.3 Ιδιότητες και καλλιεργητική συμπεριφορά

Η ποικιλία είναι μεσοόψιμη, ζωηρή και παραγωγική, με γόνιμους οφθαλμούς στη βάση της κληματίδας (τυφλός και πρώτος λανθάνων). Ο καρποφόρος βλαστός φέρει 1-2 σταφυλές στον 3ο και 4ο κόμβο, ενίοτε και στον 5ο. Ωστόσο, τα διαθέσιμα δεδομένα για την καλλιεργητική συμπεριφορά της ποικιλίας είναι περιορισμένα. Αυτό οφείλεται, αφενός, στη σύγχυση που επικρατεί σχετικά με την ταυτότητά της, καθώς θεωρείται συνώνυμη της ποικιλίας Λημνιό, και αφετέρου, στο γεγονός ότι συχνά καλλιεργείται μαζί με άλλες ποικιλίες, ενώ οι αμιγείς αμπελώνες της είναι ελάχιστοι.

Τα πρέμνα διαμορφώνονται συνήθως σε αμφίπλευρο γραμμικό σύστημα, με αυξημένο ύψος κορμού για προστασία από τις χαμηλές θερμοκρασίες, κυρίως στους αμπελώνες της Θεσσαλίας. Το κλάδεμα καρποφορίας είναι βραχύ, σε κεφαλές με 2-3 οφθαλμούς. Η ποικιλία δεν παρουσιάζει προβλήματα συμβίωσης με διάφορα υποκείμενα και έχει εξαιρετική συμπεριφορά στους εμβολιασμούς. Στον πειραματικό αμπελώνα του Εργαστηρίου Αμπελολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, συμβιώνει αρμονικά με τα υποκείμενα 110 R, 1103 P και 140 Ru, παράγοντας σταφυλές υψηλής ποιότητας.

Η ποικιλία παρουσιάζει μεγάλη προσαρμοστικότητα στα διάφορα εδαφοκλιματικά περιβάλλοντα της χώρας και δεν εμφανίζει ιδιαίτερες απαιτήσεις. Εμπειρικά και ερευνητικά δεδομένα την κατατάσσουν ως αξιόλογη ερυθρή ποικιλία, ικανή να δώσει υψηλής ποιότητας οινικά προϊόντα. Ιδανικά αναπτύσσεται σε ελαφρά, χαλικώδη εδάφη, μέτριας γονιμότητας, με επαρκή υγρασία σε λοφώδεις περιοχές, ενώ το γλεύκος της αποδίδει εξαιρετικά όταν οινοποιείται με κατάλληλη τεχνική. Κατά την πλήρη ωρίμανση, η περιεκτικότητα του γλεύκους σε σάκχαρα κυμαίνεται από 210 έως 220 g/L, η ολική οξύτητα φτάνει τα 4,8-6,8 g/L σε τρυγικό οξύ, και το pH κυμαίνεται μεταξύ 3 και 3,8. Ο χυμός έχει υψηλή περιεκτικότητα σε αργινίνη, που κατά την πλήρη ωρίμανση υπερβαίνει τα 520 mg/L (Σταυρακάκης, 2010).



Εικόνα 1.2 Σταφυλή Λημνιώνας (Πηγή: Σταυρακάκης, 2010)

Συνοπτικά έχει μεγάλα σταφύλια με έντονη πυκνότητα, όπως φαίνεται και από την **Εικόνα 1.2**. Τα σταφύλια διαμορφώνονται σε κυπελλοειδή και γραμμοειδή κορδόνια, με σφαιρική και μεγάλου μεγέθους ράγα. Το φυτό είναι ζωνό και παραγωγικό, προτιμώντας ζεστά κλίματα, με τη συγκομιδή να γίνεται από τα μέσα έως τα τέλη Σεπτεμβρίου.

1.1.4 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων από Λημνίωνα

Από την ποικιλία "Λημνίωνα" μπορούν να παραχθούν οίνοι, λευκοί, ερυθροί ή ροζέ, ανάλογα με τη διαδικασία παραγωγής και τον χειρισμό των σταφυλιών. Οι ερυθροί οίνοι από Λημνίωνα παρουσιάζουν βαθύ σκούρο κόκκινο χρώμα και αρώματα μαύρων φρούτων, μπαχαρικών και ορυκτών. Έχουν σχετικά υψηλές τανίνες, μέτρια αλκοόλη και οξύτητα. Συμμετέχει στους οίνους ΠΓΕ Περία, Τύρναβος, Καρδίτσα (Σταύρακας, 2011). Ένα ιδιαίτερα σημαντικό χαρακτηριστικό της ποικιλίας είναι το αρκετά υψηλό αντιοξειδωτικό δυναμικό (Gougoulis et al., 2018).

1.2 Η χημεία του οίνου

1.2.1 Αλκοολική ζύμωση

Η αλκοολική ζύμωση είναι μια διαδικασία μετατροπής των σακχάρων, κυρίως της γλυκόζης και της φρουκτόζης, σε αιθανόλη και διοξείδιο του άνθρακα μέσω της αναερόβιας εξώθερμης αντίδρασης. Αυτή η διαδικασία περιλαμβάνει τη γενική αντίδραση:



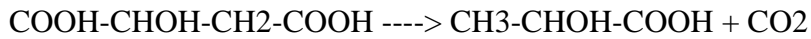
Κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης του οίνου, λαμβάνει χώρα μια σειρά πολύπλοκων διεργασιών. Εκτός από τη μετατροπή της γλυκόζης σε αιθανόλη, δημιουργούνται διάφορες ενώσεις, όπως ανώτερες αλκοόλες, εστέρες, γλυκερόλη, ηλεκτρικό οξύ, διακετύλιο, ακετοΐνη και 2,3-βουτανεδιόλη. Ταυτόχρονα, άλλα συστατικά του γλεύκους, εκτός των σακχάρων, μεταβάλλονται λόγω του μεταβολισμού των ζυμών. Χωρίς αυτά τα παραπροϊόντα, το κρασί θα έχει πολύ περιορισμένο οργανοληπτικό ενδιαφέρον (Goldner et al., 2009).

Η διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης και η αναπνοή των ζυμών ξεκινούν με παρόμοιο τρόπο αποικοδόμησης της γλυκόζης, με κοινό προϊόν το πυροσταφυλικό οξύ. Επιπλέον, η ζύμωση παράγει και γλυκερόλη μέσω της πυροσταφυλικής ζύμωσης. Συγκεκριμένα, το κρασί περιέχει περίπου 8 γραμμάρια γλυκερόλης ανά 100 γραμμάρια αιθανόλης. Το μεγαλύτερο ποσοστό γλυκερόλης παράγεται στην αρχή της ζύμωσης, μετά το οποίο ο ρυθμός παραγωγής της μειώνεται δραστικά, χωρίς ωστόσο να μηδενιστεί ποτέ (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Στην αρχή της οινοποίησης, πολλά διαφορετικά είδη ζυμών μπορεί να βρίσκονται στο γλεύκος. Η βιοποικιλότητα αυτή εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως η ποικιλία του σταφυλιού, το στάδιο ωρίμανσης κατά τον τρυγητό, τις δράσεις αντιμυκητιακών κατά την καλλιέργεια, τις κλιματικές συνθήκες κατά τη σοδειά, τις μολύνσεις από μύκητες και τις μεθόδους καλλιέργειας της αμπέλου που χρησιμοποιήθηκαν (Sapis-Domerq, 1980), (Pretorius et al., 1999). Παράγοντες όπως οι επαφές κατά τη συλλογή και μεταφορά του σταφυλιού, καθώς και οι προζυμωτικές διεργασίες στο οινοποιείο, επηρεάζουν τη σύσταση των ζυμών. Κατά την αυθόρμητη αλκοολική ζύμωση, ποικίλα είδη ζυμών, συμπεριλαμβανομένων των *Kloeckera*, *Hanseniaspora*, και *Candida*, δραστηριοποιούνται στα αρχικά στάδια, με *Pichia* και *Metschnikowia* να εμφανίζονται στα μεσαία, ενώ ο *Saccharomyces cerevisiae* κυριαρχεί στα τελικά στάδια λόγω της ανθεκτικότητάς του στο αιθανόλη. Κάποια είδη ζυμών μπορεί να επηρεάσουν αρνητικά τη γευση και τα αρώματα του οίνου. Η δραστική επιλεκτική δράση του θειώδη ανυδρίτη στην ανάπτυξη των ζυμών σε συνδυασμό με την υψηλή αντοχή του *S. cerevisiae* ευνοεί την ανάπτυξη του και την αύξηση του πληθυσμού του (Beltran et al., 2002, Constantí et al., 1997, Mortimer and Polsinelli, 1999). Παρά τη δυνατότητα εμβολιασμού με ξηρές ζύμες για ελεγχόμενη ζύμωση, ορισμένα παραδοσιακά οινοποιεία προτιμούν την αυθόρμητη αλκοολική ζύμωση, θεωρώντας ότι συμβάλλει στην πολυπλοκότητα και τη χαρακτηριστική ποιότητα των οίνων τους (Ribéreau-Gayon et al., 2006), (Goldner et al., 2009).

1.2.2 Μηλογαλακτική ζύμωση

Η μηλογαλακτική ζύμωση είναι μια διαδικασία που συμβαίνει μετά την αλκοολική ζύμωση στο κρασί. Αυτή η δευτερεύουσα ζύμωση προκαλεί τη μετατροπή του L-μηλικού οξέος σε L-γαλακτικό οξύ από ειδικά βακτήρια, κυρίως το *Oenococcus oeni*. Αυτό το βακτήριο μπορεί να επιβιώσει σε σκληρές συνθήκες που επικρατούν στο κρασί, όπως το χαμηλό pH (κάτω από 3,5), υψηλά επίπεδα αλκοόλης (πάνω από 10 vol. %) και το διοξείδιο του θείου (συνήθως άνω των 50 mg/L). Αυτή η διαδικασία περιλαμβάνει τη γενική αντίδραση:



Σε ορισμένες περιπτώσεις, και άλλα βακτήρια όπως τα *Lactobacillus*, *Leuconostoc* και *Pediococcus* μπορούν να συμβάλουν στη μηλογαλακτική ζύμωση, ιδίως όταν το pH του οίνου υπερβαίνει το 3,5 (Bauer et al., 2004). Η μηλογαλακτική ζύμωση είναι χρήσιμη για τη βελτίωση της ποιότητας του οίνου. Βοηθά στη μείωση της οξύτητας, ειδικά σε οίνους με υψηλά επίπεδα οξύτητας, ενώ παράλληλα συμβάλλει στην ενίσχυση των γευστικών και αρωματικών χαρακτηριστικών του οίνου, προσδίδοντάς του μεγαλύτερη πολυπλοκότητα. Επιπλέον, συμβάλλει στη μικροβιακή σταθερότητα του οίνου, προστατεύοντάς το από ανεπιθύμητες διαδικασίες ζύμωσης ή εκφραστικές αλλαγές στη γεύση (Diez-Ozaeta et al., 2021). Η μη ελεγχόμενη μηλογαλακτική ζύμωση μπορεί να είναι επικίνδυνη για την ποιότητα του οίνου. Κατά τη διάρκειά της, υπάρχει κίνδυνος παραγωγής ανεπιθύμητων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, όπως οξικού οξέος και ορισμένων πτητικών φαινολικών ενώσεων. Επιπλέον, μπορεί να παραχθούν ουσίες που αποτελούν κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία, όπως ο καρβαμιδικός αιθυλεστέρας και βιογενείς αμίνες (Cañas et al., 2008).

Στα ελληνικά γλεύκη, η ποσότητα του μηλικού οξέος είναι συνήθως χαμηλή ή ακόμα και ελάχιστη λόγω της καλής ωρίμανσης των σταφυλιών. Παρόλα αυτά, η μηλογαλακτική ζύμωση συνήθως πραγματοποιείται. Κατά τη διάσπαση του μηλικού οξέος, μπορεί να προκληθεί προσβολή του κιτρικού οξέος του οίνου με αποτέλεσμα την παραγωγή οξικού οξέος, που μπορεί να αυξήσει την πτητική οξύτητα του οίνου (Constantini et al., 2009), (Τσέτουρας, 1998).

1.2.3 Οι βασικές ενώσεις του οίνου

Το κρασί είναι ένα πολύπλοκο μείγμα χημικών ενώσεων που περιλαμβάνει περίπου 800-1000 διαφορετικές ενώσεις. Τα δύο βασικά συστατικά του, το νερό και η αιθανόλη, αποτελούν περίπου το 98-99% του συνόλου του οίνου. Ωστόσο, η γευστική και αρωματική πολυπλοκότητα του οίνου εξαρτάται από τουλάχιστον είκοσι επιπλέον ενώσεις, ενώ ακόμα περισσότερες συμβάλλουν στις διαφορές μεταξύ οίνων διαφορετικών ποικιλιών (Jackson et al., 2008). Τα φαινολικά συστατικά έχουν κρίσιμο ρόλο στα φυσιολογικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου (Jackson et al., 2008). Επειδή αποτελούν τον πυρήνα της έρευνας αυτής της διπλωματικής εργασίας, θα αναλυθούν διεξοδικά σε επόμενο κεφάλαιο. Ορισμένες από τις βασικότερες κατηγορίες ενώσεων που εμφανίζονται στο κρασί αναλύονται παρακάτω:

1.2.3.1. Αλκοόλες

Η αιθανόλη είναι το βασικό προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης και αποτελεί την κυριότερη αλκοόλη στο κρασί. Κατά την οινοποίηση, η συνήθης περιεκτικότητα του οίνου σε αιθανόλη φτάνει το 14-15% vol, αλλά μπορεί να αυξηθεί με την προσθήκη σακχάρων ή συμπυκνωμένου γλεύκους, διαδικασία που ονομάζεται ενίσχυση του οίνου. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή αιθανόλης είναι τα σάκχαρα, η θερμοκρασία της ζύμωσης και οι ζύμες που χρησιμοποιούνται. Η υψηλή αντοχή του *Saccharomyces cerevisiae* στην αιθανόλη εξηγεί τη διαδεδομένη χρήση του στη βιομηχανία οίνου. Η αιθανόλη συμβάλλει στη σταθεροποίηση του οίνου, την παλαίωσή του και τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά. Η ιδιότητά της να σχηματίζει δεσμούς υδρογόνου επηρεάζει την παλαίωση υδρόφιλων κολλοειδών, πρωτεϊνών και πολυσακχαριτών. Επιπλέον, έχει απολυμαντικές ιδιότητες και σε συνδυασμό με την οξύτητα διατηρεί το κρασί σταθερό με την πάροδο του χρόνου. Κατά την παλαίωση, αντιδρά με ορισμένα οργανικά οξέα, παράγοντας εστέρες, επηρεάζοντας επίσης τη σταθερότητά τους. Επίσης, αντιδρά αργά με αλδεΐδες για την παραγωγή ακεταλών. Επηρεάζοντας τη μεταβολική δραστηριότητα των ζυμών, η αιθανόλη καθορίζει τα αρωματικά συστατικά που παράγονται, ενώ επίσης συμβάλλει στην παραγωγή ορισμένων πτητικών ουσιών. Επιπλέον, αποτελεί σημαντικό

διαλύτη στο κρασί, εξασφαλίζοντας τη διάλυση αρωματικών ενώσεων. Βοηθάει στη διάλυση μη πολικών αρωματικών, στην παλαίωση σε ξύλινα βαρέλια και εμποδίζει την απώλεια αρωματικών ενώσεων από το διοξείδιο του άνθρακα κατά τη ζύμωση.

Η μεθανόλη παρουσιάζεται στο κρασί σε πολύ μικρές ποσότητες (30-35 mg/l) και δεν ανιχνεύεται οργανοληπτικά. Μεταβολίζεται σε φορμαλδεΐδη και φορμικό οξύ τα οποία έχουν τοξική δράση και γι' αυτό η παρουσία της στο κρασί είναι πάντα σε συγκεντρώσεις πολύ μικρότερες του επιτρεπτού ορίου. Παράγεται κυρίως από τη διάσπαση των πηκτινών (Gnekow et al., 1976). Οι ανώτερες αλκοόλες, εκτός από την εξάνολη, εμφανίζονται συνήθως σε μικρές συγκεντρώσεις. Παράγονται ως παραπροϊόντα της ζύμωσης και μπορούν να συνιστούν μέχρι και το 50% των αρωματικών συστατικών του οίνου. Επιπλέον, στο κρασί υπάρχουν διόλες και πολυόλες (πολυαλκοόλες), με τη γλυκερόλη να ξεχωρίζει ως η σημαντικότερη πολυόλη. Η γλυκερόλη είναι συνήθως η ουσία με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση μετά το νερό και την αιθανόλη. Αυτή η ένωση επηρεάζει το ιξώδες του οίνου και προσδίδει μια γλυκιά γεύση στους ξηρούς οίνους, ιδίως όταν η συγκέντρωσή της ξεπερνά το όριο ανίχνευσης (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

1.2.3.2. Σάκχαρα

Τα σταφύλια περιέχουν βασικά σάκχαρα, όπως η γλυκόζη και η φρουκτόζη, με μικρές ποσότητες άλλων σακχάρων. Συνήθως, ο λόγος γλυκόζης προς φρουκτόζη είναι περίπου 0,95 στο γλεύκος. Η βασική οινική ζύμη, η *Saccharomyces cerevisiae*, αντλεί τη μεγαλύτερη μερίδα της ενέργειάς της από αυτά τα σάκχαρα. Επειδή η ικανότητα της να ζυμώνει άλλες ουσίες είναι περιορισμένη, είναι σημαντικό η μεγαλύτερη ποσότητα των θρεπτικών συστατικών στο γλεύκος να είναι σε μορφή γλυκόζης και φρουκτόζης. Τα ζυμάσματα σάκχαρα μπορούν να δώσουν ανώτερες αλκοόλες, εστέρες λιπαρών οξέων και αλδεΐδες ως παραπροϊόντα (Roig et al., (2003). Τα σάκχαρα που δεν ζυμώνονται αναφέρονται ως υπολειπόμενα σάκχαρα. Στους ξηρούς οίνους, τα υπολειπόμενα σάκχαρα αποτελούνται κυρίως από πεντόζες όπως η αραβινόζη και η ξυλόζη, και σε μικρότερες ποσότητες από αζύμωτη γλυκόζη και φρουκτόζη. Η περιεκτικότητα των υπολειπόμενων σακχάρων στους ξηρούς οίνους συνήθως είναι χαμηλότερη από 1,5 g/L, μπορεί όμως να αυξηθεί ελαφρώς κατά την παλαίωση σε δρύινα βαρέλια λόγω της διάλυσης γλυκοζιδίων από το ξύλο και της διάσπασής τους (Ribéreau-Gayon et al., 2006, Pozo-Bayón et al., 2009).

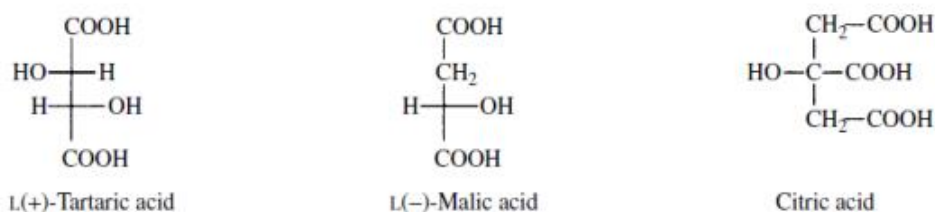
1.2.3.3 Οργανικά Οξέα

Τα οργανικά οξέα στους οίνους συμβάλλουν στο σύνολο των αρωματικών και γευστικών τους χαρακτηριστικών. Τα τρία κύρια οργανικά οξέα του σταφυλιού: τρυγικό, μηλικό και κιτρικό οξύ (βλ. **Εικόνα 1.3**). Στους λευκούς οίνους, η υψηλή οξύτητα μπορεί να βελτιώσει την δυνατότητά τους να παλαιώσουν, ενώ οι ερυθροί οίνοι, λόγω της παρουσίας των φαινολικών συστατικών, μπορούν να διατηρήσουν τη σταθερότητα και σε χαμηλότερα επίπεδα οξύτητας κατά τη διάρκεια της παλαίωσής τους (Robles et al., 2019).

Το τρυγικό οξύ είναι ένα από τα κυρίαρχα οξέα στο σταφύλι και στο γλεύκος. Πριν την ωρίμανση, η συγκέντρωση του σταφυλιού σε τρυγικό οξύ μπορεί να φτάσει μέχρι τα 15 g/L. Στο γλεύκος, οι συγκεντρώσεις του συνήθως ξεπερνούν τα 6 g/L σε αμπελώνες βορείων περιοχών και μπορεί να είναι 2-3 g/L στους νότιους αμπελώνες. Οι εστέρες και τα άλατα του τρυγικού οξέος που προέρχονται από τις οινοβιομηχανίες χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων και ποτών (Ribereau-Gayon et al., 2006). Επιπλέον το τρυγικό οξύ, λόγω του περιορισμένου αριθμού μικροοργανισμών που το μεταβολίζουν, συχνά προστίθεται σε οίνους με υψηλό pH για να αυξήσει την οξύτητα τους. Κατά την παλαίωση, παράγωγα του τρυγικού

οξέος διαλύονται και τείνουν να κρυσταλλοποιούνται, καταλήγοντας σε κατακράτηση και ιζηματοποίηση. Η ψύξη του οίνου προς το τέλος της οινοποίησης επιταχύνει αυτή τη διαδικασία, επιτρέποντας την πρόωρη δημιουργία ιζήματος για να αποφευχθεί η κρυσταλλοποίηση στη φιάλη (Jackson et al., 2008).

Το μηλικό οξύ είναι ένα από τα κύρια οξέα που περιέχονται στα σταφύλια. Στην αρχή τα σταφύλια περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις μηλικού οξέος, φθάνοντας ακόμη και τα 25 g/L. Κατά τη διάρκεια της περιόδου περκασμού, αυτή η συγκέντρωση μειώνεται στο ήμισυ. Όταν τα σταφύλια ωριμάζουν, η συγκέντρωση του μηλικού οξέος μειώνεται ακόμη περισσότερο, ποικίλλοντας από 4 έως 6,5 g/L σε πιο βόρειους τόπους και πέφτοντας αισθητά σε περιοχές του νότου, σε συγκεντρώσεις 1 έως 2 g/L. Αποτελεί περίπου το 50% της συνολικής οξύτητας τόσο του σταφυλιού όσο και του οίνου και προσδίδει τη χαρακτηριστική ξινή γεύση. Η ποσότητα του μηλικού οξέος αποτελεί σημαντικό δείκτη για την αρχή της περιόδου τρυγητού (Volschenk et al., 2006). Τα σταφύλια περιέχουν επίσης κιτρικό οξύ σε μικρές συγκεντρώσεις (περίπου 0,5-1 g/L) και ασκορβικό οξύ. Ωστόσο, το ασκορβικό οξύ καταναλώνεται από τις ζύμες και δεν παραμένει στο τελικό προϊόν (Shimazu et al., 1985).



Εικόνα 1.3 Τα κύρια οργανικά οξέα του σταφυλιού: τρυγικό, μηλικό και κιτρικό οξύ. (Πηγή: Tsakiris, 1998)

Το γλεύκος περιέχει ουρονικά οξέα (όπως το γαλακτουρονικό και το γλυκουρονικό οξύ) και φαινολικά οξέα της κινναμωμικής ομάδας (όπως το κουμαρικό οξύ), τα οποία εστεροποιούνται με παράγωγα του τρυγικού οξέος. Τα περισσότερα οργανικά οξέα στο γλεύκος και στο κρασί περιλαμβάνουν πολυ-λειτουργικά μόρια, πολλά από τα οποία είναι υδροξυ-οξέα. Οι δύο αυτές λειτουργικές ομάδες προσδίδουν στα οξέα πολικά και υδρόφιλα χαρακτηριστικά. Αυτό το χαρακτηριστικό επιτρέπει στα οξέα να είναι διαλυτά τόσο στο νερό όσο και σε αραιά αλκοολικά διαλύματα, όπως το κρασί. Αυτή η πολυ-λειτουργική φύση είναι υπεύθυνη για τη χημική τους ενεργότητα και τη δυνατότητά τους να εξελίσσονται κατά την παλαίωση του οίνου (Richard et al., 2009).

1.2.3.4 Άλλες κατηγορίες ενώσεων

Οι εστέρες στο κρασί προέρχονται από δύο διαφορετικές διαδικασίες: μέσω ενζυμικής εστεροποίησης κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης και μέσω χημικής εστεροποίησης κατά τη μακράς διάρκειας παλαίωσης. Κατά την παλαίωση, η περιεκτικότητα σε εστέρες αυξάνεται σημαντικά, με αποτέλεσμα παλαιωμένους οίνους να περιέχουν πολύ περισσότερες εστέρες σε σύγκριση με τους νεαρούς οίνους (Antalick et al., 2014). Οι εστέρες συνεισφέρουν στο άρωμα του οίνου. Η διαδικασία της εστεροποίησης συνιστά σημαντικό στάδιο στο σχηματισμό και την εξέλιξη των αρωμάτων στο κρασί, επηρεάζοντας την τελική γευστική εμπειρία του καταναλωτή. Ενώ ο οξικός αιθυλεστέρας προσδίδει απωθητική οσμή στο κρασί, άλλοι εστέρες όπως οι οξικοί εστέρες του 2-μεθυλοπροπυλίου, του 3-μεθυλοβουτυλίου, του 2-

φαινολοαιθυλίου και αιθυλεστέρες των λιπαρών οξέων με ζυγό αριθμό ατόμων άνθρακα αποτελούν σημαντικά συστατικά του αρώματος του οίνου. Οι παράγοντες που επηρεάζουν τον σχηματισμό ανώτερων εστέρων κατά την αλκοολική ζύμωση είναι ποικίλοι, περιλαμβάνοντας το είδος και τη φύση των ζυμών, τη θερμοκρασία της ζύμωσης, το pH, τον αερισμό του γλεύκους και την τεχνική οινοποίησης. Αυτοί οι παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν την ποικιλία και την ποσότητα των εστέρων που παράγονται κατά την ζύμωση και συνεπώς το άρωμα του οίνου (Sumbly, et al., 2010).

Οι κετόνες στο σταφύλι διαδραματίζουν καίριο ρόλο στο άρωμα του οίνου. Παρόλο που ο αριθμός των κετόνων στο σταφύλι είναι περιορισμένος, πολλές από αυτές διατηρούνται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης και συμβάλλουν στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου. Μία από αυτές τις σημαντικές κετόνες είναι η β-δαμασκηνόνη (β-damascenone), η οποία προσδίδει έντονα αρώματα εξωτικών λουλουδιών και τριαντάφυλλου, ειδικά σε λευκές ποικιλίες όπως το Chardonnay και το Riesling. Επίσης, στις ερυθρές ποικιλίες, η β-ιονίνη (β-ionone) συμβάλλει σε χαρακτηριστικά αρώματα βιολέτας και σμέουρου. Παρόλο που πολλές κετόνες παράγονται κατά την αλκοολική ζύμωση, λίγες από αυτές έχουν σημαντική οργανοληπτική σημασία. Οι προαναφερθείσες κετόνες ανήκουν στις ελάχιστες που συμβάλλουν στο συνολικό άρωμα του οίνου. Οι εκάστοτε ποικιλίες και οι διαφορετικές συνθήκες ζύμωσης επηρεάζουν την παραγωγή και τη σημασία των κετόνων, επηρεάζοντας έτσι το τελικό οργανοληπτικό προφίλ του οίνου (Lloyd, 2013), (Pons et al., (2008).

Τα αμινοξέα είναι ουσιώδη στην οινοποίηση, αφού επηρεάζουν την οργανοληπτική ποιότητα του οίνου. Πολλά από αυτά συμβάλλουν στη δημιουργία του αρώματος και της γεύσης του οίνου. Κάθε αμινοξύ έχει τη δική του προσφορά στο προφίλ γεύσης και αρώματος. Το γλουταμικό οξύ, για παράδειγμα, μπορεί να προσδώσει γεύση από φρούτα ή έντονες νότες ζύμης. Το αλανίνη προσδίδει ισορροπία στη γεύση και τη δομή του οίνου, ενώ το αργινίνη μπορεί να συμβάλει στην ανάπτυξη αρωμάτων λουλουδιών και φρούτων. Ακόμη, η παρουσία ή η απουσία συγκεκριμένων αμινοξέων και η σχετική τους ποσότητα μπορεί να επηρεάσει τον τρόπο με τον οποίο αλληλεπιδρούν με άλλα συστατικά του οίνου, όπως οι τανίνες ή τα φαινολικά συστατικά, επηρεάζοντας έτσι το τελικό αποτέλεσμα στη γεύση και το άρωμα του οίνου. Τα αμινοξέα επίσης μπορεί να επηρεάσουν τη σταθερότητα του οίνου και τη διατήρησή του με την πάροδο του χρόνου (Lehtonen, 1996), (Valero et al., 2003).

Οι πηκτινικές ουσίες στο κρασί, όπως οι πηκτίνες και οι οζάνες, ανήκουν στην ομάδα των πολυσακχαριτών και είναι πολυμερή σακχαρώδη οξέα. Αυτές οι ενώσεις μπορούν να προκαλέσουν θόλωση ή σχηματισμό μη διαλυτών σωματιδίων, εμποδίζοντας τη διαύγαση του κρασιού. Για την απομάκρυνσή τους, χρησιμοποιούνται πηκτινολυτικά ένζυμα, τα οποία διασπούν τις πηκτινικές ουσίες, συμβάλλοντας στη διαύγαση του γλεύκους και στη βελτίωση της ποιότητας του τελικού προϊόντος. Η επεξεργασία με πηκτινολυτικά ένζυμα είναι μια συνηθισμένη πρακτική στην οινοποίηση και βοηθά στην καθαρότητα του οίνου (Τσακίρης, 1998), (Espejo et al., 2021).

Οι τερπενικές ενώσεις αποτελούν μια σημαντική κατηγορία οργανικών ενώσεων στο κρασί και είναι υπεύθυνες για τα έντονα αρώματα ορισμένων ποικιλιών, όπως το Μοσχάτο και το Riesling. Ορισμένες χαρακτηριστικές τερπενικές ενώσεις περιλαμβάνουν τη λιναλόλη, τη (cis) γερανόλη, τη (trans) νερόλη και την α-τερπινεόλη (Marais et al., 1983).

Στο κρασί υπάρχουν επίσης πλήθος βιταμινών, ενζύμων και ανόργανων ενώσεων, περιλαμβανομένων ανιόντων και κατιόντων ανόργανων αλάτων. Αυτά τα συστατικά

συμβάλλουν στην ποικιλία και την πολυπλοκότητα της χημείας του οίνου, καθώς και στα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά (Baumes et al., 2009).

1.3 Φαινολικά συστατικά του σταφυλιού και του οίνου

Τα φαινολικά συστατικά αποτελούν μια ποικιλόμορφη ομάδα χημικών ενώσεων που περιλαμβάνουν τις απλές φαινόλες και τις πολυφαινόλες. Οι απλές φαινόλες περιλαμβάνουν τις κλασικές χημικές ενώσεις με έναν αρωματικό δακτύλιο και ένα ή περισσότερα υδροξύλια ως υποκαταστάτες, όπως η κατεχόλη και η κατεχίνη. Τα φαινολικά συστατικά είναι σημαντικά για πολλές πτυχές του οίνου. Επηρεάζουν το χρώμα και τη στυφότητα στους ερυθρούς οίνους και προσδίδουν την κιτρινωπή απόχρωση στους λευκούς. Αυτά τα συστατικά διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο ως φυσικά συντηρητικά, λόγω των ιδιοτήτων τους ως αντιοξειδωτικά και αντιμικροβιακά παράγοντα. Αντίθετα, οι πολυφαινόλες είναι πιο πολύπλοκες ενώσεις με πολλαπλούς φαινολικούς δακτυλίους στη δομή τους. Πολλές από αυτές τις ενώσεις βρίσκονται στο κρασί και προέρχονται από τα σταφύλια και τη διαδικασία οινοποίησης. Οι φαινολικές ενώσεις παίζουν σημαντικό ρόλο στο κρασί, επηρεάζοντας το χρώμα, τη γεύση και το άρωμά του. Επίσης, συμβάλλουν στην προστασία του από την οξείδωση και άλλες διαδικασίες παλαίωσης. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η κατηγορία των φαινολικών συστατικών περιλαμβάνει μια ευρεία γκάμα ενώσεων με διαφορετικές δομές και λειτουργίες. Αυτή η ποικιλομορφία ενισχύει την πολυπλοκότητα και την ποικιλία των αρωμάτων και των γεύσεων που συναντάμε στα διάφορα είδη οίνων. Ωστόσο, μπορούν να δημιουργήσουν θολότητα ή ιζήματα στο κρασί. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην παρουσία ορισμένων ειδών φαινολικών ενώσεων και στον σχηματισμό συμπλόκων με άλλα συστατικά. Η παρουσία των φαινολικών συστατικών επίσης, μπορεί να προκαλέσει προβλήματα στο φιλτράρισμα του οίνου, κορεσμός των φίλτρων (Robards et al., 1999), (Jackson et al., 2008). Παρ' όλα αυτά, τα συστατικά αυτά διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην ποιότητα του οίνου, συμβάλλοντας στην ανάπτυξη συγκεκριμένων αρωμάτων και γεύσεων, ενώ παράλληλα το προστατεύουν από την οξείδωση και τη μικροβιακή αλλοίωση. Η διατήρηση της ισορροπίας αυτών των στοιχείων αποτελεί πρόκληση για τον οινοποιό, καθώς καλείται να εξασφαλίσει τη σωστή σχέση ανάμεσα στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου (Cheynier et al., 2006), (Jackson et al., 2008).

Τα φαινολικά συστατικά του οίνου προέρχονται κατά κύριο λόγο από το σταφύλι και πιο συγκεκριμένα από τα στερεά του μέρη, τον φλοιό και τα γίγαρτα. Βρίσκονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα ερυθρούς οίνους, στα οποία εκχυλίζεται το μεγαλύτερο μέρος, ύστερα από την επαφή με τα στέμφυλα. Μικρότερες ποσότητες προσλαμβάνονται από το ξύλο των βαρελιών ενώ σε πολύ μικρές ποσότητες φαινολικά παράγονται από τον μεταβολισμό των ζυμών και μπορούν να εκχυλιστούν από τον φελλό της φιάλης αν έρθει σε επαφή με το κρασί (Jackson et al., 2008), (Conde et al., 2007). Τα φαινολικά συστατικά του οίνου μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο βασικές κατηγορίες: τα διφαινυλοπροπανοειδή (φλαβονοειδή) και τα φαινυλοπροπανοειδή (μη φλαβονοειδή). Τα φαινυλοπροπανοειδή ή μη φλαβονοειδή περιέχουν τα υδροξυ-βενζοϊκά και υδροξυ-κινναμωμικά οξέα, γνωστά και ως φαινολικά οξέα. Τα διφαινυλοπροπανοειδή, γνωστά και ως φλαβονοειδή, περιλαμβάνουν τις φλαβονόλες, τις φλαβαν-3-όλες και τις ανθοκυάνες (Minussi et al., 2003).

1.3.1. Μη φλαβονοειδή

Τα φαινολικά οξέα στο κρασί, που δεν έχει παλαιωθεί, είναι κυρίως τα υδροξυ-κινναμωμικά και υδροξυ-βενζοϊκά οξέα. Στην **Εικόνα 1.4** βλέπουμε και την χημική τους δομή. Βρίσκονται κυρίως στον χυμό των κυττάρων του φλοιού και της σάρκας των σταφυλιών και εκχυλίζονται εύκολα κατά τη θραύση των σταφυλιών. Σε σύγκριση με τα φλαβονοειδή, τα φαινολικά οξέα έχουν απλούστερη δομή καθώς αποτελούνται από μία C3-C6 κεντρική αλυσίδα. Η

περιεκτικότητά τους είναι περίπου 100-200 mg/L στους ερυθρούς οίνους και 10-20 mg/L στους λευκούς. Αν και είναι άχρωμα σε καθαρό αλκοολικό διάλυμα, μπορεί να αποκτήσουν κίτρινη απόχρωση αν οξειδωθούν. Ορισμένα από τα παράγωγά τους, κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, είναι πτητικά φαινολικά συστατικά που επηρεάζουν το αρωματικό προφίλ του οίνου. Ωστόσο, από οργανοληπτικής πλευράς, δεν έχουν συγκεκριμένα γευστικά ή αρωματικά χαρακτηριστικά (Jackson et al., 2008), (Rentzsch et al., 2009).

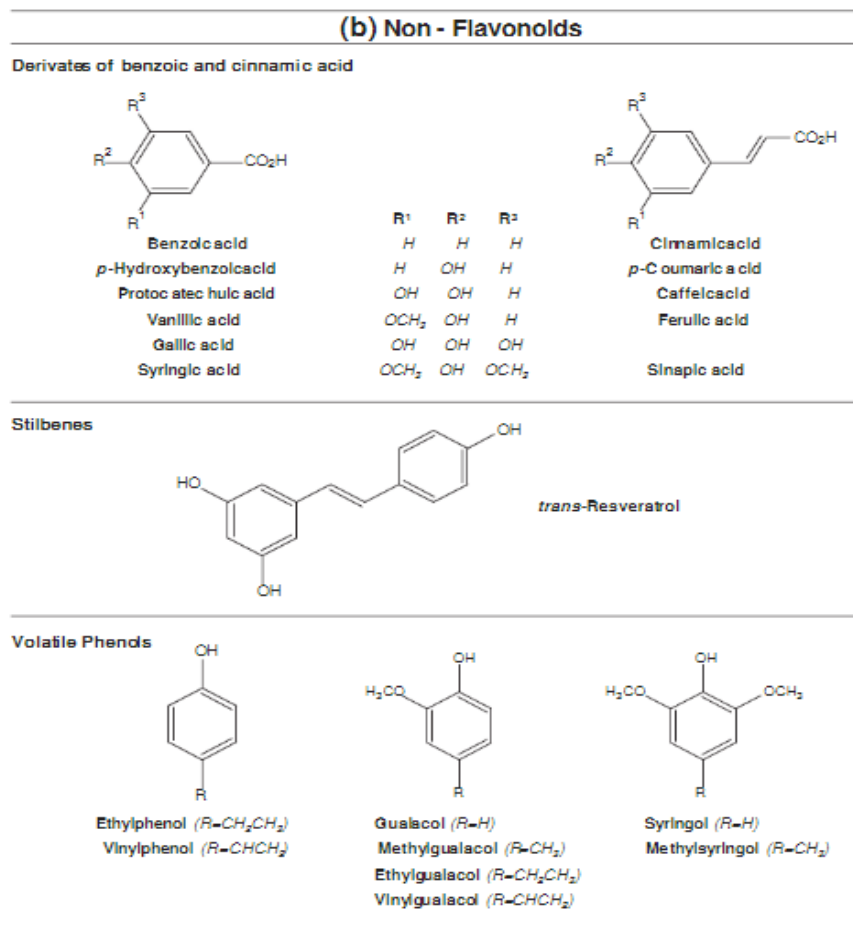
Τα υδροξυ-κιναμωμικά οξέα και τα παράγωγά τους εμφανίζονται σε μεγαλύτερες ποσότητες σε σύγκριση με άλλα φαινολικά στο κρασί. Συνήθως εμφανίζονται ως εστέρες από την αντίδρασή τους με το τρυγικό οξύ, αλλά μπορούν επίσης να αντιδράσουν με σάκχαρα, αλκοόλες και άλλα οργανικά οξέα. Κάποιες από τις αντιδράσεις του τρυγικού οξέος με το καφταρικό, το κουταρικό και το φερταρικό οξύ παράγουν τις εστέρες του καφεϊκού, του p-κουμαρικού και του φερουλικού οξέος αντίστοιχα. Αυτοί οι εστέρες αποσυντίθενται στα μονομερή τους υπό την επίδραση της πηκτινο-μεθυλο-εστεράσης και αργά υδρολύονται κατά την αλκοολική ζύμωση. Όταν τα κιναμωμικά οξέα ενωθούν με ανθοκυανικούς μονοσακχαρίτες, δημιουργούν ακυλιωμένες ανθοκυάνες μέσω εστεροποίησης του καφεϊκού και του p-κουμαρικού με τη γλυκόζη του γλυκοζίτη (Ribéreau-Gayon et al., 2006), (Rentsch et al., 2007).

Από τα βενζοϊκά οξέα, έχουν ταυτοποιηθεί 7 στο κρασί. Η διαφοροποίηση μεταξύ τους σχετίζεται με τους υποκαταστάτες του βενζοϊκού τους δακτυλίου. Στα σταφύλια, εμφανίζονται κυρίως ως συνδυασμοί γλυκοζιτών, οι οποίοι απελευθερώνονται με υδρόλυση παρουσία οξέος, ενώ μπορεί να παρουσιάζονται και σε εστερική μορφή. Η ελεύθερη μορφή εμφανίζεται κυρίως σε ερυθρούς οίνους λόγω της υδρόλυσης των γλυκοζιτών, αλλά επίσης μπορεί να προκύψει από αντιδράσεις θερμικής αποσύνθεσης πιο πολύπλοκων ενώσεων, ειδικά των ανθοκυανών. (Ribéreau-Gayon et al., 2006, Κοτσερίδης, 2006).

Το καφταρικό οξύ (μια ο-διφαινόλη) είναι ένα από τα πιο συνηθισμένα μη φλαβονοειδή συστατικά των σταφυλιών. Διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην διαδικασία οξείδωσης των πολυφαινολών, συμβάλλοντας στη δημιουργία του χαρακτηριστικού χρώματος του οίνου και του οξειδωτικού καφετιάσματος του γλεύκους. Τα οξειδωμένα παράγωγά του συμβάλλουν στην κίτρινη ή χρυσή απόχρωση των λευκών οίνων. Στα ερυθρούς οίνους, η υψηλή περιεκτικότητα σε ανθοκυανίνες και προκυανιδίνες καλύπτει την παρουσία των οξειδωμένων μη φλαβονοειδών του σταφυλιού. Οι οίνοι που παλαιώνουν σε δρύινα βαρέλια εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα υδροξυ-βενζοϊκού οξέος και των παραγώγων του, ειδικά του ελλαγικού οξέος. Το ελλαγικό οξύ παράγεται από την υδρολυτική διάσπαση των ελλαγι-τανινών, πολυμερών του εξα-υδροδιφενικού οξέος εστεροποιημένων με γλυκόζη. Οι ελλαγι-τανίνες αποτελούν μια ομάδα υδρολύσιμων τανινών που σχηματίζονται από μονομερή του γαλλικού οξέος, αλλά αποτελούν μόνο το 5% των ολικών υδρολυόμενων τανινών του ξύλου του βαρελιού.

Τα παράγωγα του ελλαγικού οξέος, όπως οι ελλαγι-τανίνες, μπορούν να συμβάλλουν στη σταθεροποίηση του κόκκινου χρώματος του οίνου μέσω σχηματισμού συμπλόκων ("copigments") με τις ανθοκυάνες. Η δυνατότητά τους να οξειδώνονται εύκολα κάνει αυτές τις ενώσεις ενεργές στην κατανάλωση οξυγόνου σε οίνους που παλαιώνουν σε δρύινα βαρέλια. Η εκχύλιση μη φλαβονοειδών σε οίνους που παλαιώνουν σε ξύλο καστανιάς είναι ελαφρώς διαφορετική, με αντίστοιχες ενώσεις να εκχυλίζονται στην περίπτωση αυτή. Η υποβάθμιση των λιγνινών στη δρυός απελευθερώνει πτητικά κιναμοαλδεΰδικα και βενζοαλδεΰδικα παράγωγα, όπως η βανιλίνη, η σιναπαλδεΰδη, η κονιφεραλδεΰδη και η συρινγκαλδεΰδη. Επίσης, εκχυλίζονται μικρές ποσότητες άλλων φαινολικών όπως η εσκουλίνη και η σκοπολίνη, οι οποίες ανήκουν στις κουμαρίνες. Οι κουμαρίνες είναι παράγωγα του κιναμωμικού οξέος και δημιουργούνται από την εστεροποίηση ενός φαινολικού υδροξυλίου. Η μετατροπή της

εσκουλίνης σε λιγότερο πικρή εσκουλετίνη θεωρείται υπεύθυνη για τη μείωση της πικρίας σε οίνους που παλαιώνουν σε δρύινα βαρέλια (Jackson et al., 2008, Ribéreau-Gayon et al., 2006).



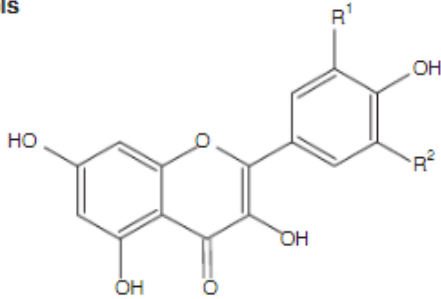
Εικόνα 1.4 Μη φλαβονοειδή κυριότερες κατηγορίες. (Πηγή: Oliveira et al., 2011)

Ο μεταβολισμός των ζυμών μπορεί να δημιουργήσει ορισμένα μη φλαβονοειδή φαινολικά, με την τυροσόλη να είναι το πιο κοινό και την τρυπτοφόλη να παρουσιάζεται σε μικρότερες ποσότητες. Μια επιπλέον κατηγορία πολυφαινολών είναι τα στυλβένια. Τα στυλβένια αποτελούνται από δύο βενζολικούς δακτυλίους και συνήθως ενώνονται με μία αιθανική ή αιθυλενική αλυσίδα. Ένα δημοφιλές παράδειγμα είναι η ρεσβερατρόλη, προερχόμενη από τους σταφύλους, εκχυλίζεται κατά την αλκοολική ζύμωση και έχει μελετηθεί για τις θετικές της επιδράσεις στην υγεία (Ribéreau-Gayon et al., 2006, Κοτσερίδης, 2006). Τα μη φλαβονοειδή του σταφυλιού προέρχονται κυρίως από την φαινυλανανίνη Από την άλλη πλευρά, αυτά που προέρχονται από τη ζύμωση είναι παράγωγα του αιθανικού οξέος (Hrazdina et al., 1984).

1.3.2 Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή αποτελούν μια ευρεία κατηγορία φυσικών μεταβολιτών που απαντώνται σε μεγάλη ποικιλία ανώτερων φυτών και βρύων. Η χημική τους δομή φαίνεται στην Εικόνα 1.5. Αυτές οι ενώσεις εκτελούν ποικίλες βιολογικές λειτουργίες, όπως η προστασία από την υπεριώδη (UV) ακτινοβολία, η ρύθμιση ενζυματικών δραστηριοτήτων και η άμυνα απέναντι σε μολυσματικούς παράγοντες. Στην ανθρώπινη διατροφή, τα φλαβονοειδή διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο, συνεισφέροντας θετικά στην υγεία μέσω των αντιοξειδωτικών τους ιδιοτήτων και της ικανότητάς τους να εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες.

Flavonols



Kaempferol ($R^1=R^2=H$)

Quercetin ($R=OH, R^2=H$)

Myricetin ($R^1=R^2=OH$)

Εικόνα 1.5 Χημική δομή Φλαβονοειδών. (Πηγή: Oliveira et al., 2011).

Δομικά, τα φλαβονοειδή αποτελούνται από έναν σκελετό C6-C3-C6, ο οποίος περιλαμβάνει δύο φαινολικούς δακτυλίους (A και B) συνδεδεμένους μέσω ενός οξυγονωμένου ετερόκυκλου δακτυλίου, γνωστού και ως δακτύλιος πυρανίου. Η κατάσταση κορεσμού του ετερόκυκλου δακτυλίου αποτελεί τη βάση για την ταξινόμησή τους. Όταν ο ετερόκυκλος είναι κορεσμένος, τα φλαβονοειδή κατατάσσονται στις φλαβανόνες και φλαβάνες, ενώ όταν είναι ακόρεστος, κατατάσσονται στις ανθοκυάνες, φλαβόνες και φλαβονόλες (Buckingham et al., 2015). Οι φλαβονοειδείς ενώσεις παρουσιάζουν εξαιρετική ποικιλομορφία και υποδιαιρούνται σε διάφορες υποκατηγορίες, ανάλογα με τις τροποποιήσεις που υφίστανται στον κεντρικό τους σκελετό. Αυτές οι τροποποιήσεις μπορεί να περιλαμβάνουν διαφορετικά πρότυπα υδροξυλίωσης, μεθυλίωσης, γλυκοζυλίωσης και προσθήκης άλλων λειτουργικών ομάδων, τα οποία επηρεάζουν τις βιολογικές τους ιδιότητες και τη χημική τους συμπεριφορά. Οι αντιδράσεις:

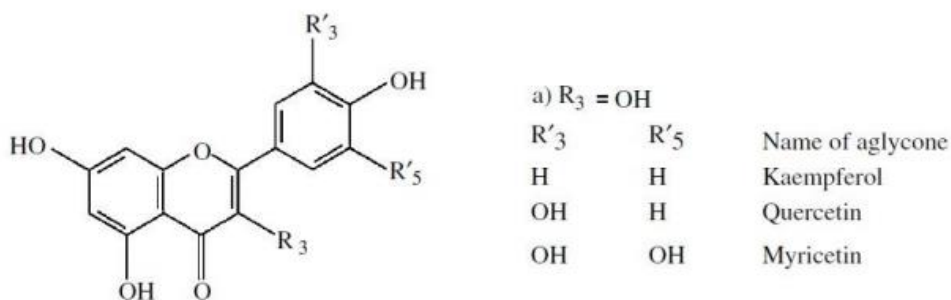
- ❖ Η υδροξυλίωση
- ❖ Η μεθυλίωση ορισμένων φαινολικών υδροξυλίων
- ❖ Η γλυκοζυλίωση με διάφορα σάκχαρα
- ❖ Η ακυλίωση των αλκοολικών υδροξυλο-ομάδων
- ❖ Ο πολυμερισμός, ιδιαίτερα στην κατηγορία των φλαβονολών

Τα φλαβονοειδή χαρακτηρίζονται από μεγάλη ποικιλομορφία και διακρίνονται σε μονομερή, διμερή, ολιγομερή και πολυμερή μόρια. Η σύνδεσή τους μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω δεσμών άνθρακα-άνθρακα μεταξύ ομοιομερών μονομερών, ενώ υπάρχουν και διμερή που σχηματίζονται από διαφορετικές ενώσεις, όπως φλαβονολο-φλαβανόνες. Τα φλαβονοειδή υψηλού μοριακού βάρους περιλαμβάνουν ολιγομερείς και πολυμερείς προανθοκυανιδίνες, οι οποίες προέρχονται από τις φλαβαν-3-όλες. Συνήθως απαντώνται συνδεδεμένα με σάκχαρα υπό τη μορφή μονογλυκοζιτών ή διγλυκοζιτών, ενώ οι ακετυλιωμένοι Ο-γλυκοζίτες προκύπτουν από τη σύνδεσή τους με φαινολικά οξέα. Στα σταφύλια, τα φλαβονοειδή διαθέτουν υδροξυλομάδες στους άνθρακες C5 και C7 του A-δακτυλίου και στη θέση 4' του B-δακτυλίου. Επιπλέον, μπορούν να φέρουν υδροξυλομάδες στις θέσεις 3' ή 3'' και 5', ενώ το υδροξύλιο στη θέση 3 συχνά αντικαθίσταται από έναν γλυκοζίτη ή μια ακυλομάδα. Στο κρασί, τα κυριότερα είδη φλαβονοειδών περιλαμβάνουν τις φλαβονόλες, τις φλαβαν-3-όλες και τις ανθοκυάνες, ενώ μικρότερες ποσότητες περιέχουν φλαβαν-3,4-διόλες (λευκοανθοκυάνες) (Cheynier et al., 2006, Terrier et al., 2009).

1.3.3. Φλαβονόλες

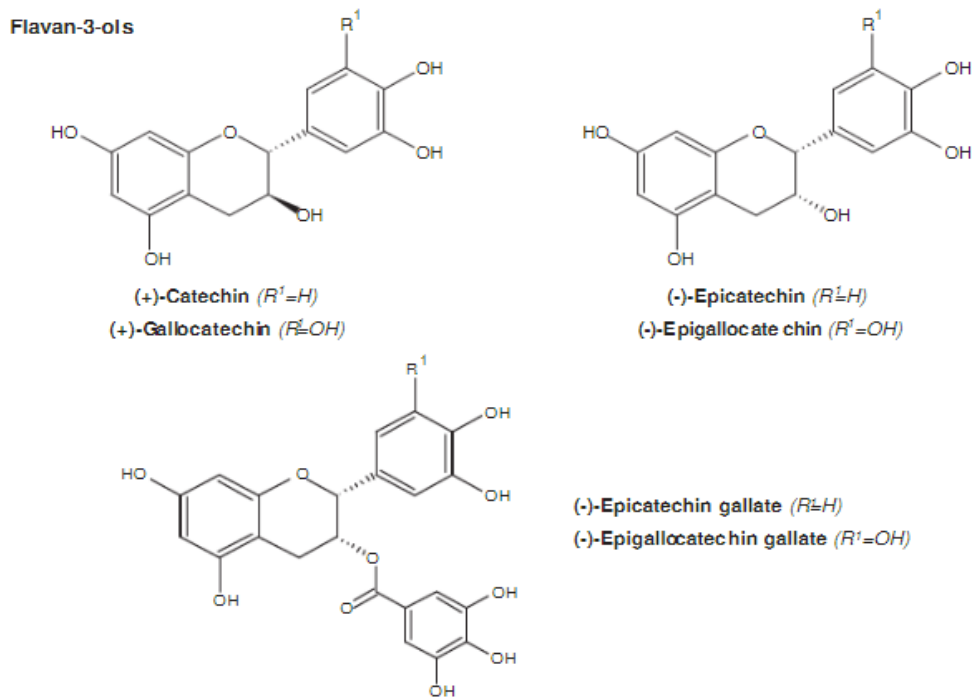
Οι φλαβόνες αποτελούν μια υποκατηγορία φλαβονοειδών που βασίζονται στη δομή της φλαβόνης (2-φαινυλο-χρωμόνης). Οι φλαβονόλες, από την άλλη, διαφέρουν από τις φλαβόνες λόγω της παρουσίας μιας υδροξυλομάδας στη θέση 3 του C-δακτυλίου. Η δομή τους απεικονίζεται στην Εικόνα 1.6 (Buckingham et al., 2015). Τα φλαβονοειδή που σχετίζονται με

τις φλαβόνες και τις φλαβονόλες λειτουργούν ως χρωστικές ουσίες, συμβάλλοντας στο χαρακτηριστικό κίτρινο χρώμα των σταφυλιών. Αυτές οι ενώσεις συναντώνται συνήθως είτε ως γλυκοζιτικά παράγωγα (όπως οι 3-γλυκοζίτες της κερκετίνης, της καμφερόλης, της μυρισετίνης και της ισοραμνετίνης) είτε ως αγλυκόνια (δηλαδή χωρίς γλυκοζιτική ομάδα). Στους ερυθρούς οίνους, οι φλαβονόλες (όπως η κερκετίνη, η καμφερόλη, η μυρισετίνη και η ισοραμνετίνη) βρίσκονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις, καθώς οι φλούδες των σταφυλιών παραμένουν κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, απελευθερώνοντας περισσότερες από αυτές τις ενώσεις. Αντίθετα, στους λευκούς οίνους, όπου οι φλούδες απομακρύνονται γρήγορα, παρατηρείται κυρίως η παρουσία της κερκετίνης και της καμφερόλης σε χαμηλότερες ποσότητες. Οι φλαβονόλες παίζουν σημαντικό ρόλο όχι μόνο στη χρωστική του κρασιού αλλά και στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες που επηρεάζουν τη σταθερότητα και τη συνολική ποιότητα του οίνου (Cheynier et al., 2006), (Ribéreau-Gayon et al., 2006).



Εικόνα 1.6 Χημική δομή άγλυκης μορφής των τριών κύριων φλαβονολών: της καμφερόλης, της κερκετίνης και της μυρικετίνης. (Πηγή: Oliveira et al., 2011).

Από τα φλαβανοειδή του οίνου, οι φλαβονόλες βρίσκονται στη μικρότερη συγκέντρωση. Η ποσότητά τους μπορεί να ποικίλλει από 1 έως 10% του συνολικού φαινολικού περιεχομένου και εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τις συνθήκες καλλιέργειας των σταφυλιών. Συνήθως, οι συγκεντρώσεις τους είναι περίπου 100 mg/l στους ερυθρούς οίνους και μεταξύ 1 και 3 mg/l στους λευκούς, αλλά αυτά τα νούμερα μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με το αν γίνεται εκχύλιση κατά την παρασκευή του οίνου (Jackson et al., 2008). Οι φλαβαν-3-όλες αναπτύσσονται από τις φλαβονόλες, μία κατηγορία φαινολικών ενώσεων, μέσω της υδρογόνωσης του κεντρικού ετερόκυκλου δακτυλίου της φλαβονόλης. Η κατεχίνη αποτελεί τον πιο διαδεδομένο εκπρόσωπο των φλαβαν-3-ολών και, συνήθως, ο όρος "κατεχίνες" χρησιμοποιείται για να περιγράψει όλες αυτές τις ενώσεις. Η δομή τους είναι εκείνη που εμφανίζεται στην **Εικόνα 1.7**. Στο κρασί, οι φλαβαν-3-όλες παρουσιάζονται σε διάφορες μορφές: μονομερείς, oligομερείς και πολυμερείς. Σταφύλια που ανήκουν στο είδος *Vitis Vinifera* φιλοξενούν τις φλαβαν-3-όλες κυρίως στον φλοιό και τα γίγαρτα. Αν και οι κύριες φλαβαν-3-όλες είναι η (+)-κατεχίνη, η (-)-επικατεχίνη και ο (-)-3-γαλλικός εστέρας της επικατεχίνης (epicatechin-3-gallate), υπάρχουν και άλλες μονομερείς ενώσεις που έχουν εντοπιστεί σε σταφύλια *Vitis Vinifera*, όπως η γαλλο-κατεχίνη. Παρόμοιες μονομερείς φλαβαν-3-όλες έχουν εντοπιστεί και σε σταφύλια που δεν ανήκουν στο γένος *Vinifera*. Η παρουσία αυτών των ενώσεων στους οίνους διαφέρει: στους ερυθρούς οίνους η συγκέντρωσή τους κυμαίνεται συνήθως μεταξύ 1 έως 10% του συνολικού περιεχομένου των φαινολικών ενώ στους λευκούς οίνους παρατηρείται η παρουσία της κατεχίνης και της επικατεχίνης σε πολύ χαμηλότερες συγκεντρώσεις, περίπου 1-3 mg/l, χωρίς προηγούμενη εκχύλιση (Cheynier et al., 2006).



Εικόνα 1.7 Χημική δομή φλαβαν-3-ολών (Πηγή: Oliveira et al., 2011).

Οι προανθοκυανιδίνες είναι μια ομάδα ολιγομερών φλαβαν-3-ολών που σχηματίζονται μέσω πολυμερισμού των κατεχινών, οι οποίες είναι έντονα ευοξειδωτές. Υπό θέρμανση και παρουσία ανόργανων οξέων, οι προανθοκυανιδίνες διασπώνται, δημιουργώντας έγχρωμες ανθοκυανιδίνες. Η πιο γνωστή υποομάδα είναι οι προκυανιδίνες, οι οποίες αποτελούνται από μονομερή κατεχίνης και επικατεχίνης. Όταν θερμαίνονται με ανόργανα οξέα, οι προκυανιδίνες παράγουν κυανιδίνη, ενώ οι προδελφινιδίνες, υπό παρόμοιες συνθήκες, σχηματίζουν δελφινιδίνη. Εκτός από τη δυνατότητά τους να σχηματίζουν έγχρωμες ανθοκυανιδίνες, οι προανθοκυανιδίνες έχουν την ικανότητα να συνδέονται με πρωτεΐνες, γεγονός που τις καθιστά σημαντικές για τη σταθερότητα του χρώματος και τη συνολική ποιότητα του οίνου κατά τη ζύμωση και την παλαίωση (Buckingham et al., 2015). Στο κρασί, οι προανθοκυανιδίνες βρίσκονται κυρίως σε διμερή μορφή, όπου δύο μονομερή ενώνονται με έναν ομοιοπολικό δεσμό άνθρακα-άνθρακα μεταξύ της θέσης 8 του ενός μονομερούς και της θέσης 4 του άλλου (τύπου B1-B4). Τριμερείς προανθοκυανιδίνες, καθώς και μεγαλύτερες πολυμερείς μορφές, έχουν επίσης ανιχνευθεί, συμβάλλοντας στη χρωματική και αρωματική πολυπλοκότητα του κρασιού.

Στα σταφύλια του είδους *Vitis vinifera*, έχουν εντοπιστεί προκυανιδίνες έως και τετραμερείς, αν και στο κρασί εμφανίζονται κυρίως διμερή (Cheynier et al., 2006, Terrier et al., 2009). Κατά την παλαίωση του οίνου, οι προκυανιδίνες συνδέονται μεταξύ τους, σχηματίζοντας πολυμερή συστατικά αποτελούμενα από 3 έως 10 μονομερή φλαβανόλες. Αυτά τα πολυμερή είναι γνωστά ως συμπυκνωμένες τανίνες και έχουν σημαντική επίδραση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου, όπως η στυπτικότητα και η αίσθηση στο στόμα. Οι συμπυκνωμένες τανίνες διαφέρουν από τις υδρολύσιμες τανίνες, καθώς δεν υφίστανται εύκολα υδρόλυση και δεν ανήκουν στην ίδια χημική οικογένεια. Παίζουν, ωστόσο, κρίσιμο ρόλο στη σταθερότητα και την εξέλιξη του οίνου. Οι ανθοκυάνες, οι οποίες είναι υπεύθυνες για το χρώμα των φρέσκων οίνων, βρίσκονται σε δυναμική ισορροπία μεταξύ πέντε μοριακών μορφών: του φλαβυλίου (flavylium cation), της καρβινόλης (carbinol pseudobase), της κιννόνης (quinoidal base), της χαλκόνης (chalcone) και της εσωτερικής μορφής χαλκόνης (D). Το φλαβύλιο, που είναι το κύριο χρωματικό ιόν, εμπλέκεται σε αντιδράσεις οξύτητας-βασικότητας και διαδικασίες ενυδάτωσης. Η μετατροπή του φλαβυλίου σε καρβινόλη είναι ταχεία και συνοδεύεται από μεταφορά πρωτονίου, ενώ η

περαιτέρω μετατροπή σε κιννόνη επίσης πραγματοποιείται γρήγορα. Αντίθετα, η μετατροπή της καρβινόλης σε χαλκόνη, η οποία περιλαμβάνει την ανοικτή μορφή του ετεροκυκλικού δακτυλίου, είναι πιο αργή και δύσκολη. Αυτές οι διαδικασίες ισορροπίας και μετατροπής έχουν σημαντική επίδραση στη σταθερότητα του χρώματος των οίνων και στη μακροχρόνια εξέλιξή τους κατά την παλαίωση (Jackson et al., 2008), (He et al., 2012).

1.3.4. Τανίνες

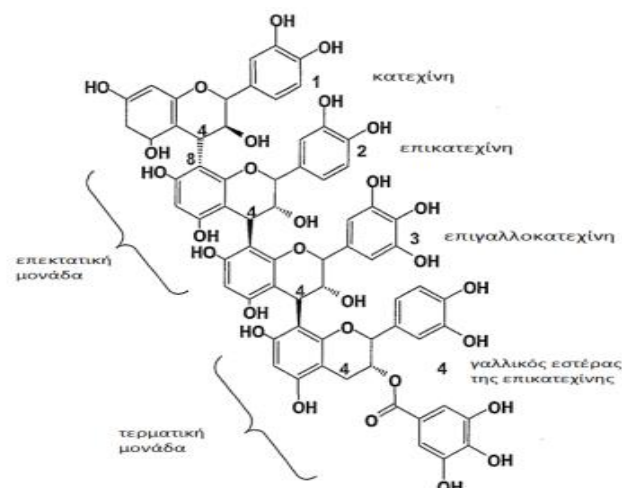
Οι τανίνες αποτελούν μια κατηγορία φυσικών φαινολικών συστατικών υψηλού μοριακού βάρους, χωρίς να υπάρχει ένας αυστηρά καθορισμένος ορισμός. Περιλαμβάνουν τόσο φλαβονοειδή όσο και μη φλαβονοειδή μονομερή. Οι τανίνες συνδέονται με πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες μέσω υδροφοβικών αλληλεπιδράσεων, δεσμών υδρογόνου, και, σπανιότερα, ιοντικών ή ομοιοπολικών δεσμών (Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Η δομή και το μέγεθος των τανινών διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στις αλληλεπιδράσεις τους με τις πρωτεΐνες. Από τη μία πλευρά, πρέπει να είναι αρκετά μεγάλες ώστε να δημιουργούν σταθερούς δεσμούς με τις πρωτεΐνες. Από την άλλη, η υπερβολική αύξηση του όγκου τους μπορεί να παρεμποδίσει την προσέγγισή τους στα σημεία σύνδεσης. Το μοριακό βάρος των δραστικών τανινών κυμαίνεται συνήθως από 600 έως 3.500, επιτρέποντας έτσι την αποτελεσματική τους δράση (Jackson et al., 2008).

Γενικά, οι τανίνες μπορούν να χωριστούν σε τρεις βασικές κατηγορίες:

A. Συμπυκνωμένες τανίνες

Οι προανθοκυανιδίνες (συμπυκνωμένες τανίνες) είναι ολιγομερείς ή πολυμερείς φλαβαν-3-όλες με τερματικές και επεκτατικές υπομονάδες, όπως κατεχίνη, επικατεχίνη και εστέρες τους (Εικόνα 1.8). Το μέγεθός τους ποικίλλει, από διμερή έως πολυμερή που μπορεί να περιέχουν περισσότερες από 40 μονάδες (Downey et al., 2003, Kennedy et al., 2001, Teixeira et al., 2013). Ονομάζονται προανθοκυανιδίνες επειδή, υπό θέρμανση σε όξινο περιβάλλον, υφίστανται υδρόλυση και απελευθερώνουν ανθοκυανιδίνες. Συγκεκριμένα, οι προανθοκυανιδίνες που υδρολύονται προς κυανιδίνη είναι γνωστές ως προκυανιδίνες και αποτελούνται από (+)-κατεχίνη και (-)-επικατεχίνη. Αντίστοιχα, όταν τα πολυμερή περιέχουν μονάδες όπως η (+)-γαλλοκατεχίνη ή η (-)-επιγαλλοκατεχίνη, η όξινη υδρόλυση οδηγεί στη σχηματισμό δελφινιδίνης και αυτές οι ενώσεις ορίζονται ως προδελφινιδίνες (Porter et al., 1986).

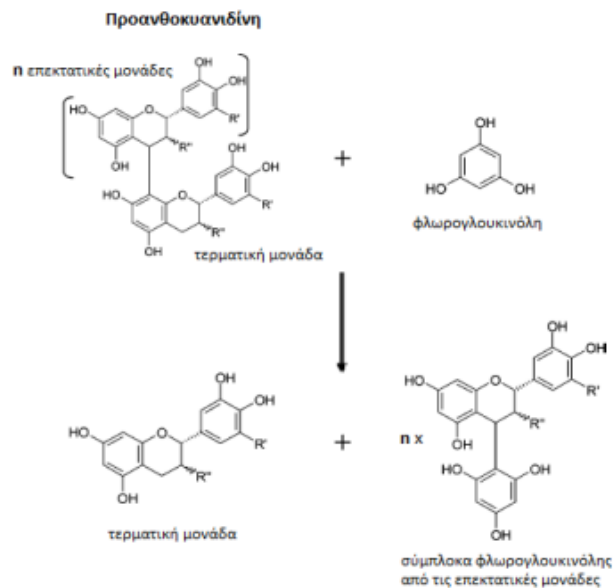
Οι προανθοκυανιδίνες εντοπίζονται κυρίως στον φλοιό και στα γίγαρτα των σταφυλιών και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη σταθεροποίηση του χρώματος και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων. Ειδικότερα, συμμετέχουν στη διαμόρφωση της στυπτικότητας και της πικράδας, συμβάλλοντας στη συνολική γεύση και αίσθηση του οίνου (Chira et al., 2009, Kallithraka et al., 1998, Lorrain et al., 2011, Sun et al., 2013). Η κατανόηση των προανθοκυανιδινών των ραγών είναι κρίσιμη για την αξιολόγηση της ποιότητας του καρπού και της φαινολικής ωριμότητας. Αποτελούν σημαντικό εργαλείο για την κατεύθυνση της συγκομιδής και της διαδικασίας οινοποίησης. Η σύνθεσή τους προηγείται του περκασμού, ενώ η εξέλιξή τους κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης εξαρτάται από τον τύπο και τη δομή τους (Downey et al., 2003, Ollé et al., 2011). Μελέτες, όπως αυτή των Downey et al. (2003), ανέφεραν ότι στα γίγαρτα τα ποσοστά φλαβαν-3-όλης αυξάνονται μία εβδομάδα μετά τον περκασμό και μειώνονται μέχρι τη συγκομιδή. Στους φλοιούς, η υψηλότερη συγκέντρωση παρατηρήθηκε πριν από τον περκασμό και μειώθηκε επίσης πριν τη συγκομιδή.



Εικόνα 1.8 Τερματική και επεκτατική υπομονάδα της δομής των προανθοκυανιδίων (Πηγή: Downey et al., 2003)

Η ανάλυση της δομής των προανθοκυανιδίων αποτελεί μια σύνθετη διαδικασία, η οποία ξεκινά με την εκχύλισή τους από τις ράγες των σταφυλιών, χρησιμοποιώντας εξειδικευμένους διαλύτες. Ο διαχωρισμός των προανθοκυανιδίων πραγματοποιείται με βάση το μοριακό τους μέγεθος, ενώ η ταυτοποίησή τους γίνεται συνήθως έμμεσα, μέσω της διάσπασης των μορίων. Η επεξεργασία τους με οξύ και πυρηνόφιλα αντιδραστήρια, όπως η φλωρογλουκινόλη, επιτρέπει την ανάλυση της δομής και τον χαρακτηρισμό των υπομονάδων που συνθέτουν τα πολυμερή τους (Εικόνα 1.9) (Chira et al., 2009; Ćurko et al., 2014; Drinkine et al., 2007; Kennedy et al., 2001; Monagas et al., 2003; Prieur et al., 1994; Souquet et al., 1996; Sun et al., 2013).

Ο μέσος αριθμός μονομερών φλαβαν-3-ολών στη δομή μιας προανθοκυανιδίνης, γνωστός ως μέσος βαθμός πολυμερισμού (mDP), αποτελεί βασικό χαρακτηριστικό της δομής τους. Οι φλαβαν-3-όλες συνδέονται συνήθως μέσω δεσμών C4→C8 ή, λιγότερο συχνά, μέσω δεσμών C4→C6. Η χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) σε επεξεργασμένα δείγματα επιτρέπει τον υπολογισμό του mDP και την εξαγωγή πληροφοριών για τις πολυμερισμένες φαινολικές ενώσεις του οίνου. Έρευνες έχουν δείξει ότι το κλάσμα πολυμερών προανθοκυανιδίων με $mDP \geq 5$ μπορεί να αποτελεί έως και το 77-95% των συνολικών προανθοκυανιδίων στον οίνο (Cosme et al., 2009). Επίσης, έχει διαπιστωθεί ότι ο mDP των προανθοκυανιδίων στον φλοιό των σταφυλιών τείνει να αυξάνεται κατά την ωρίμανση της ράγας, ενώ άλλες μελέτες έχουν παρατηρήσει μικρή μείωση κατά τη διαδικασία ωρίμανσης (Kennedy et al., 2001; Bordiga et al., 2011). Επιπλέον, οι διαφορές στη σύνθεση και τη δομή των προανθοκυανιδίων επηρεάζονται από την ποικιλία των σταφυλιών (Obreque-Slier et al., 2010). Σημαντικές διαφοροποιήσεις έχουν επίσης παρατηρηθεί μεταξύ των προανθοκυανιδίων του φλοιού και των γιγάρτων των σταφυλιών. Οι τανίνες των γιγάρτων είναι μικρότερες, με χαμηλότερο mDP και υψηλότερα ποσοστά εστέρων του γαλλικού οξέος, ενώ οι τανίνες του φλοιού είναι μεγαλύτερες, με υψηλότερο mDP. Αυτές οι δομικές διαφορές επηρεάζουν σημαντικά τις ιδιότητες και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου (Brossaud et al., 2001; Chira et al., 2009; Lorrain et al., 2011; Peleg et al., 1999; Sun et al., 2013).



Εικόνα 1.9 Σχηματικός τρόπος αντίδρασης μιας προανθοκυανιδίνης με την φλωρογλουκινόλη. Όπου $R' = H$, $R'' = OH$ προκυανιδίνη και όπου $R' = OH$, $R'' = OH$ προδελφινιδίνη (Πηγή: Drinkine et al., 2007).

Οι τερματικές και επεκτατικές υπομονάδες των φλοιών και των γιγάρτων των σταφυλιών, καθώς και η δομή τους, εμφανίζουν διαφορές τόσο στη σύσταση όσο και στις αναλογίες τους. Υπάρχει επιστημονική διχογνωμία σχετικά με το εάν η κατεχίνη ή η επικατεχίνη αποτελεί την κύρια τερματική υπομονάδα στους φλοιούς. Παρόμοια αβεβαιότητα επικρατεί και για τα γίγαρτα, με ερευνητές να προτείνουν διαφορετικά αποτελέσματα (Bordiga et al., 2011; Cohen et al., 2008; Monagas et al., 2003; Gagne et al., 2006; Hanlin et al., 2009). Οι επεκτατικές μονάδες των προανθοκυανιδινών παρουσιάζουν επίσης διαφοροποιήσεις, τόσο στους φλοιούς όσο και στα γίγαρτα, ανάλογα με το στάδιο της ωρίμανσης. Στα γίγαρτα, η κατεχίνη προσδιορίζεται από πολλούς ερευνητές ως η κύρια επεκτατική μονάδα, ενώ άλλοι υποστηρίζουν ότι η επικατεχίνη έχει την ίδια σημασία (Bordiga et al., 2011; Cohen et al., 2008; Prieur et al., 1994; Downey et al., 2003). Αυτές οι διαφορές μπορεί να οφείλονται σε παράγοντες όπως ο γενότυπος της ποικιλίας, η μέθοδος προσδιορισμού της δομής, οι περιβαλλοντικές συνθήκες και οι κλιματολογικές διαφορές στις περιοχές καλλιέργειας (Hanlin & Downey, 2009; Li et al., 2014).

Οι προανθοκυανιδίνες συνδέονται άμεσα με τη στυπτικότητα και την πικράδα των σταφυλιών και του οίνου, με τη στυπτικότητα να αποτελεί βασικό χαρακτηριστικό των κόκκινων οίνων. Χημικά, η στυπτικότητα σχετίζεται με την ικανότητα των προανθοκυανιδινών να συνδέονται με τις πρωτεΐνες του στόματος, γεγονός που επηρεάζει την αίσθηση στο στόμα (Kallithraka et al., 1996). Η στυπτικότητα εκδηλώνεται αργότερα από την πικράδα, αλλά και οι δύο έχουν μεγάλη διάρκεια στη γεύση (Brossaud et al., 2001; Kallithraka et al., 1996; Sun et al., 2013). Μελέτες έχουν διερευνήσει τη σύνδεση ανάμεσα στη στυπτικότητα και τις μονομερείς ή ολιγομερείς φαινολικές ενώσεις. Σύμφωνα με τους Chira et al. (2011), παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις ανάμεσα στις κατεχίνη, επικατεχίνη, και συγκεκριμένες προανθοκυανιδίνες (B2, B3, B4) στους οίνους. Αντίθετα, άλλες μελέτες (Kallithraka et al., 2011; Quijada-Morín et al., 2012) δεν επιβεβαιώνουν αυτές τις συσχετίσεις. Παράγοντες όπως η συγκέντρωση, το μοριακό μέγεθος και ο βαθμός εστεροποίησης με γαλλικό οξύ επηρεάζουν τη στυπτικότητα, ενώ η εστεροποίηση φαίνεται να ενισχύει την ικανότητα των προανθοκυανιδινών να αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες, ενισχύοντας τη στυπτικότητα (Silva et al., 1991; Chira et al., 2009). Η ένταση της στυπτικότητας σχετίζεται

επίσης με τον βαθμό πολυμερισμού (mDP) των προανθοκυανιδινών, ο οποίος αυξάνει τη στυπτικότητα μέχρι ένα ορισμένο σημείο (mDP = 6), μετά το οποίο παρατηρείται μείωση (Brossaud et al., 2001; Chira et al., 2009). Αυτή η μείωση μπορεί να οφείλεται είτε στη μειωμένη διαλυτότητα των μεγάλων πολυμερών είτε στην παρεμπόδιση της σύνδεσής τους με τις πρωτεΐνες (Ribereau-Gayon et al., 1999). Ωστόσο, νεότερες μελέτες δείχνουν ότι οι προανθοκυανιδίνες με υψηλό μοριακό βάρος είναι διαλυτές σε πρότυπα διαλύματα οίνου και συνδέονται αποτελεσματικά με τις πρωτεΐνες του σιέλου (Vidal et al., 2003).

Η πικράδα των προανθοκυανιδινών επηρεάζεται επίσης από το μοριακό τους μέγεθος, με τα μονομερή να είναι πιο πικρά από τα πολυμερή. Έχει παρατηρηθεί ότι η μέγιστη ένταση της πικράδας σχετίζεται με τις τετραμερείς προανθοκυανιδίνες (Sun et al., 2011). Επιπλέον, οι τανίνες από τα γίγαρτα παρουσιάζουν υψηλότερη πικράδα και στυπτικότητα από εκείνες των φλοιών λόγω του χαμηλότερου mDP και του υψηλότερου βαθμού εστεροποίησής τους με γαλλικό οξύ (Brossaud et al., 2001; Chira et al., 2009). Τέλος, παράγοντες όπως η περιεκτικότητα του οίνου σε αιθανόλη, το pH και η παρουσία ανθοκυανών επηρεάζουν τη στυπτικότητα. Η αύξηση της αιθανόλης και του pH μειώνει τη στυπτικότητα, ενώ η προσθήκη ανθοκυανών μπορεί να την ενισχύσει (Fontoin et al., 2008; Brossaud et al., 2001). Αντίθετα, η πικράδα σχετίζεται περισσότερο με την οξύτητα του οίνου παρά με τη συγκέντρωση των ανθοκυανών.

B. Υδρολυόμενες τανίνες

Οι υδρολυόμενες τανίνες ανήκουν στην κατηγορία των μη φλαβονοειδών ενώσεων και αποτελούνται από ένα μόριο σακχάρου ή πολυσακχαρίτη, του οποίου οι υδροξυλομάδες είναι εστεροποιημένες με φαινολικά οξέα, όπως το γαλλικό, το διγαλλικό και το ελλαγικό οξύ. Αυτές οι τανίνες εντοπίζονται στο ξύλο ορισμένων δέντρων, όπως η δρύς, και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην παλαίωση των οίνων. Στο κρασί, συναντώνται οι υδρολυμένες μορφές τους, με κυριότερες το ελλαγικό και το γαλλικό οξύ. Οι ελλαγικές τανίνες της δρύος, όπως η βεσκαλαγίνη και η κασταλαγίνη, είναι οι πλέον σημαντικές σε αυτή την κατηγορία, ενώ άλλες μη φλαβονοειδείς υδρολυόμενες τανίνες, όπως η γραντανίνη και η ρομπουρίνη, έχουν δευτερεύουσα σημασία. Οι υδρολυόμενες τανίνες διασπώνται εύκολα σε μονομερή υπό όξινες συνθήκες, επηρεάζοντας τη γεύση του οίνου. Το χαμηλό pH αποδυναμώνει τους δεσμούς μεταξύ των ατόμων υδρογόνου και οξυγόνου στις μακρομοριακές δομές τους, διευκολύνοντας τη διάσπαση. Αντίθετα, οι συμπτυκνωμένες τανίνες, που προέρχονται από τα φλαβονοειδή, εμφανίζουν μεγαλύτερη σταθερότητα σε όξινα περιβάλλοντα, λόγω της παρουσίας ισχυρών ομοιοπολικών δεσμών, καθιστώντας τις πιο ανθεκτικές στη διάσπαση και συμβάλλοντας στη σταθερότητα και τη δομή του οίνου (Κουράκου, 1998) (Vivas and Glories et al., 1996), (Pocock et al., 1994). (Jackson et al., 2008), (Ribéreau-Gayon et al., 2006), (Συμεού, 2010).

Γ. Μικτές τανίνες

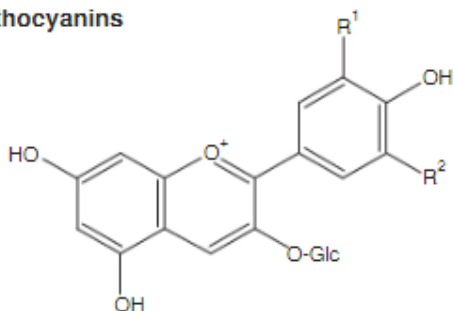
Οι μικτές τανίνες είναι πολυφαινόλες που σχηματίζονται μέσω της σύνδεσης κατεχίνης με υδρολυόμενες γαλλο- ή ελλαγιτανίνες μέσω δεσμών άνθρακα-άνθρακα (Ferreira et al., 2006). Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αυτής της κατηγορίας είναι η ακουτισιμίνη (Acutissimin A), η οποία προκύπτει από την ομοιοπολική σύνδεση της κατεχίνης με την κασταλαγίνη ή τη βεσκαλαγίνη. Τέτοιου είδους ενώσεις, μαζί με σύμπλοκα όπως εκείνα της κασταλαγίνης με μαλβιδίνη, ανιχνεύονται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις σε οίνους που έχουν παλαιώσει σε ξύλινα βαρέλια. Παρόλο που οι οργανοληπτικές ιδιότητες αυτών των ενώσεων δεν έχουν ακόμα αναλυθεί πλήρως, θεωρείται ότι συμβάλλουν σημαντικά στον χαρακτήρα και τη γεύση του οίνου κατά τη διαδικασία της παλαίωσης (Ribéreau Gayon et al., 2006).

1.3.5 Ανθοκυάνες

Οι ανθοκυάνες είναι μια από τις βασικές ομάδες φλαβονοειδών που ευθύνονται, κυρίως, για το ερυθρό χρώμα των οίνων. Ανιχνεύονται κυρίως στον φλοιό των σταφυλιών και, εν μέρει, σε ορισμένες ερυθρές ποικιλίες και στην σάρκα τους, με τη μελέτη τους να επικεντρώνεται στους ερυθρούς οίνους, από τα οποία εκχυλίζονται από τα στέμφυλα. Η χημική τους δομή εμφανίζεται στην **Εικόνα 1.10**. Στη φύση, οι ανθοκυάνες υπάρχουν υπό διάφορες μορφές. Τα μόρια αυτά είναι εύκολα υδρολύσιμα σε ένα ανθρακούχο τμήμα και σε ένα ή περισσότερα σάκχαρα. Το ανθρακούχο μέρος που προκύπτει είναι μια ανθοκυανιδίνη με σκελετό C6-C3-C6, ενώ τα σάκχαρα είναι κυρίως αλδόζες, με τη γλυκόζη να είναι η κυριότερη υπό μορφή πυρανίου. Οι ανθοκυανιδίνες έχουν τη βασική δομή του φλαβυλίου, αποτελούμενη από δύο βενζολικούς δακτυλίους (A και B) με έναν πυριλικό δακτύλιο ανάμεσά τους. Ο δακτύλιος A περιλαμβάνει πάντα δύο φαινολικά υδροξύλια στις θέσεις -5' και -7', ενώ ο δακτύλιος B περιλαμβάνει ένα φαινολικό υδροξύλιο στη θέση -4'.

Τα μόρια είναι πιο σταθερά στη γλυκοζυλιωμένη μορφή τους σε σύγκριση με την αγλυκονική μορφή τους. Σε σταφύλια *V. Vinifera*, έχουν εντοπιστεί μόνο μονογλυκοζυλιωμένες και ακετυλιωμένες μορφές των ανθοκυανών. Στις ακετυλιωμένες μορφές, η ακετυλίωση λαμβάνει χώρα με π-κουμαρικό, καφεϊκό ή οξικό οξύ. Η ταξινόμηση των ανθοκυανών βασίζεται στη θέση των υδροξυλίων και των μεθυλίων στο δακτύλιο B, και από τις εννέα ανθοκυανιδίνες που είναι γνωστές, πέντε αποτελούν δομικά στοιχεία των ανθοκυανών που βρίσκονται στο σταφύλι και το κρασί (Κουράκου, 1998, Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Anthocyanins



Cyanidin 3-glucoside ($R^1=OH$, $R^2=H$)

Peonidin 3-glucoside ($R^1=OCH_3$, $R^2=H$)

Delphinidin 3-glucoside ($R^1=R^2=OH$)

Petunidin 3-glucoside ($R^1=OH$, $R^2=OCH_3$)

Malvidin 3-glucoside ($R^1=R^2=OCH_3$)

Εικόνα 1.10 Χημική δομή ανθοκυανών. (Πηγή: Oliveira et al., 2011).

Η κυανιδίνη, μία από τις ανθοκυανιδίνες των σταφυλιών, αυξάνει τη συγκέντρωσή της περίπου δύο εβδομάδες μετά τον περκασμό, κατά την ωρίμανση. Ωστόσο, η κυανιδίνη, μαζί με τη δελφινιδίνη, είναι από τις πιο ασταθείς ανθοκυανιδίνες και, με την πάροδο του χρόνου, μετατρέπονται σε μαλβιδίνη. Η μαλβιδίνη, που επικρατεί σχεδόν σε όλα τα σταφύλια και τους ερυθρούς οίνους, αποτελεί τη κυρίαρχη ανθοκυανιδίνη, φτάνοντας έως και το 90% σε ποικιλίες όπως η Grenache. Στις ελληνικές ερυθρές ποικιλίες, όπως το Αγιωργίτικο, παρατηρείται συχνά η παρουσία μονογλυκοζυλιωμένης μαλβιδίνης, ακετυλιωμένης με οξικό ή π-κουμαρικό οξύ. (Cheynier et al., 2006, Κουράκου-Δραγώνα, 1998, Kallithraka et al., 2005).

Η ποσότητα και η σύνθεση των ανθοκυανινών εξαρτώνται από την ποικιλία του σταφυλιού, το στάδιο ωρίμανσης, τις κλιματικές συνθήκες, τον τόπο καλλιέργειας, την απόδοση ανά στρέμμα και τις οινοποιητικές πρακτικές. Κατά την οινοποίηση, η εκχύλιση ανθοκυανών συμβαίνει όταν ο χυμός έρχεται σε επαφή με τα σταφύλια, είτε πριν είτε κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Η διαδικασία αυτή μπορεί να γίνει με θρυμματισμένα σταφύλια (κλασική μέθοδος) ή με ολόκληρα σταφύλια (carbonic maceration). Μετά την εκχύλιση, οι συγκεντρώσεις ανθοκυανών

μειώνονται, λόγω απορρόφησης από τα κυτταρικά τοιχώματα των ζυμών, ιζηματοποίησης με τρυγικά άλατα, και σταθεροποίησης ή φιλτραρίσματος. (Μπιμπίλας Α., 2017).

Το ανθοκυανικό προφίλ, δηλαδή η σύσταση και η συγκέντρωση των ανθοκυανινών, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ταξινόμηση των ποικιλιών σταφυλιών. Σε αντίθεση με τον συνολικό φαινολικό πλούτο, το ανθοκυανικό προφίλ παρέχει συγκεκριμένες πληροφορίες για τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά κάθε ποικιλίας. Έχουν προταθεί μέθοδοι που αξιοποιούν τις αναλογίες και τις συγκεντρώσεις επιμέρους ανθοκυανιδίων για την ταυτοποίηση ποικιλιών. Αυτές οι διαφορές σχετίζονται με τη δράση ορισμένων ενζύμων, όπως οι φλαβονοειδείς-3-υδροξυλάσες και οι Ο-δι-υδροξυφαινολο-Ο-μεθυλοτρανσφεράσες, που επηρεάζουν τη χημική σύσταση των ανθοκυανών. Επιπλέον, η παρουσία και η ποσότητα ακετυλωμένων ανθοκυανών (με οξικό ή π-κουμαρικό οξύ) συνδέονται με τη δραστηριότητα άλλων ενζύμων, όπως οι αιθυλοκαιναμωμικές τρανσφεράσες, οι οποίες καθορίζονται από τη γενετική προδιάθεση της κάθε ποικιλίας. Ακόμα και μετά τις αλλαγές που υφίσταται το ανθοκυανικό προφίλ κατά την οινοποίηση, παραμένει ένα πολύτιμο εργαλείο για τη διάκριση ποικιλιών σταφυλιών, την αναγνώριση περιοχών καλλιέργειας, την εκτίμηση της χρονολογίας συγκομιδής και την αξιολόγηση διαφορετικών οινοποιητικών πρακτικών (Monagas M, et al., 2009).

1.4 Ερυθρή Οινοποίηση

Η διαδικασία της ερυθρής οινοποίησης απαιτεί τη διατήρηση του γλεύκους με τα στέμφυλα για ένα χρονικό διάστημα, επιτρέποντας την απελευθέρωση φαινολικών συστατικών και άλλων ενώσεων στο γλεύκος. Ο μηχανικός τρύγος αποτελεί πρακτική λύση στην ερυθρή οινοποίηση, εφόσον διατίθενται οι οικονομικοί πόροι. Μια σημαντική προ-ζυμωτική διαδικασία είναι η αποβοστρύχωση, που εμποδίζει την εκχύλιση συστατικών από τα φυτικά μέρη της αμπέλου. Η μηλογαλακτική ζύμωση είναι ζωτικής σημασίας στις περισσότερες ερυθρές οινοποιήσεις, σε αντίθεση με τη λευκή οινοποίηση. Πέρα από την παραδοσιακή μέθοδο, υπάρχουν εναλλακτικές όπως η θερμοοινοποίηση και η ανθρακική αναεροβίωση που επηρεάζουν σημαντικά το τελικό προϊόν (Κουράκου, 1998), (Ribéreau Gayon et al., 2006).

1.4.1 Κλασική μέθοδος ερυθρής οινοποίησης

Η κλασική μέθοδος ερυθρής οινοποίησης περιλαμβάνει δύο βασικά στάδια που εκτελούνται ταυτόχρονα: την αλκοολική ζύμωση των σακχάρων του γλεύκους με την παρουσία των στερεών μερών των σταφυλιών, όπως οι φλοιοί και τα γίγαρτα, και την εκχύλιση των συστατικών αυτών από το υδροαλκοολικό διάλυμα που δημιουργείται κατά τη ζύμωση. Παρά τις διαφοροποιήσεις που μπορεί να υπάρχουν στις επιμέρους διαδικασίες, τα δύο αυτά στάδια συνοψίζουν την παραδοσιακή μέθοδο οινοποίησης (Κουράκου, 1997, Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Η διαδικασία ξεκινά με τη διαλογή των σταφυλιών, η οποία μπορεί να γίνει είτε παραδοσιακά, με τη χρήση τραπεζιών που χειρίζεται το εργατικό προσωπικό, είτε με αυτόματους διαλογείς. Οι αυτόματοι διαλογείς χρησιμοποιούνται για μεγαλύτερη ακρίβεια και ταχύτητα, καθώς διαχωρίζουν τα σταφύλια με βάση το χρώμα ή το μέγεθος. Αν και οι αυτόματοι διαλογείς είναι πιο ακριβοί, προσφέρουν σημαντική αποτελεσματικότητα, ειδικά για μεγάλες ποσότητες σταφυλιών (Ribéreau-Gayon et al., 2006, Jackson et al., 2008). Μετά τη διαλογή, ακολουθεί η αποβοστρύχωση, που πραγματοποιείται με ειδικό εξοπλισμό ο οποίος αφαιρεί τα φυτικά μέρη των σταφυλιών, όπως φύλλα και μόνοςτους, ενώ διατηρεί τους βόστρυχους. Αυτή η διαδικασία μειώνει την πρόσληψη ανεπιθύμητων φαινολικών και λιπιδίων, βελτιώνοντας την ποιότητα του γλεύκους. Ταυτόχρονα, μέρος των ραγών σπάει, επιτρέποντας την έναρξη της οξειδωτικής ζύμωσης, η οποία ελέγχεται καλύτερα κατά τη διάρκεια της οινοποίησης (Jackson et al., 2008;

[Τσέτουρας, 2008](#)). Η διόρθωση του γλεύκους περιλαμβάνει τη ρύθμιση της οξύτητας και τον εμπλουτισμό με σάκχαρα. Σε ζεστά κλίματα προστίθεται τρυγικό οξύ για την αύξηση της οξύτητας, ενώ σε ψυχρά κλίματα χρησιμοποιούνται ανθρακικό ασβέστιο ή τρυγικό άλας για τη μείωση της οξύτητας. Το γλεύκος και τα στέμφυλα μεταφέρονται στις δεξαμενές οινοποίησης με αντλίες, ενώ προστίθεται θειώδες ανυδρίτης, το οποίο δεσμεύεται με τα σάκχαρα και προστατεύει το γλεύκος από οξειδώσεις και μικροβιακές επιμολύνσεις ([Σουφλερός, 1997](#), [Jackson et al., 2008](#)).

Κατά την αλκοολική ζύμωση εκχυλίζονται φαινολικά συστατικά, χρωστικές και αρώματα από τα στερεά μέρη των σταφυλιών. Η διάρκεια παραμονής των στεμφύλων με το γλεύκος εξαρτάται από την ποικιλία του σταφυλιού και τα επιδιωκόμενα χαρακτηριστικά του οίνου. Μπορεί να διαρκέσει από λίγα 24ωρα έως μερικές εβδομάδες. Σε ποικιλίες με υψηλή απόδοση χυμού, εφαρμόζεται μερική αφαιμάξη, δηλαδή αφαιρείται ένα μέρος του γλεύκους πριν από τη ζύμωση, ώστε να αυξηθεί η αναλογία της στερεής φάσης. Η θερμοκρασία παίζει καθοριστικό ρόλο σε αυτή τη διαδικασία και διατηρείται στο εύρος 25-35°C, ώστε να επιτυγχάνεται η βέλτιστη εκχύλιση των συστατικών και να μην μειώνεται η αρωματική ένταση ([Τσέτουρας, 2008](#), [Σουφλερός, 1997](#)). Ο διαχωρισμός του υγρού από τα στέμφυλα πραγματοποιείται σε δύο στάδια. Αρχικά, η υγρή φάση, που αντιστοιχεί στο 85% του συνολικού όγκου, απομακρύνεται από τον πυθμένα της δεξαμενής. Ο "οίνος εκροής" μεταφέρεται για περαιτέρω επεξεργασία, ενώ το υπόλοιπο 15% που παραμένει στα στέμφυλα αφαιρείται με πίεση. Ο "οίνος πίεσης", αν και λιγότερο ποιοτικός από τον "οίνο εκροής", χρησιμοποιείται κυρίως για αναμίξεις, λόγω της πλούσιας περιεκτικότητάς του σε συστατικά ([Eisenman et al., 1998](#)). Η διαύγαση του οίνου επιτυγχάνεται με κολλάρισμα και διήθηση. Στο κολλάρισμα, φυσικές ή συνθετικές ουσίες, όπως μπετονίτης, ζελατίνη και καζεΐνη, προκαλούν την καθίζηση των αιωρούμενων στερεών. Η διήθηση, που ακολουθεί, περιλαμβάνει τη χρήση φίλτρων πλακών ή μεμβρανών, τα οποία απομακρύνουν πρωτεΐνες και μικροσωματίδια, εξασφαλίζοντας την οπτική καθαρότητα του οίνου ([Eisenman et al., 1998](#), [Harbertson et al., 2008](#)). Η σταθεροποίηση του οίνου αποτρέπει την εμφάνιση θολωμάτων ή ιζημάτων κατά την παλαίωση ή τη συσκευασία. Οι μέθοδοι περιλαμβάνουν φυσικές τεχνικές, όπως θέρμανση και ψύξη, καθώς και χημικές παρεμβάσεις, όπως η προσθήκη μπετονίτη ή η απομάκρυνση μετάλλων όπως ο σίδηρος και ο χαλκός. Αν και οι μέθοδοι αυτές είναι αποτελεσματικές, η εμφάνιση θολωμάτων μετά από μακρά παλαίωση, που υπερβαίνει τα 5-10 χρόνια, δεν μπορεί να αποφευχθεί πλήρως ([Σουφλερός, 1997](#), [Eisenman et al., 1998](#)).

1.4.2 Εκχύλιση και αντιδράσεις φαινολικών συστατικών

1.4.2.1 Εκχύλιση φαινολικών συστατικών

Παρόλο που το αρχικό γλεύκος περιέχει φαινολικά συστατικά, η ποσότητά τους αυξάνεται σημαντικά στο κρασί λόγω της μεγαλύτερης διαλυτότητάς τους σε διαλύματα αιθανόλης σε σύγκριση με τα απλά υδατικά διαλύματα. Η παρουσία φαινολικών συστατικών επηρεάζει σημαντικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (χρώμα, γεύση, δομή) του οίνου και την ικανότητά του να παλαιώσει. Γι' αυτό οι οινοποιητικές τεχνικές και οι παράμετροί τους επιλέγονται με σκοπό να δώσουν μια επιθυμητή φαινολική σύνθεση στο τελικό προϊόν. ([Peyrot des Gachons et al., 2003](#)).

Τα φαινολικά οξέα και τα παράγωγά τους, τα οποία υπάρχουν σε σημαντικές ποσότητες στη σάρκα του σταφυλιού, είναι τα πρώτα που απελευθερώνονται. Ακολουθούν γρήγορα οι ανθοκυανίνες. Η εκχύλισή τους είναι έντονη τις πρώτες ημέρες και μετά μειώνεται αιφνிடιαστικά. Σε περιπτώσεις μακροχρόνιας εκχύλισης, παρατηρείται είτε ελάχιστη αύξηση της περιεκτικότητας ανθοκυανινών μετά από μερικές ημέρες, είτε μείωση λόγω αντιδράσεων των

ανθοκυανινών, ανάλογα με τις διάφορες παραμέτρους οινοποίησης. Η συγκέντρωση των ανθοκυανών στο γλεύκος αυξάνεται γρήγορα λόγω της μεταφοράς των γλυκοζιτών της μαλβιδίνης και των μη ακυλιωμένων γλυκοζιτών των υπόλοιπων ανθοκυανινών. Στη συνέχεια, τα ποσοστά των μη ακυλιωμένων μορφών μειώνονται κατά τη διάρκεια των πρώτων ημερών της εκχύλισης, ενώ αυξάνονται αυτά των ακετυλιωμένων και των κουμαριλιωμένων γλυκοζιτών. (González-Neves et al., 2007, Puértolas et al., 2011).

Καθώς η πλειονότητα των φαινολικών στοιχείων (εκτός από τα μη φλαβονοειδή) συγκεντρώνονται στα στερεά μέρη του σταφυλιού, η μεταφορά τους στο γλεύκος εξαρτάται κυρίως από το χρόνο παραμονής των σταφυλιών με το γλεύκος. Ενώ στη λευκή οινοποίηση αυτό το στάδιο μπορεί να παραλειφθεί, στην παραγωγή ερυθρών οίνων είναι απαραίτητο να εξαχθούν τα χρωστικά από την σάρκα των σταφυλιών. Η μεταφορά των φαινολικών στην ερυθρή οινοποίηση ξεκινά με την έκθλιψη των σταφυλιών και συνεχίζεται μέχρι την απομάκρυνση των στεμφύλων από το γλεύκος. Άρα, ο ρυθμός μεταφοράς κάθε ομάδας φαινολικών συστατικών εξαρτάται από τη διαλυτότητά τους και τη θέση τους στο σταφύλι. Εκτός από αυτούς τους παράγοντες, η εκχύλιση των φαινολικών επηρεάζεται και από άλλες παραμέτρους, όπως η περιεκτικότητα σε αλκοόλ και θειώδη ανυδρίτη του υγρού, η θερμοκρασία και η ομοιογενοποίηση του γλεύκους, καθώς και άλλοι παράγοντες που θα αναφερθούν αργότερα. (Cheynier, V. et al. (2006)). Η γενική κατανομή των φαινολικών στο σταφύλι εκτιμάται ότι είναι περίπου η ακόλουθη **Πίνακας 1.1**:

Πίνακας 1.1 % σύσταση φαινολικών στα μέρη του σταφυλιού. (Πηγή: Singleton, et al., 1969)

<i>Μέρος του σταφυλιού</i>	<i>ποσοστό φαινολικών</i>
Σάρκα και χυμός	6 %
Φλοιός της ράγας	51%
Γίγαρτα	40 %

Η ανάλυση μέσω HPLC μετά τη θειολύση απέδειξε ότι οι προανθοκυανιδίνες των φλοιών εκχυλίζονται πιο γρήγορα από αυτές των γιγάρτων, λόγω της θέσης τους στο σταφύλι και της μεγαλύτερης διαλυτότητάς τους σε υδατική φάση σε σύγκριση με τις εστεροποιημένες προκυανιδίνες. Η εκχύλιση των προκυανιδινών από τους γίγαρτες αρχίζει με μια φάση που παρουσιάζει σταδιακή αύξηση της περιεκτικότητας σε αλκοόλη. Τα πολυμερή μεγάλου μοριακού βάρους διαχέονται με πιο αργό ρυθμό από τα πολυμερή χαμηλότερου μοριακού βάρους, γεγονός που οδηγεί σε αύξηση του μέσου μήκους της αλυσίδας κατά τη διάρκεια της εκχύλισης. Τέλος, οι φλαβονόλες εκχυλίζονται σε πιο χαμηλό ρυθμό, επομένως βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις μόνο σε γλεύκη που έχει διατηρηθεί για εκτεταμένο χρονικό διάστημα σε επαφή με τα στέμφυλα (Κουράκου, 1998, Cheynier et al., 2006), (Jackson et al., 2008).

1.4.2.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την εκχύλιση των φαινολικών

A. Χρόνος παραμονής των στεμφύλων με το γλεύκος

Κατά την παραμονή του γλεύκους με τα στέμφυλα, οι ανθοκυάνες των φλοιών εκχυλίζονται γρήγορα στο γλεύκος κατά την αρχή της αλκοολικής ζύμωσης, όμως ο ρυθμός αυτός μειώνεται στη συνέχεια. Αντίθετα, τα συνολικά φαινολικά συνεχίζουν να εκχυλίζονται στο γλεύκος καθ' όλη τη διάρκεια της παραμονής του με τα στέμφυλα. Αυτή η διαφορά στην εκχύλιση οφείλεται στο ότι οι ανθοκυάνες είναι εξαιρετικά διαλυτές σε υδατικά διαλύματα και βρίσκονται κυρίως στα εξωτερικά χυμοτόπια των φλοιών, συγκεκριμένα στις 3-4 εξωτερικές σειρές κυττάρων. Με

την πλασμολυση των κυττάρων, διαχέονται εύκολα στο γλεύκος (Κουράκου, 1998). Μια μικροκλιμακική έρευνα στον χώρο της οινοποίησης απέδειξε πως το φρέσκο κρασί που υποβλήθηκε σε εκτεταμένη εκχύλιση παρουσίασε υψηλότερα επίπεδα ανθοκυάνων, καθώς και αυξημένο φορτίο ολικών φαινολικών κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής του, σε σύγκριση με το ίδιο κρασί που υποβλήθηκε σε εκχύλιση για μικρότερο χρονικό διάστημα (Scudamore-Smith et al., 1990). Μια άλλη μελέτη εκχύλισης σε κρασί Cabernet Sauvignon, διάρκειας 7, 13 και 21 ημερών, ανέδειξε αύξηση σε ολικά φαινολικά, γαλλικό οξύ και φλαβανόλες, με τη μεγαλύτερη αύξηση να παρατηρείται μεταξύ των 13 και 21 ημερών, σε σύγκριση με τη διαφορά μεταξύ 7 και 13 ημερών (Auw et al., 1996). Επιπλέον, σε μια έρευνα με την ποικιλία Merlot, η αύξηση των ολικών φαινολικών συνεχίστηκε για 36 ημέρες, ενώ οι χρωστικές ουσίες έφτασαν στο μέγιστό τους την 4η ημέρα, ακολουθούμενη από μια αργή σταδιακή μείωση (Gomez-Plaza et al., 2001), Scudamore-Smith et al., 1990), Yokotsuka et al., 2000).

B. Θερμοκρασία αλκοολικής ζύμωσης

Συνολικά, η αύξηση της θερμοκρασίας κατά την οινοποίηση επηρεάζει σημαντικά την εκχύλιση φαινολικών συστατικών, αυξάνοντας το συνολικό τους περιεχόμενο στο κρασί. Μελέτες σε ποικιλίες όπως το Cabernet Sauvignon και το Pinot Noir έχουν δείξει ότι υψηλότερες θερμοκρασίες ζύμωσης σχετίζονται με αυξημένη ένταση χρώματος στους παραγόμενους οίνους (Sacchi et al., 2005). Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται ιδιαίτερα σε θερμοκρασίες μεταξύ 15°C και 30°C, όπου, αν και τα επίπεδα των ανθοκυανινών παραμένουν σχετικά σταθερά, το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο παρουσιάζει αύξηση (Sacchi et al., 2005; Girard et al., 1991). Η αύξηση της θερμοκρασίας ευνοεί την εκχύλιση τανινών και πολυμερών χρωστικών μικρού και μεγάλου μοριακού βάρους, ενώ αντίθετα μειώνει τις ελεύθερες ανθοκυανίνες. Η εκχύλιση αυτή οφείλεται κυρίως στην αυξημένη διαπερατότητα των υποδερμικών κυττάρων, που επιτρέπει τη μεγαλύτερη διάχυση ανθοκυανινών, και στη μεγαλύτερη διαλυτότητα άλλων φαινολικών ενώσεων στην υγρή φάση. Ωστόσο, η μέγιστη συγκέντρωση των ανθοκυανινών επιτυγχάνεται νωρίς κατά την αλκοολική ζύμωση. Εάν οι τανίνες δεν είναι επαρκείς για τη δέσμευση των ελεύθερων ανθοκυανινών, η ποσότητα πολυμερών χρωστικών στο κρασί μειώνεται (Sacchi et al., 2005). Παρόλα αυτά, τα δεδομένα από διαφορετικές έρευνες συχνά παρουσιάζουν αποκλίσεις, καθώς οι παράμετροι που επηρεάζουν την εκχύλιση δεν παραμένουν σταθερές. Αυτό καθιστά δύσκολη τη σύγκριση των αποτελεσμάτων (Bakker et al., 1998; Harbertson et al., 2002; Zimman et al., 2002).

Γ. Επίδραση προζυμωτικής κρυοεκχύλισης

Η κρυοεκχύλιση στην ερυθρή οινοποίηση εφαρμόζεται για να διευκολυνθεί η εκχύλιση των υδρόφιλων φαινολικών συστατικών, όπως οι προανθοκυανιδίνες και οι τανίνες, καθώς πραγματοποιείται στην υδατική φάση. Αυτή η πρακτική συμβάλλει στη βελτίωση του αρωματικού προφίλ του οίνου, ενώ ενισχύει την εκχύλιση των προανθοκυανιδινών και των τανινών από τον φλοιό των σταφυλιών, αντί των γιγάρτων. Οι μελέτες για την επίδραση της κρυοεκχύλισης στη φαινολική σύσταση του οίνου έχουν αποδώσει διαφορετικά αποτελέσματα, λόγω παραγόντων όπως η ποικιλία του σταφυλιού, η διάρκεια και η θερμοκρασία της κρυοεκχύλισης, καθώς και οι διαφορετικές τεχνικές οινοποίησης (Tsakiris et al., 2010).

Δ. Λοιποί παράγοντες

Η σταδιακή αύξηση της περιεκτικότητας σε αιθανόλη κατά τη ζύμωση διευκολύνει την εκχύλιση των προανθοκυανιδινών, οι οποίες αποτελούν πρόδρομες ενώσεις των ανθοκυανιδινών (Setford et al., 2017).

Ο θειώδης ανυδρίτης παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στην εκχύλιση των φαινολικών συστατικών. Η προσθήκη του, είτε πριν είτε κατά τη διάρκεια της διαδικασίας, ενισχύει τη διάχυση

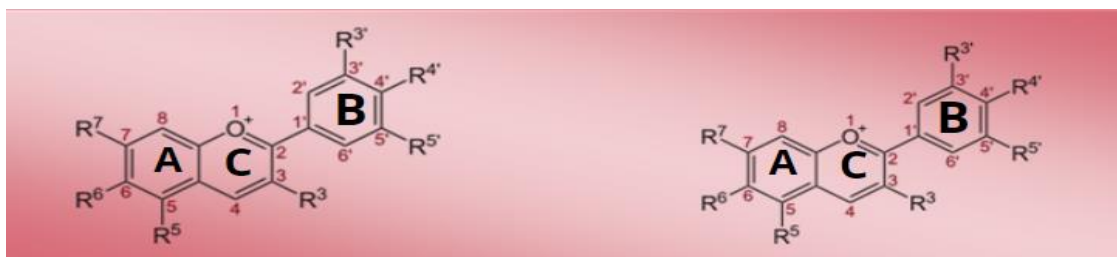
φαινολικών και ανόργανων συστατικών από τα στερεά μέρη του σταφυλιού στον χυμό. Η επίδραση αυτή οφείλεται στη διάσπαση των κυτταρικών δομών, η οποία διευκολύνει την απελευθέρωση των συστατικών (Bakker et al., 1998).

Παράλληλα, η χρήση πηκτινολυτικών ενζύμων μπορεί να αυξήσει την ένταση του χρώματος και το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο του οίνου, χωρίς να έχει αρνητική επίδραση στις ανθοκυανίνες. Αυτό συμβαίνει επειδή οι ελεύθερες ανθοκυανίνες δεσμεύονται φυσικά από άλλες ουσίες, όπως οι φλαβανόλες και οι πολυμερείς χρωστικές. Ωστόσο, είναι απαραίτητο τα ένζυμα να είναι υψηλής καθαρότητας, καθώς η παρουσία β-γλυκοζιδάσης μπορεί να επηρεάσει δυσμενώς τη χρωματική ένταση του οίνου (Belda et al., 2016).

1.4.2.3 Αντιδράσεις φαινολικών συστατικών

Οι δράσεις που οφείλονται στα φαινολικά συστατικά είναι αποτέλεσμα ενζυμικών και χημικών αντιδράσεων και μηχανισμών. Οι ενζυμικές αλλαγές συνήθως παρατηρούνται στα πρώιμα στάδια της οινοποίησης, ενώ οι χημικές αλλαγές συμβαίνουν κατά την παλαίωση του οίνου, καθώς τα ένζυμα απενεργοποιούνται. Η δραστηριότητα των φαινολικών συστατικών εξαρτάται από το φαινολικό υδροξύλιο και την παρουσία ή απουσία άλλων υποκαταστατών. Το φαινολικό υδροξύλιο και η δομή του παίζουν καίριο ρόλο στη δράση τους. Ειδικότερα, το φαινολικό υδροξύλιο συμμετέχει σε συντονισμένα φαινόμενα που προκαλούν μερικό αρνητικό φορτίο στον υποκατάστατο και τον καθιστούν πυρηνόφιλο.

Οι ανθοκυανίνες εμφανίζονται ως έγχρωμες μορφές του φλαβυλίου σε έντονα όξινες συνθήκες, όπως αυτές που χρησιμοποιούμε στη χρωματογραφική ανάλυση. Σε λίγο πιο όξινα περιβάλλοντα, η μορφή τους μετατρέπεται, μέσω μεταφοράς ιόντων υδρογόνου και αντιδράσεων ενυδάτωσης, δημιουργώντας διάφορες χρωματικές μορφές. Οι ανθοκυανίνες μπορούν να μετασχηματιστούν σε διαφορετικές έγχρωμες μορφές, όπως η χαλκόνη και η κιννόνη, σε μικρότερες αναλογίες (Thorngate et al., 1994).



Εικόνα 1.11 Χημική δομή φαινολικών συστατικών (Πηγή: Thorngate et al., 1994).

Ο Α-δακτύλιος της φλουρογλουκινόλης είναι πυρηνόφιλος, ενώ ο C-δακτύλιος του φλαβυλίου (βλ. **Εικόνα 1.11**) δρα ως ηλεκτρονιόφιλος. Η προσθήκη νερού και θειώδους ανυδρίτη ή η συντονισμένη προσθήκη ενώσεων με πολωμένους διπλούς δεσμούς είναι παραδείγματα πυρηνόφιλων αντιδράσεων στο φλαβύλιο που οδηγούν στον αποχρωματισμό των ανθοκυανών. Οι φλαβανόλες, από την πλευρά τους, ενεργούν τόσο ως πυρηνόφιλα όσο και ως ηλεκτρονιόφιλα, εμπλέκοντας τον Α-δακτύλιο τους και τα καρβοκατιόντα που προκύπτουν από τη διάσπαση των δεσμών τους. Αυτές οι αντιδράσεις συμβαίνουν σε χαμηλές τιμές pH (Aron et al., 2008). Τα φαινολικά ανιόντα μπορούν να οξειδωθούν με ευκολία προς ρίζες ημικιννόνης μέσω μεταφοράς ηλεκτρονίων. Αυτές οι ρίζες μπορούν να δημιουργήσουν νέα προϊόντα προσθήκης ή να υφίστανται δεύτερη οξείδωση, δημιουργώντας ουσίες που είναι τόσο ηλεκτρονιόφιλες όσο και οξειδωτικές. Οι αντιδράσεις οξείδωσης στο κρασί συμβαίνουν σε αργούς ρυθμούς λόγω χαμηλής περιεκτικότητας των φαινολικών ανιόντων στο pH του οίνου.

Ωστόσο, αυτές μπορούν να επιταχυνθούν υπό την παρουσία ενεργών οξειδωτικών ενζύμων (Brouillard et al., 1977, Cheynier et al., 2006).

A. Ενζυμικές δράσεις

Τα βασικά ένζυμα που επηρεάζουν τις αντιδράσεις των φαινολικών συστατικών, όπως τα φλαβονοειδή, περιλαμβάνουν οξειδωτικά ένζυμα, όπως οι πολυφαινολοξειδάσες και οι περοξειδάσες, τα οποία προέρχονται είτε από το ίδιο το σταφύλι είτε από μύκητες που μπορεί να το μολύνουν. Επιπλέον, στο κρασί υπάρχουν διάφορα υδρολυτικά ένζυμα, όπως οι γλυκοζιδάσες και οι εστεράσες, τα οποία προέρχονται είτε από τις ζύμες και τους μύκητες είτε προστίθενται στο κρασί για τεχνολογικούς σκοπούς, όπως οι πηκτινάσες (Scutarasu et al., 2021). Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή νομοθεσία, επιτρεπόμενα ένζυμα στην οινοποίηση είναι οι πηκτινάσες και οι β-γλυκανάσες, χρησιμοποιούμενες για διαύγαση, σταθεροποίηση και εκχύλιση αρωματικών ουσιών από το σταφύλι, βελτιώνοντας ταυτόχρονα την εξαγωγή φαινολικών συστατικών και το χρώμα του οίνου.

Τα εμπορικά προϊόντα περιέχουν συνήθως και άλλα στοιχεία όπως κινάμο-εστεράσες, ταννάσες και γλυκοζιδάσες. Η υδρόλυση των γλυκοζιτών των φλαβονολών από τη β-γλυκοζιδάση οδηγεί σε θολώματα και αποχρωμάτιση, ενώ η παρουσία κινάμοεστερασών ενισχύει αυτές τις επιπτώσεις. Η δράση της ταννάσης, παρόλο που παρεμποδίζεται από την υψηλή περιεκτικότητα σε φαινολικά στο κρασί, συμβάλλει στη διάσπαση εστερικών δεσμών σε εστεροποιημένες φλαβανόλες. Ωστόσο, ορισμένες προανθοκυανιδίνες παραμένουν ανθεκτικές στην υδρόλυση, λόγω μοριακών αλληλεπιδράσεων ή στερεοχημικών παρεμβολών (Fernandez-Zurbano et al., 1999), (Okamura et al., 1982).

B. Ενζυμικές οξειδώσεις

Η πολυφαινολοξειδάση (PPO) είναι κύριο ένζυμο στην οινοποίηση, με δύο βασικές λειτουργίες: μετατροπή μονοφαινόλες σε Ο-διφαινόλες και έπειτα, με οξείδωση, σε Ο-κινόνες, χρησιμοποιώντας το μοριακό οξυγόνο. Η λακκάση, προερχόμενη από μυκητιακή μόλυνση του σταφυλίου από το *B. cinerea*, επηρεάζει τη μετατροπή Ο-διφαινόλων σε Ο-κινόνες. Επιπλέον, αλληλεπιδρά με διάφορα υποστρώματα, συμπεριλαμβανομένων των γλυκοζυλιωμένων φλαβονοειδών όπως ανθοκυάνες και π-διφαινόλες.

Η περοξειδάση (POD) επιταχύνει την οξείδωση Ο-διφαινολικών σε Ο-κινόνες, χρησιμοποιώντας υπεροξειδίο του υδρογόνου ως κύριο συν-υπόστρωμα. Η αντίδραση αυτή συμβαίνει κυρίως στο σταφύλι, όπου η πολυφαινολοξειδάση είναι ενεργότερη λόγω περιορισμένης παρουσίας υπεροξειδίου του υδρογόνου στο γλεύκος. Η περοξειδάση συμβάλλει επίσης στην αποδόμηση των ανθοκυανών κατά την αποθήκευση των σταφυλιών, σε συνδυασμό με την απενεργοποίηση της καταλάσης και την ενεργοποίηση της πολυφαινολοξειδάσης κατά την ανθρακική αναερόβωση.

Τα φλαβονοειδή συνήθως δεν εμπλέκονται απευθείας στην ενζυμική οξείδωση. Ωστόσο, τα γλυκοζυλιωμένα φλαβονοειδή μπορούν να οξειδωθούν από την λακκάση και την περοξειδάση. Επιπλέον, αυτά τα φλαβονοειδή μπορούν να συμμετάσχουν σε αντιδράσεις οξείδωσης με κινόνες από ενζυμική οξείδωση τρυγικών οξέων. Οι παραγόμενοι κινόνες μπορούν να μετατραπούν σε δευτερογενείς Ο-κινόνες. Η προσθήκη κατεχίνης σε ενζυμικά παραχθείσα κινόνη δημιουργεί διμερή κατεχίνης. Αυτή η διμερής κατεχίνη μπορεί να υποστεί περαιτέρω οξείδωση, και να μετατραπεί σε κίτρινες χρωστικές. Παρόμοιες ουσίες μπορούν να δημιουργηθούν από σύζευξη ριζών ημικιννονών κατεχίνης, ιδίως σε χαμηλά επίπεδα pH (Gunata et al., 1987), (Cheynier et al., 2006).

Γ. Χημικές αντιδράσεις

Οι αλλαγές στο χρώμα και τη γεύση κατά την παλαίωση του οίνου αποδίδονται στη μετατροπή των ανθοκυανών του σταφυλιού σε πολυμερείς χρωστικές ουσίες μέσω αντιδράσεων προσθήκης με τις φλαβανόλες. Έχουν προταθεί τρεις διαφορετικοί μηχανισμοί για την εκτέλεση αυτών των αντιδράσεων (Monagas et al., 2005):

1. Προϊόντα άμεσης αντίδρασης προσθήκης ανθοκυανών-φλαβονολών

Η πρώτη διαδικασία αφορά την προσθήκη φλαβονολών στη θέση C4 του ανθοκυανικού ιόντος του φλαβυλίου, οδηγώντας στη δημιουργία 4-φλαβανυλο-ανθοκυανών. Αυτές, γνωστές ως προϊόντα ανθοκυανίνης-φλαβανόλης (A-F) ή ανθοκυανίνης-ταννίνης (A-T), είναι άχρωμες (ημικετάλες), ενώ η οξείδωση επαναφέρει το φλαβύλιο στην κόκκινη έγχρωμη μορφή. Υπό κατάλληλες συνθήκες, μπορούν να προκύψουν κιτρινο-πορτοκαλί μορφές ξανθυλίου μέσω δομικών αναδιατάξεων (Jackson et al., 2008).

Ο δεύτερος μηχανισμός βασίζεται στην προσθήκη ανθοκυανών σε καρβοκατιόν που σχηματίζεται σε όξινα διαλύματα από φλαβαν-3,4-διόλες ή τη διάσπαση προκυανιδινών. Στο pH του οίνου, παρατηρείται οξείδωση των προκυανιδινών, ενώ η παρουσία μονομερών φλαβονολών μειώνει τις προανθοκυανιδίνες, αντικαθιστώντας σταδιακά πολυμερή υψηλού μοριακού βάρους. Η προσθήκη ανθοκυανών στο καρβοκατιόν, μέσω οξείδωσης ή αφυδάτωσης, δημιουργεί σταθερές ενώσεις τύπου φλαβανόλης-ανθοκυανής (F-A), που διατηρούν το χρώμα τους ανεξάρτητα από συνθήκες οξείδωσης (Jurd et al., 1969, Cheynier et al., 2006).

2. Προϊόντα παρουσία ακεταλδεΐδης

Οι αντιδράσεις μεταξύ ανθοκυανών και φλαβανολών είναι αρκετά πιο γρήγορες υπό την παρουσία ακεταλδεΐδης στο κρασί, που προκύπτει από το μεταβολισμό των ζυμών. Ένας μηχανισμός περιλαμβάνει την προσθήκη φλαβανόλης σε πρωτονιωμένη ακεταλδεΐδη, παράγοντας προϊόντα τύπου φλαβανόλης-ανθοκυανής (F-A). Αυτή η αντίδραση ενισχύει το χρώμα του κόκκινου οίνου και σταθεροποιείται με μικρή ποσότητα οξυγόνου (μικρο-οξυγόνωση). Επίσης, οι αντιδράσεις πολυμερισμού με άλλες αλδεΐδες και γλυοξυλικό οξύ παράγουν κίτρινες έγχρωμες ενώσεις (Rivas-Gonzalo et al., 1995), (Cheynier et al., 2006).

3. Αντιδράσεις παραγωγής πυρανθοκυανών.

Οι ανθοκυανές αντιδρούν με ακεταλδεΐδη για να παράγουν φλαβανο-πυρανθοκυανές. Αυτές οι ενώσεις προκύπτουν από την αντίδραση των γλυκοζιτών της μαλβιδίνης με μονομερή φλαβανολών και ακεταλδεΐδη. Μπορούν να εμπλακούν μέχρι και τετραμερή φλαβανολών, παράγοντας πυρανθοκυανιδίνες ενώσεις. Οι φλαβανο-πυρανθοκυανές προκύπτουν είτε από πυρηνόφιλη προσθήκη της φλαβανολής στην πυρανθοκυανή, είτε από προσθήκη διπλού δεσμού βινυλοφλαβανολής στην ανθοκυανή. Επίσης, οι φαινυλο-πυρανθοκυανές παράγονται από την αντίδραση των ανθοκυανών με υδροξυ-κιναμωμικά οξέα ή παράγωγους τους. Τέλος, οι καρβοξυπυρανθοκυανές προκύπτουν από αντιδράσεις προσθήκης του διπλού δεσμού του πυροσταφυλικού οξέος στο κατιόν του φλαβυλίου, ακολουθούμενες από αφυδάτωση και επανακυκλοποίηση. Αυτές οι ενώσεις έχουν κυρίως κιτρινο-πορτοκαλί χρωματική απορρόφηση (Cheynier et al., 2006).

1.5 Αφυδάτωση/Λιάσιμο

1.5.1 Η διαδικασία

Κατά τη διαδικασία του λιάσιματος, γίνεται εξάτμιση του νερού από τα σταφύλια, οδηγώντας σε αύξηση της συγκέντρωσης σακχάρων και άλλων ουσιών στο φρούτο. Αυτό το στάδιο είναι

κρίσιμο για την παραγωγή οίνου, καθώς η υψηλή συγκέντρωση σακχάρων επηρεάζει την ποσότητα της τελικής αλκοόλης στον οίνο. Σταφύλια με μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε σάκχαρα παράγουν οίνους με πιο έντονα αρωματικά χαρακτηριστικά, γλυκύτητα και πλούσιο άρωμα. Η διάρκεια του λιάσιματος εξαρτάται από το είδος και την ποιότητα των σταφυλιών, τον τύπο του κρασιού που επιδιώκεται να παραχθεί και τις κλιματολογικές συνθήκες. Η διαδικασία μπορεί να διαρκέσει από λίγες εβδομάδες έως αρκετούς μήνες και είναι καθοριστική για την ποιότητα του τελικού προϊόντος (Fadhel et al., 2005).

1.5.2 Ιστορικές αναφορές και περιοχές

Οι διάφορες παραδόσεις παραγωγής οίνων από λιαστά ή αφυδατωμένα σταφύλια χαρακτηρίζουν μια εκτεταμένη ιστορία που χρονολογείται χιλιάδες χρόνια πίσω. Η τεχνική αυτή, γνωστή ως λιάσιμο ή αφύδατωση των σταφυλιών, έχει χρησιμοποιηθεί παγκοσμίως σε διάφορες περιοχές, εξελισσόμενη σε διαφορετικές μορφές και παραλλαγές. Η αρχή αυτής της πρακτικής μπορεί να εντοπιστεί στην αρχαιότητα. Αρχαίοι πολιτισμοί χρησιμοποιούσαν τον ήλιο και την αέρια ξήρανση για να απομακρύνουν το νερό από τα σταφύλια, παράγοντας έτσι σταφίδες. Από τότε, η διαδικασία αυτή έχει προσαρμοστεί και εξελιχθεί ανάλογα με τις περιοχές και τις κλιματικές συνθήκες.



Εικόνα 1.12 Σταφύλια σε λιάστρες στην Μονεμβασια Λακωνίας. (Πηγή: Αρχείο της Οινοποιητικής Μονεμβασιάς Τσιμπίδη, 2012).

Στην αρχαία Ελλάδα, οι αρχαίοι Έλληνες έκαναν χρήση αυτής της διαδικασίας παραγωγής οίνου από λιαστά σταφύλια. Το λιάσιμο αποτελούσε τρόπο να δημιουργούν εκλεκτούς οίνους, εκμεταλλευόμενοι την διαδικασία για να ενισχύσουν τα γευστικά χαρακτηριστικά τους. Οι Ρωμαίοι διατήρησαν και ανέπτυξαν την τεχνική του λιάσιματος, ενσωματώνοντας την στην καθημερινότητά τους. Οι οίνοι από λιαστά σταφύλια ήταν ανάμεσα στα προτιμημένα από τους αριστοκράτες και χρησιμοποιούνταν σε θρησκευτικές τελετές και εορταστικά γεύματα. Κατά τη διάρκεια του Μεσαίωνα, η παράδοση αυτή έγινε δημοφιλής σε περιοχές όπως η Μεσογείος. Αραβες και Ισπανοί ήταν ανάμεσα στους πρώτους που εισήγαγαν και εφάρμοσαν αυτήν τη μέθοδο παραγωγής.

Το λιάσιμο συνεχίζεται και στη σύγχρονη εποχή, με οίνους όπως η "Commandaria" από την Κύπρο, το "Vinsanto" και η "Malvasia" από την Ελλάδα, καθώς και το "Αμαρόνε" από τη

Valpolicella της Ιταλίας, που αποτελούν χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτής της μακραίωνης παράδοσης. Οι οίνοι από λιαστά σταφύλια ξεχωρίζουν για την πλούσια, γλυκιά γεύση και το έντονο άρωμά τους, τα οποία οφείλονται στη συγκέντρωση σακχάρων και αρωματικών συστατικών, διατηρώντας μια αναλλοίωτη παράδοση που εξελίσσεται μέσα στους αιώνες. (Paronetto et al., 2011).

1.5.3. Ερυθρά αφυδατωμένα σταφύλια για την παραγωγή ερυθρού ξηρού οίνου

Σήμερα, οι παραγωγοί οίνου σε όλο τον κόσμο εφαρμόζουν την τεχνική του “λιασίματος” για την παραγωγή ερυθρών οίνων υψηλής ποιότητας. Η διάρκεια της διαδικασίας ποικίλλει ανάλογα με την ποικιλία των σταφυλιών και τις κλιματολογικές συνθήκες, και μπορεί να διαρκέσει από λίγες εβδομάδες έως και μερικούς μήνες. Κατά τη διάρκεια αυτή, τα σάκχαρα συγκεντρώνονται στους καρπούς των σταφυλιών, που συνήθως τοποθετούνται σε ειδικές “λιάστρες” ή λιοπάνια, είτε σε εξωτερικούς χώρους είτε πάνω από ελαφρύ άχυρο στο έδαφος (βλ. Εικόνα 1.12). Το “λιάσιμο” αποτελεί καθοριστική φάση για τη διαμόρφωση της τελικής ποιότητας του οίνου, συμβάλλοντας στην ανάπτυξη μοναδικών αρωμάτων και γεύσεων.

Μια σημαντική διεργασία που λαμβάνει χώρα κατά το “λιάσιμο” είναι ο πολυμερισμός των τανινών. Αυτή η μετατροπή ενισχύει τη δομή και την υφή του οίνου, ενώ βελτιώνει τη δυνατότητα παλαίωσης. Οι μικρότερες τανίνες ενώνονται σχηματίζοντας μεγαλύτερες, πιο σύνθετες ενώσεις, κάτι που προσδίδει στον οίνο πλούσια και ισορροπημένη γεύση. Παράλληλα, η διαδικασία αυτή ενισχύει τα φυσικά αρώματα των σταφυλιών, δημιουργώντας πολυδιάστατα χαρακτηριστικά με νότες από ξηρούς καρπούς, μαύρα φρούτα και μπαχαρικά. Χάρη στη συγκέντρωση σακχάρων που επιτυγχάνεται μέσω του “λιασίματος”, οι ερυθροί οίνοι από λιαστά σταφύλια χαρακτηρίζονται από εξαιρετική ικανότητα παλαίωσης. Με την πάροδο του χρόνου, εξελίσσονται σε πιο πολύπλοκες και εκλεπτυσμένες γεύσεις, αναδεικνύοντας την υψηλή ποιότητά τους (Accordini et al., 2013), (Fabani et al., 2017).

1.5.4. Ερυθροί ξηροί οίνοι “Amarone” και η διαδικασία παραγωγής τους.

Η παραγωγή του οίνου "Amarone" είναι μια απαιτητική διαδικασία, μοναδική για την περιοχή Valpolicella του Veneto στη βορειοανατολική Ιταλία. Η περιοχή αυτή διακρίνεται σε τρεις γεωγραφικές υποπεριοχές: το Classico, το Valpantena και την Ανατολική Valpolicella, καθεμία με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά που συμβάλλουν στα διαφορετικά στυλ του "Amarone". Οι κύριες ποικιλίες σταφυλιών που χρησιμοποιούνται είναι οι Corvina, Corvinone, Rondinella και Molinara, με ορισμένους παραγωγούς να αξιοποιούν και τη σπάνια Oseleta. Αν και οι ίδιες ποικιλίες χρησιμοποιούνται για τον ερυθρό οίνο Valpolicella, το "Amarone" ξεχωρίζει για την ιδιαίτερη προσέγγιση στην παραγωγή του.

Η διαδικασία ξεκινά με τη συγκομιδή σταφυλιών στα τέλη Σεπτεμβρίου με αρχές Οκτωβρίου, όταν τα σταφύλια βρίσκονται σε ιδανικό στάδιο ωρίμανσης. Τα σταφύλια τρυγούνται ελαφρώς ανώριμα για να διατηρήσουν την απαραίτητη οξύτητα. Η υγεία των σταφυλιών είναι κρίσιμη, καθώς η επόμενη φάση, η διαδικασία ξήρανσης, απαιτεί σταφύλια άριστης ποιότητας.

Η τεχνική “**appassimento**”, που ανάγεται στην εποχή των Ρωμαίων, εφαρμόζεται για να αφυδατώσει τα σταφύλια σε μια περιοχή με υγρό και ψυχρό κλίμα. Κατά τη διάρκεια 3-4 μηνών, τα σταφύλια χάνουν μεγάλο μέρος του βάρους τους, καθώς το νερό εξατμίζεται. Η διαδικασία αυτή συγκεντρώνει τα σάκχαρα, αυξάνει τον αλκοολικό βαθμό και ενισχύει την ένταση των αρωμάτων και της γεύσης. Μετά την αφυδάτωση, τα σταφύλια πιέζονται και ο συμπυκνωμένος μούστος υφίσταται αργή ζύμωση, η οποία διαρκεί 45-60 ημέρες, πολύ περισσότερο από τη συνήθη διάρκεια. Στη συνέχεια, ο οίνος ωριμάζει για τουλάχιστον τρία χρόνια: 30 μήνες σε μεγάλα δρύινα βαρέλια και 6 μήνες στη φιάλη. Αυτή η μακρά διαδικασία αποδίδει έναν οίνο με

υψηλό αλκοολικό βαθμό (15-17% Vol.), βαθύ χρώμα, πλούσιο σώμα και πολύπλοκα αρώματα, τα οποία βελτιώνονται με την παλαίωση.



Εικόνα 1.13 Λιάστρες με σταφύλια για το παραδοσιακό Valpolicella Ripasso (Πηγή : <https://www.vinovest.co/blog/valpolicella-ripasso-2018>).

Ορισμένοι παραγωγοί εφαρμόζουν τη μέθοδο **Ripasso**, μια τεχνική δεύτερης ζύμωσης που χρησιμοποιεί τον νεαρό οίνο Valpolicella, ο οποίος περνά πάνω από τις φλούδες και τα υπολείμματα των σταφυλιών που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή του Amarone. Αυτή η διαδικασία ενισχύει την πολυπλοκότητα, το σώμα και τα αρώματα του οίνου, δημιουργώντας έναν ενδιάμεσο τύπο κρασιού. Οι οίνοι που παράγονται με αυτή τη μέθοδο φέρουν την ένδειξη **Ripasso** στην ετικέτα τους και δεν πρέπει να συγχέονται με το Amarone, καθώς πρόκειται για διαφορετική κατηγορία.

Συνοπτικά, η παραγωγή του "Amarone" περιλαμβάνει την προσεκτική επιλογή σταφυλιών, τη διαδικασία "appassimento" διάρκειας 3-4 μηνών, αργή ζύμωση 45-60 ημερών και παλαίωση για τουλάχιστον τρία χρόνια. Αυτή η διαδικασία εξασφαλίζει έναν οίνο μοναδικής ποιότητας, με πλούσιο χαρακτήρα και μακρά δυνατότητα παλαίωσης. (Cisterna et al., 2018, Paronetto et al., 2011, <https://winetrails.gr/to-amarone-κρασί-από-αποξηραμένα-σταφύλια/8060/>).

1.6 Οργανοληπτικός Έλεγχος

1.6.1. Εισαγωγή στην Οργανοληπτική εξέταση

Η οργανοληπτική ανάλυση του οίνου αποτελεί ένα κρίσιμο στάδιο για την πλήρη κατανόηση των χαρακτηριστικών του. Μέσω χημικών αναλύσεων, πάνω από 300 συστατικά του οίνου προσδιορίζονται, αποτυπώνοντας την "ανατομία" του προϊόντος. Αντίθετα, η οργανοληπτική εξέταση ανιχνεύει συστατικά σε μικρές ποσότητες, επιφέροντας τον "χαρακτήρα" που το διακρίνει. Κατά τη διαδικασία της οργανοληπτικής ανάλυσης, εκμεταλλεύεται όλες τις αισθήσεις προκειμένου να αναδείξει τα χαρακτηριστικά του. Πρόκειται για μια διερευνητική προσπάθεια καταγραφής και ανάλυσης των εντυπώσεων, μεταμορφώνοντας την κατανάλωση σε εξέταση. Για να είναι αποτελεσματική, απαιτείται από τον δοκιμαστή της οργανοληπτικής ανάλυσης να διακρίνει με ακρίβεια τα χαρακτηριστικά του οίνου, να είναι αντικειμενικός και να

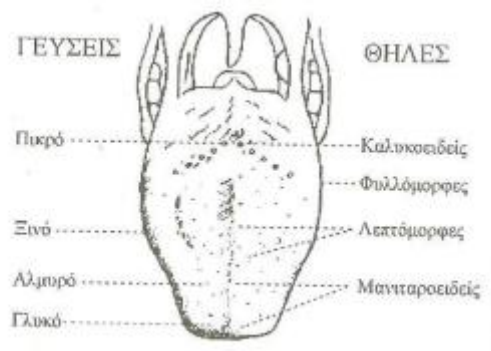
εκφράζεται με σαφήνεια μέσω ακριβών όρων, δημιουργώντας μια πλήρη και ολοκληρωμένη γνώμη. Αυτές οι ικανότητες βασίζονται σε πείρα και γνώση του αντικειμένου. Ιστορικά, η σπουδαιότητα της οργανοληπτικής ανάλυσης αναγνωρίστηκε στην Ευρωπαϊκή Ένωση το 1979, ενώ στην Ελλάδα τέτοια μέτρα θεσπίστηκαν από το 1981. Τέλος, η οργανοληπτική ανάλυση περιλαμβάνει όρους όπως η πολυπλοκότητα για την ποικιλία αρωματικών στοιχείων και η αρμονία, αναφερόμενη στην ισορροπία των αισθήσεων που αναδεικνύονται (Lesschaeve et al., 2022).

1.6.2. Συμβολή των αισθήσεων

Στην οργανοληπτική ανάλυση του οίνου, οι βασικές αισθήσεις που εξετάζονται είναι η όραση, η όσφρηση και η γεύση. Η αξιολόγηση ξεκινά με την οπτική εντύπωση, όπου η διαύγεια θεωρείται απαραίτητη στους εμπορεύσιμους οίνους, αν και σπάνια επηρεάζει τη γεύση ή τα αρώματα. Το χρώμα, με τα χαρακτηριστικά της απόχρωσης και της έντασης, παρέχει πληροφορίες για την παραγωγή, την παλαίωση και την ποιότητα, ενώ το ιξώδες και ο αναβρασμός στους αφρώδεις οίνους αποτελούν σημαντικά ποιοτικά χαρακτηριστικά.

Η γευστική δοκιμή βασίζεται στις γευστικές μονάδες της γλώσσας, οι οποίες αντιλαμβάνονται διαφορετικές γεύσεις σε συγκεκριμένα σημεία, όπως φαίνεται και στην εικόνα 1.14. Η "γλυκύτητα" εντοπίζεται στο μπροστινό άκρο της γλώσσας, η "αλμύρα" στις πλάγιες πλευρές του μπροστινού μέρους, η "οξύτητα" στις πλάγιες και κάτω επιφάνειες, ενώ η "πικράδα" στο πίσω μέρος. Αυτές οι αισθήσεις αλληλεπιδρούν, με την αρχική εντύπωση (ή "επίθεση") να είναι συνήθως γλυκιά λόγω της αλκοόλης, ενώ η επίγευση, που περιλαμβάνει οξύτητα και πικράδα, διαρκεί 8-10 δευτερόλεπτα. Η εξάτμιση του οίνου με εισπνοή από το στόμα αναδεικνύει τα "γευστικά αρώματα", ("flavor").

Η όσφρηση παίζει επίσης καθοριστικό ρόλο, αποκαλύπτοντας αρώματα της πρώτης ύλης, της ζύμωσης ή της παλαίωσης. Οι εντυπώσεις αυτές συνδυάζονται με τις γεύσεις, ενώ η αίσθηση αφής στο στόμα (όπως η στρογγυλότητα και η λιπαρότητα) και, σε κάποιες περιπτώσεις, η ακοή (ήχοι από τη φιάλη ή τις φυσαλίδες) ολοκληρώνουν την οργανοληπτική εμπειρία. (OIV 2009), (Jackson et al., 2022).



Εικόνα 1.14 Περιοχές γεύσεων στη γλώσσα (Πηγή: OIV, 2009).

1.6.3. Τρόπος Δοκιμής

Η δοκιμή σε στάδια ακολουθεί τα εξής βήματα: Κάθε δείγμα τοποθετείται σε πανομοιότυπα, καθαρά ποτήρια οίνου με σχήμα τουλίπας. Το ποτήρι γεμίζει περίπου το 1/4 έως το 1/3 του όγκου του (περίπου 8-10 ml). Το δείγμα τίθεται σε γωνία 30° έως 45° και παρατηρείται επάνω σε φωτεινό, λευκό φόντο. (βλ **Εικόνα 1.15**) Αυτή η θέση επιτρέπει την παρατήρηση των δακρύων που σχηματίζονται, της έντασης και της απόχρωσης του δείγματος οίνου (OIV 2009).



Εικόνα 1.15 Οπτική αξιολόγηση οίνου (Πηγή: ΟΙV, 2009).

Πριν την ανάδευση, ακολουθεί μια αναλυτική αξιολόγηση των αρωμάτων. (βλ. **Εικόνα 1.16**)



Εικόνα 1.16 Οσφρητική αξιολόγηση οίνου (Πηγή: ΟΙV, 2009).

Σε μια δεύτερη φάση της οσφρητικής εκτίμησης, ο οίνος αναδεύεται με περιστροφικές κινήσεις. Αυτή η διαδικασία επιτρέπει την αύξηση της επιφάνειας εξάτμισης, προκειμένου να απελευθερωθούν περισσότερα αρώματα. (βλ. **Εικόνα 1.17**)



Εικόνα 1.17 Εξάτμιση αρωματικών ουσιών κατά την περιστροφή του ποτηριού (Πηγή: ΟΙV, 2009).

Για να ενισχύσουμε την εξέλιξη του αρώματος του οίνου, η περιστροφική κίνηση του ποτηριού αποτελεί κρίσιμη τεχνική. Η διαδικασία αυτή απαιτεί αργές, ομαλές περιστροφικές κινήσεις της βάσης του ποτηριού σε μία επίπεδη επιφάνεια. Αυτό βοηθά στη δημιουργία ευρύτερης επιφάνειας εξάτμισης του οίνου, αποδεδειγμένα ενισχύοντας την απελευθέρωση των αρωμάτων (Ronald et al., 2002).

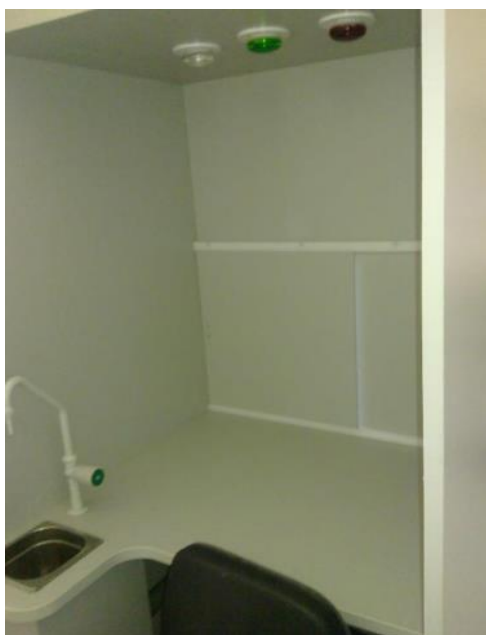


Εικόνα 1.18 Γευστική δοκιμή (Πηγή: OIV, 2009).

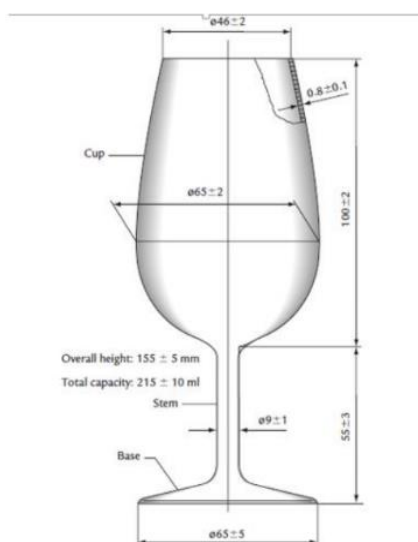
Προστίθενται 6-10 ml οίνου στο στόμα (Εικόνα 1.18), ώστε να έρθει σε επαφή με όλες τις επιφάνειες της γλώσσας, των μαγούλων και του ουρανίσκου. Η γεύση του εξελίσσεται με τον χρόνο, μεταβάλλοντας τις αντιλήψεις της γλυκύτητας, οξύτητας και πικράδας, ενώ ενισχύονται χαρακτηριστικά όπως η στυπτικότητα, το σώμα και η θερμοκρασία. Η παραμονή του οίνου στο στόμα για τουλάχιστον 15 δευτερόλεπτα βοηθά στην απελευθέρωση αρωμάτων μέσω της αναρρόφησης αέρα και την ανάδειξή τους κατά την εκπνοή. Μετά την κατάποση ή απόχρεμψη, αξιολογούνται οι γευστικές και οσφρητικές εντυπώσεις που παραμένουν, ενώ γίνεται συνολική εκτίμηση του οίνου με βάση την πολυπλοκότητα, τη φινέτσα, την ισορροπία και τυχόν ελαττώματα (Ronald et al., 2002).

1.6.4. Συνθήκες δοκιμής

Για την ακριβή αξιολόγηση οίνου, η ψυχοσωματική κατάσταση του αξιολογητή και οι ιδανικές συνθήκες δοκιμής είναι κρίσιμες. Απαιτείται εξάσκηση των αισθήσεων, σωστή περιγραφή εντυπώσεων και χρήση πλούσιου λεξιλογίου για την ερμηνεία τους. Ο χώρος πρέπει να είναι ευχάριστος, φωτισμένος, χωρίς οσμές, με θερμοκρασία 20-22°C και υγρασία 60-70%. Τα κελιά δοκιμαστών, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 1.19**, πρέπει να είναι ηχομονωμένα, ανεξάρτητα, με κατάλληλο εξοπλισμό, και κατασκευασμένα από υλικά που δεν αποσπούν την προσοχή. Τα ποτήρια, ιδανικά σε σχήμα τουλίπας, όπως το πρότυπο ποτήρι της **Εικόνας 1.20**, προάγουν την ανάδειξη των οσμών και της διαύγειας του οίνου. Πρέπει να καθαρίζονται σχολαστικά με ουδέτερα προϊόντα και να στεγνώνονται με καθαρά πανιά. Η δοκιμή προτείνεται πρωινές ώρες ή πριν το δείπνο, με τον οίνο στη σωστή θερμοκρασία (6-18°C, ανάλογα με τον τύπο). Η διάρκεια δεν πρέπει να ξεπερνά τα 45-60 λεπτά και τα δείγματα να περιορίζονται σε 10-15. Η αξιολόγηση περιλαμβάνει τη γεύση, το άρωμα και την ισορροπία, υπό συνθήκες που διασφαλίζουν την αντικειμενικότητα. (Ronald et al., 2002), (OIV 2009), (Meilgaard et al., 2007).



Εικόνα 1.19 Κατάλληλα κελιά δοκιμαστών (Πηγή ΓΠΑ Αθηνών)



Εικόνα 1.20 Διεθνής Οργανισμός Τυποποίησης, ιδανικό ποτήρι οργανοληπτικής εξέτασης οίνων. Οι διαστάσεις είναι σε mm (Πηγή: Ronald et al., 2002).

1.7 Σκοπός και Αντικείμενο της Μελέτης

Η μεταπτυχιακή εργασία επικεντρώνεται στην παραγωγή ερυθρού λιαστού ξηρού οίνου από την ποικιλία Δημιώνα, μια ιδιαίτερα αξιόλογη ελληνική ποικιλία σταφυλιού. Ο κύριος στόχος της είναι να διερευνηθεί η επίδραση της διαδικασίας αφυδάτωσης μέσω λιασίματος στη χημική σύνθεση, τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, και τον πολυμερισμό των φαινολών, με έμφαση στη στυπτικότητα του τελικού οίνου.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

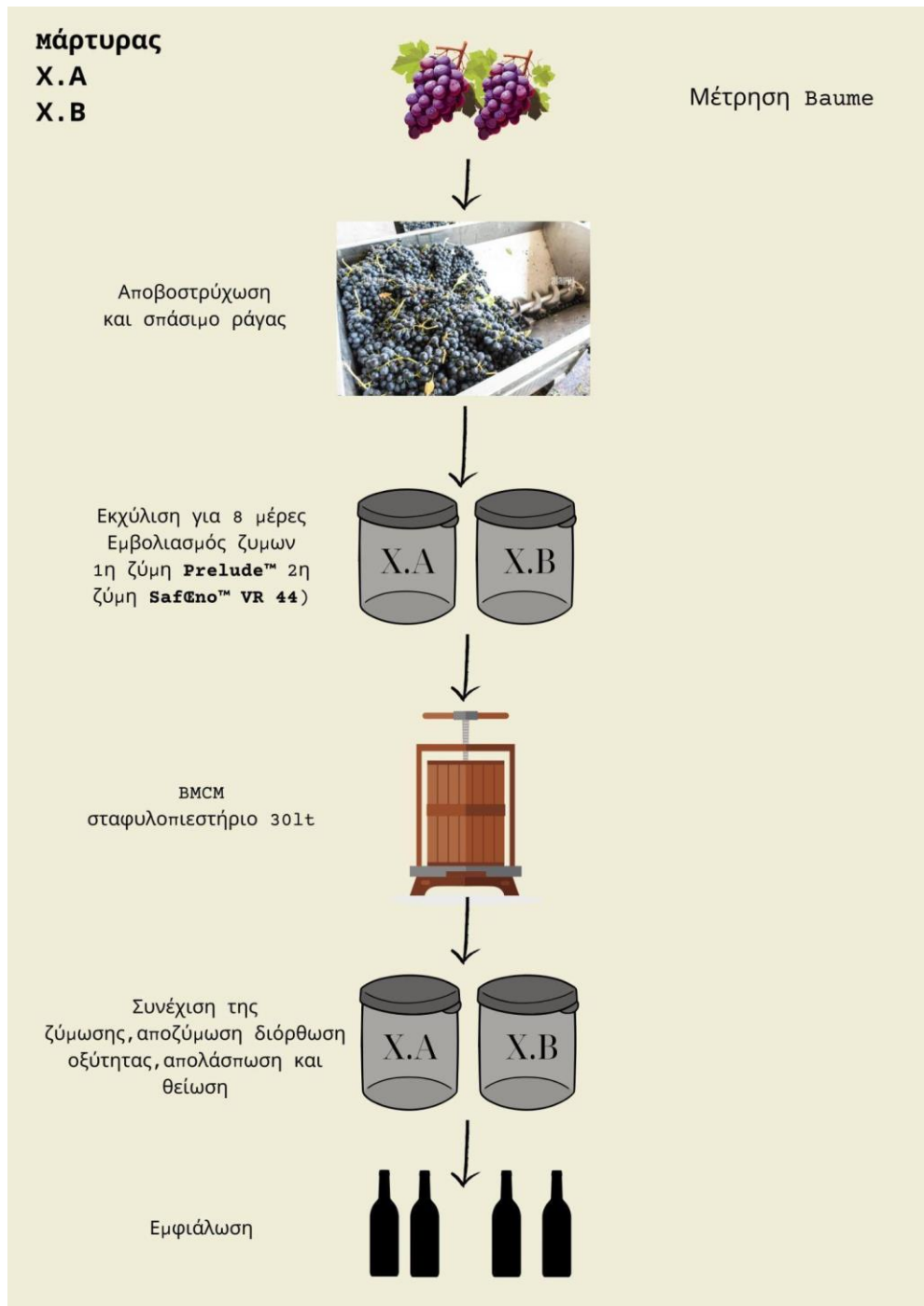
2.1. Πειραματικός σχεδιασμός-Κωδικοποίηση

Η πειραματική διαδικασία έγινε σε 3 στάδια: οινοποίηση, εμφιάλωση και αναλύσεις. Τα σταφύλια που χρησιμοποιήθηκαν προέρχονταν από το νομό Λακωνίας, και πιο συγκεκριμένα από αμπελώνα κοντά στο χωριό Βελιές του δήμου Μονεμβασιάς. Τα φυτά είναι, ηλικίας δεκαεπτά ετών, με στρεμματική απόδοση περίπου 450 kg/στρέμμα. Η οινοποίηση των σταφυλιών πραγματοποιήθηκε στο οινοποιείο της επιχείρησης Γ. Τσιμπίδης και ΣΙΑ ΕΕ, Οινοποιητική Μονεμβασιάς με έδρα στο 57ο ΧΛΜ ΕΟ Τάραψας-Μονεμβασιάς. Ακολουθήθηκε πρωτόκολλο ερυθρής οινοποίησης και εμφιάλωση στο οινοποιείο ενώ οι χημικές αναλύσεις των δειγμάτων πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

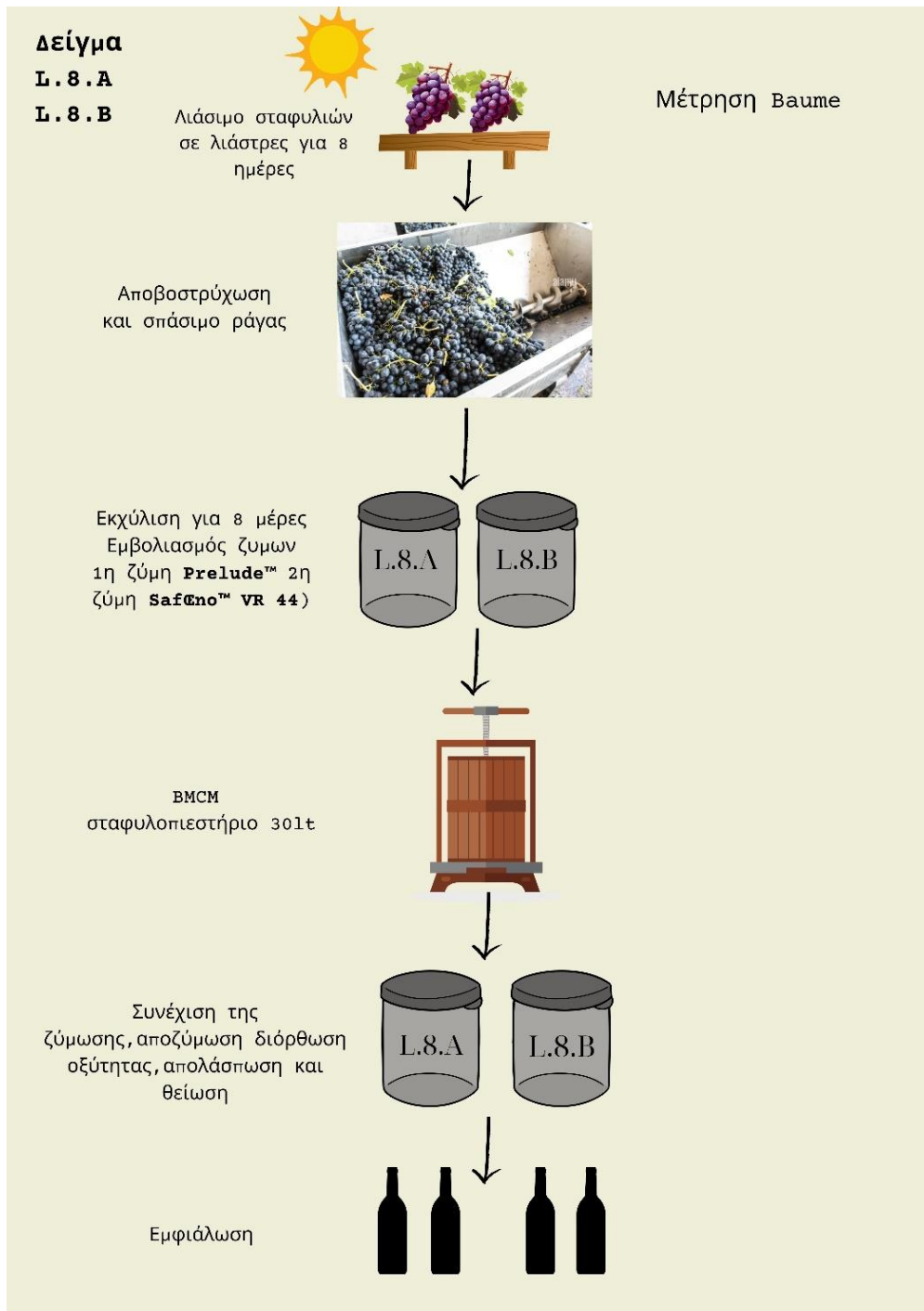
Ο τρύγος των σταφυλιών ποικιλίας Λημνιώνας πραγματοποιήθηκε από το ίδιο αμπελοτεμάχιο, την ίδια μέρα και για τις τρεις επεμβάσεις Η πρώτη δεν περιλαμβάνει καθόλου αφυδάτωση με λιάσιμο της πρώτης ύλης (**μάρτυρας X σε δύο επαναλήψεις A και B**) (βλ. **Εικόνα 2.1**) ενώ στις άλλες δύο έγινε αφυδάτωση μέσω λιασίματος (άπλωμα κάτω από τον ήλιο σε ειδικές κατασκευές-λιάστρες) για 8 ημέρες (**δείγμα L8 σε δύο επαναλήψεις A και B**) (βλ. **Εικόνα 2.2**) και 12 ημέρες αντίστοιχα (**δείγμα L12 σε δύο επαναλήψεις A και B**) (βλ. **Εικόνα 2.3**). Κατόπιν ακολούθησε και στις τρεις περιπτώσεις ερυθρή οινοποίηση με ταυτόχρονη εκχύλιση για 8 ημέρες και ζύμωση με επιλεγμένα στελέχη ζυμών (1ος εμβολιασμός με την ζύμη *Viniflora® Prelude™*, *Torulaspora delbrueckii* και ο 2ος εμβολιασμός με την ζύμη *SafCeno™ VR 44*, *Saccharomyces bayanus*). Κάθε δείγμα οίνου έχει δύο επαναλήψεις όπως και ο μάρτυρας. Μετά τον διαχωρισμό των στεμφύλων και την ολοκλήρωση της αλκοολικής και μηλογαλακτικής ζύμωσης έγινε διόρθωση οξύτητας, απολάσπωση και θείωση των νέων οίνων. Οι οίνοι τελικώς εμφιαλώθηκαν χωρίς φιλτράρισμα, υποβλήθηκαν μόνο σε μια επιπλέον διαδικασία απολάσπωσης. Αναλυτικά τα δείγματα παρουσιάζονται στον **Πίνακα 2.1**.

Πίνακας 2.1 Περιγραφή δειγμάτων

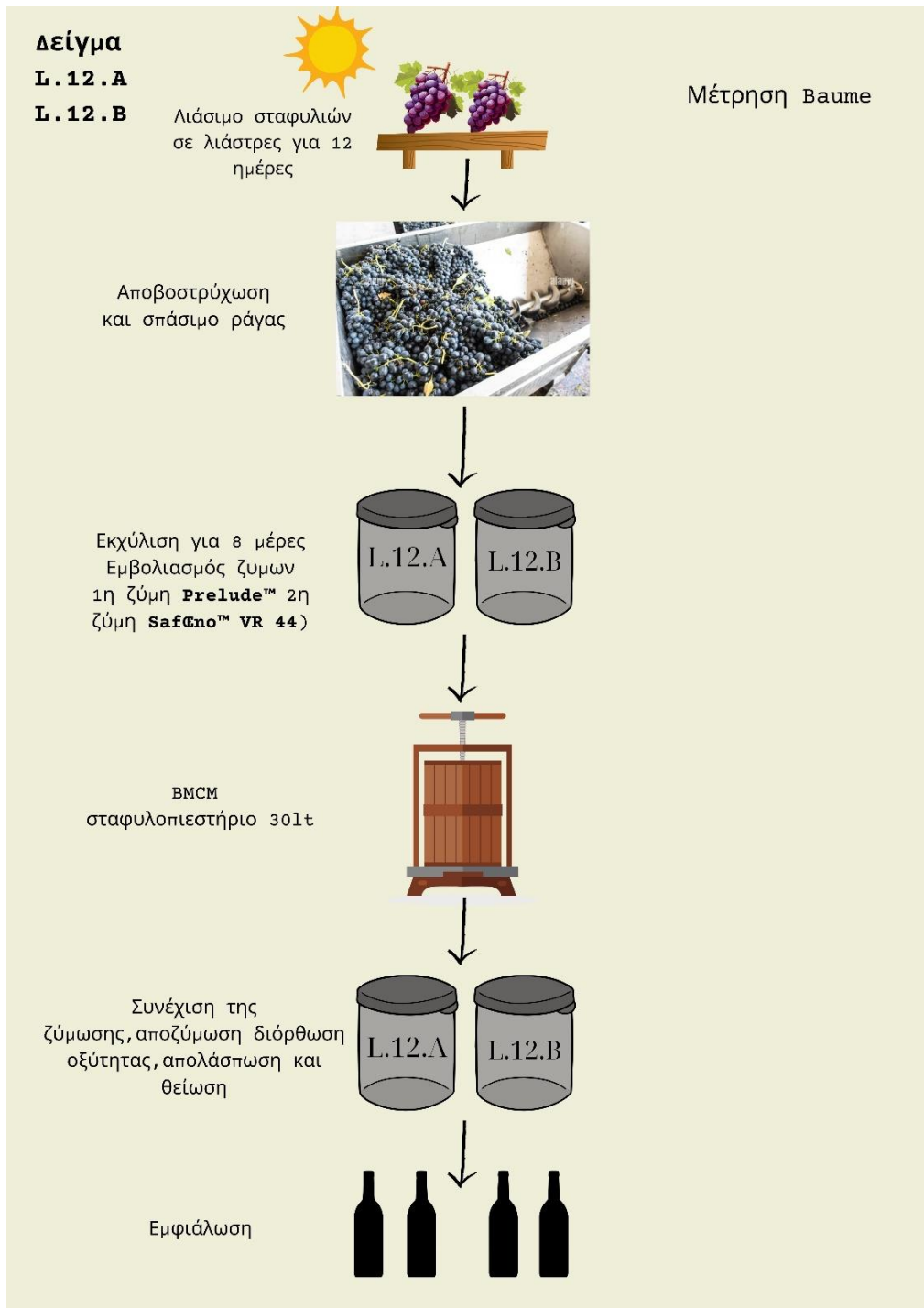
ΔΕΙΓΜΑ	Περιγραφή	Ζύμες
X.A	Μάρτυρας	1η ζύμη Prelude™ 2η ζύμη SafCeno™ VR 44)
X.B	Μάρτυρας	1η ζύμη Prelude™ 2η ζύμη SafCeno™ VR 44)
L.8.A	Δείγμα με λιάσιμο για 8 ημέρες	1η ζύμη Prelude™ 2η ζύμη SafCeno™ VR 44)
L.8.B	Δείγμα με λιάσιμο για 8 ημέρες	1η ζύμη Prelude™ 2η ζύμη SafCeno™ VR 44)
L.12.A	Δείγμα με λιάσιμο για 12 ημέρες	1η ζύμη Prelude™ 2η ζύμη SafCeno™ VR 44)
L.12.B	Δείγμα με λιάσιμο για 12 ημέρες	1η ζύμη Prelude™ 2η ζύμη SafCeno™ VR 44)



Εικόνα 2.1 Η διαδικασία οινοποίησης για τον μάρτυρα X (σε δύο επαναλήψεις A και B)



Εικόνα 2.2 Η διαδικασία οινοποίησης για το δείγμα L8 σε δύο επαναλήψεις A και B.



Εικόνα 2.3 Η διαδικασία οινοποίησης για το δείγμα L12 σε δύο επαναλήψεις A και B.



Εικόνα 2.4 Σταφύλια Λημνιώνας σε λιάστρες για το πείραμα (Πηγή: Αρχείο της Οινοποιητικής Μονεμβασιάς Τσιμπίδη 2022).

2.2. Χημικές Αναλύσεις

Οι μέθοδοι για τον προσδιορισμό των παραμέτρων που θα αναλυθούν στη συνέχεια εφαρμόστηκαν για δείγματα που ελήφθησαν από τους εμφιαλωμένους οίνους.

Συσκευές

- ❖ pHμετρο HI5221 (Hanna Instruments)
- ❖ Ενζυμικός αναλυτής Y15 Biosystems SA
- ❖ Αυτόματη τιτλοδοτική συσκευή TDI ENO20 (Technologia Difusión Ibérica, S.L., Ισπανία για μέτρηση Θειώδους.
- ❖ TIR Analyzer-Lyza 5000
- ❖ Φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV - 1900 UV VIS SPECTROPHOTOMETER
- ❖ Υγρός Χρωματογράφος-υψηλής απόδοσης HPLC waters 2695 separations module με ανιχνευτή Waters 2996 photodiode array detector

2.2.1. Κλασικές αναλύσεις οίνων

Οι κλασικές αναλύσεις έγιναν σύμφωνα με τις επίσημες ενδεικνυόμενες μεθόδους από την ευρωπαϊκή νομοθεσία ή από τις συνήθειες μεθόδους του OIV (International organization of vine and wine).

- ❖ Προσδιορισμός σακχάρων με αραιομετρία
- ❖ Προσδιορισμός ολικής οξύτητας-Μέθοδος Ανάλυσης: OIV-MA-AS313-01
- ❖ Προσδιορισμός πτητικής οξύτητας-Μέθοδος Ανάλυσης: FTIR OIV-MA-AS313-02
- ❖ Προσδιορισμός αλκοολικού τίτλου-Μέθοδος Ανάλυσης: OIV-MA-AS312-01B
- ❖ pH-Ενεργός Οξύτητα-Μέθοδος Ανάλυσης: OIV-MA-AS313-15
- ❖ Ανάγοντα Σάκχαρα-Μέθοδος Ανάλυσης: OIV-MA-AS311-01A / FTIR
- ❖ Μηλικό Οξύ-Μέθοδος Ανάλυσης: OIV-MA-AS313-11 / FTIR
- ❖ Ελεύθερο SO₂-Ελεύθερο Θειώδες-Μέθοδος Ανάλυσης: OIV-MA-AS323-04B / Sulfilyser
- ❖ Ολικό SO₂-Ολικό Θειώδες-Μέθοδος Ανάλυσης: OIV-MA-AS323-04B / Sulfilyser
- ❖ Molecular SO₂-Μοριακό Θειώδες-Μέθοδος Ανάλυσης: Υπολογιστικός

2.2.1.1 Ενεργή Οξύτητα – pH

Το pH αναφέρεται στο σύνολο των ελεύθερων ιόντων υδρογόνου (H⁺) που προέρχονται από τα οξέα. Η μέτρηση του pH του γλεύκους ή του οίνου πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του οργάνου HI5221 της εταιρείας Hanna Instruments στο εργαστήριο Οινολογίας. Για τη διαδικασία μέτρησης, μια επαρκής ποσότητα δείγματος μεταφέρθηκε σε ένα ποτήρι ζέσεως μαζί με έναν μαγνήτη και τοποθετήθηκε σε μαγνητικό αναδευτήρα, διατηρώντας θερμοκρασία 20-25°C.. (Κοτσερίδης, 2015).

2.2.1.2 Προσδιορισμός σακχάρων με αραιομετρία

Για τον προσδιορισμό των σακχάρων μετά την έκθλιψη των σταφυλιών, χρησιμοποιήθηκε ένα αραιόμετρο Baume που είναι βαθμονομημένο στους 20°C. Κάθε 1 βαθμός Baume αντιστοιχεί σε 1,8 γραμμάρια σακχάρων ανά 100 γραμμάρια γλεύκους. Για την εκτέλεση της μεθόδου, χρειάστηκε ένας ογκομετρικός κύλινδρος χωρητικότητας 250 ml, ένα θερμόμετρο και πίνακες διόρθωσης των βαθμών Baume ανάλογα με τη θερμοκρασία. (Κοτσερίδης, 2015).

2.2.1.3 Προσδιορισμός ολικής οξύτητας

Η ολική ή ογκομετρούμενη οξύτητα αναφέρεται στο σύνολο των ελεύθερων καρβοξυλομάδων που βρίσκονται στο γλέυκος και στον οίνο, είτε σε μοριακή μορφή είτε ως ανιόντα. Η τιμή της οξύτητας επηρεάζεται κυρίως από την ποσότητα των ελεύθερων οργανικών οξέων που περιέχονται, ενώ το είδος αυτών των οξέων δεν παίζει σημαντικό ρόλο. Η ολική οξύτητα, είτε εκφρασμένη ως ογκομετρούμενη είτε ως συνολική, επιδρά στο χρώμα των οίνων. Παράλληλα, σε συνδυασμό με το pH, συμβάλλει στη διατήρηση της ζωντάνιας του χρώματος και στη διασφάλιση της πρωτεϊνικής και μικροβιολογικής σταθερότητας (Σουφλερός, 2015). Για την ανάλυση της ογκομετρούμενης οξύτητας χρησιμοποιήθηκε αντλία κενού, ώστε να απομακρυνθεί το διοξείδιο του άνθρακα, το οποίο θα μπορούσε να επηρεάσει τα αποτελέσματα της μέτρησης. Στη συνέχεια, 10 ml δείγματος τοποθετήθηκαν σε κωνική φιάλη, μαζί με 1 ml δείκτη κυανού της βρωμοθυμόλης, ο οποίος αλλάζει χρώμα στο pH 7, και περίπου 30 ml απεσταγμένου νερού. Ακολούθως, το διάλυμα τιτλοδοτήθηκε με πρότυπο διάλυμα NaOH 0.1 M, μέχρι να εμφανιστεί κυανοπράσινη απόχρωση. Η συνολική οξύτητα, εκφρασμένη σε γραμμάρια τρυγικού οξέος ανά λίτρο (g/L), υπολογίζεται σύμφωνα με τον εξής τύπο: $A=0.75 \times n$ όπου n είναι ο αριθμός των ml NaOH που καταναλώθηκαν (Σουφλερός, 2015).

2.2.1.4 Προσδιορισμός πτητικής οξύτητας

Σύμφωνα με την επίσημη μέθοδο της Ευρωπαϊκής Ένωσης, η πτητική οξύτητα αφορά τα πτητικά οξέα που περιέχονται στον οίνο, είτε σε ελεύθερη μορφή είτε υπό τη μορφή αλάτων. Επειδή το οξικό οξύ είναι το κυρίαρχο συστατικό, η πτητική οξύτητα εκφράζεται συνήθως σε γραμμάρια οξικού οξέος ανά λίτρο (g/L). Ο προσδιορισμός της πτητικής οξύτητας πραγματοποιήθηκε μέσω της τιτλοδότησης των πτητικών οξέων που απομονώνονται από τον οίνο με απόσταξη σε ατμοσφαιρική πίεση. Αρχικά, αφαιρέθηκε το διοξείδιο του άνθρακα από το δείγμα τοποθετώντας 50 ml οίνου σε μία φιάλη και δημιουργώντας κενό με τη χρήση αντλίας. Στη φιάλη υποδοχής προστέθηκαν 20 ml οίνου και περίπου 0.5 g τρυγικού οξέος. Η απόσταξη πραγματοποιήθηκε μέχρι τη συλλογή 250 ml αποστάγματος. Στη συνέχεια, το συλλεγόμενο απόσταγμα υποβλήθηκε σε τιτλοδότηση χρησιμοποιώντας διάλυμα NaOH 0.1M, με δείκτη φαινολοφθαλεΐνη. Για τον προσδιορισμό του ελεύθερου διοξειδίου του θείου (SO₂), στο διάλυμα προστέθηκαν τέσσερις σταγόνες αραιωμένου HCl (διάλυμα 1/4), 2 ml διαλύματος αμύλου και μερικοί κρύσταλλοι KI. Το ελεύθερο SO₂ μετρήθηκε με διάλυμα ιωδίου 0.005M. Η πτητική οξύτητα, εκφραζόμενη σε γραμμάρια οξικού οξέος ανά λίτρο με ακρίβεια δύο δεκαδικών ψηφίων, υπολογίζεται βάσει του ακόλουθου τύπου: $AA=0,300(nn-0,1nn')$, όπου n ο αριθμός των καταναλωθέντων mL διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου και n' ο αριθμός των καταναλωθέντων ml διαλύματος ιωδίου (Κοτσερίδης, 2015).

2.2.1.5 Προσδιορισμός αλκοολικού τίτλου με απόσταξη και αλκοολόμετρο

Ο αλκοολικός τίτλος (% v/v) αναφέρεται στο ποσοστό της άνυδρης αιθανόλης που περιέχεται σε 100 λίτρα οινικού προϊόντος, μετρημένο σε θερμοκρασία 20°C. Αυτή η μέτρηση εκφράζεται ως ποσοστό κατ' όγκο (% vol.) σύμφωνα με τις προδιαγραφές του Διεθνούς Οργανισμού Αμπέλου και Οίνου (OIV). Ο προσδιορισμός του αλκοολικού τίτλου περιλαμβάνει δύο κύρια στάδια: την απόσταξη και την αραιομετρία. Κατά τη διαδικασία απόσταξης, 200 mL οίνου τοποθετούνται σε σφαιρική φιάλη που συνδέεται με αποστακτική συσκευή. Η θερμοκρασία του οίνου καταγράφεται, και προστίθενται 10 mL CaOH, ενώ για την αποφυγή έντονου βρασμού εισάγονται πορώδη υλικά. Το απόσταγμα συλλέγεται και, εάν χρειαστεί, συμπληρώνεται με απεσταγμένο νερό για να φτάσει στον απαιτούμενο όγκο. Στο στάδιο της αραιομετρίας, το απόσταγμα μεταφέρεται σε ογκομετρικό κύλινδρο, όπου τοποθετούνται ένα αλκοολόμετρο και ένα θερμόμετρο που πληρούν τις σχετικές νομοθετικές απαιτήσεις και καλύπτουν το εύρος μέτρησης. Μετά την εξισορρόπηση του αλκοολόμετρου, καταγράφεται η ένδειξή του (φαινομενικός αλκοολικός τίτλος) μαζί με τη θερμοκρασία του διαλύματος. Η τελική τιμή διορθώνεται βάσει της καταγεγραμμένης θερμοκρασίας με τη χρήση κατάλληλων πινάκων. (Κοτσερίδης, 2015).

2.2.1.6 Μέτρηση ελεύθερου και ολικού θειώδους ανυδρίτη

Για τον προσδιορισμό του ελεύθερου θειώδους ανυδρίτη, χρησιμοποιήθηκε η αυτόματη τιτλοδοτική συσκευή TDI ENO20 (Technologia Difusión Ibérica, S.L., Ισπανία). Κατά τη διαδικασία, μετρήθηκε το οξειδοαναγωγικό δυναμικό κατά τη διάρκεια της αντίδρασης του θειώδους ανυδρίτη με πρότυπο διάλυμα ιωδίου σε όξινο περιβάλλον. Η συγκέντρωση δίνεται απευθείας σε mg/L. Με χρήση γυάλινου σιφώνιου, μεταφέρθηκαν με ακρίβεια 20 ml δείγματος στο κατάλληλο ποτήρι ζέσεως της συσκευής. Προστέθηκαν 2 ml H₂SO₄ 1/3, και το μείγμα τιτλοδοτήθηκε με ιώδιο μέχρι τον χαρακτηριστικό ήχο που υποδεικνύει το τέλος της αντίδρασης. Για τον προσδιορισμό του ολικού θειώδους ανυδρίτη, η διαδικασία ήταν παρόμοια, με την προσθήκη 2 ml NaOH 5N πριν από τη δημιουργία όξινου περιβάλλοντος. Μετά από ήπια ανάδευση και παραμονή για 10 λεπτά, προστέθηκαν 4 ml H₂SO₄ 1/3, και ακολούθησε τιτλοδότηση στη συσκευή TDI ENO20. Η συγκέντρωση του ολικού θειώδους ανυδρίτη δίνεται σε mg SO₂/L (Κοτσερίδης, 2015).

2.2.1.7 Μοριακό διοξείδιο του θείου

Η ποσότητα του SO₂ σε μοριακή μορφή εξαρτάται από τη συγκέντρωση του ελευθέρου SO₂ και το pH του περιβάλλοντος. Σε χαμηλά επίπεδα pH, αυξάνεται η διαθεσιμότητα του θειώδους ανυδρίτη σε μοριακή μορφή, καθιστώντας τον πιο αποτελεσματικό. Οι ερυθροί οίνοι, , είναι γενικά πιο σταθεροί μικροβιολογικά σε σύγκριση με τους λευκούς και, συνήθως απαιτούνται χαμηλότερες συγκεντρώσεις "ελευθέρου" SO₂. Ωστόσο, στην πραγματικότητα, η συμπεριφορά του SO₂ εξαρτάται από παράγοντες όπως το pH, η θερμοκρασία και η παρουσία άλλων χημικών ενώσεων στον οίνο $\text{Molecular SO}_2 = \text{FSO}_2 / (1 + 10(\text{pH} - 1.81))$ (Margalit et al., 1997).

2.2.1.8 Ανάγοντα Σάκχαρα-Μέθοδος Lüff

Η ανάλυση των αναγόντων σακχάρων αποτελεί μία από τις βασικές μεθόδους για τον χαρακτηρισμό του οίνου, καθώς παρέχει σαφή ένδειξη για τον τύπο του (π.χ. ξηρός, ημίξηρος κ.λπ.). Η συγκέντρωση των αναγόντων σακχάρων εκφράζεται σε γραμμάρια ανά λίτρο (g/L). Σύμφωνα με τη νομοθεσία, ένας οίνος θεωρείται ξηρός όταν η περιεκτικότητα σε ανάγοντα σάκχαρα είναι μικρότερη από 4 g/L. Ωστόσο, για λόγους ασφαλείας, ιδίως στους λευκούς και ροζέ οίνους, συνιστάται η συγκέντρωση να διατηρείται κάτω από 2,5 g/L. Η μέθοδος **Luff** βασίζεται στη χημική αντίδραση των αναγόντων σακχάρων με ένα αλκαλικό διάλυμα θεικού χαλκού. Η διαδικασία περιλαμβάνει τα εξής στάδια: Μια γνωστή ποσότητα διαλύματος σακχάρων αντιδρά με συγκεκριμένη ποσότητα αλκαλικού διαλύματος Cu²⁺. Τα υπόλοιπα ιόντα Cu²⁺, που δεν έχουν αντιδράσει με τα σάκχαρα, προσδιορίζονται ιωδιομετρικά. Προστίθεται ιωδιούχο κάλιο (KI), το οποίο, σε όξινο περιβάλλον, μετατρέπει τα Cu²⁺ σε Cu⁺, παράγοντας μοριακό ιώδιο (I₂) σύμφωνα με την εξίσωση: $2\text{I}^- + 2\text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{I}_2 + 2\text{Cu}^+$. Το παραγόμενο I₂ προσδιορίζεται με τιτλοδότηση διαλύματος θειοθειικού νατρίου (Na₂S₂O₃), σύμφωνα με την εξίσωση: $\text{I}_2 + 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow 2\text{I}^- + \text{S}_4\text{O}_6^{2-}$. Για την ευκρινή ανίχνευση του τέλους της αντίδρασης, χρησιμοποιείται άμυλο ως δείκτης. Το άμυλο σχηματίζει ένα σύμπλοκο κυανού χρώματος με το I₂, το οποίο αποχρωματίζεται όταν ολοκληρωθεί η αντίδραση. Για καλύτερη παρατήρηση της αλλαγής χρώματος, ο δείκτης προστίθεται όταν έχει ήδη αναχθεί το μεγαλύτερο ποσοστό του I₂. (Κοτσερίδης, 2015).

2.2.1.9 Μηλικό Οξύ (L-Μηλικό)

Το μηλικό οξύ, μαζί με το τρυγικό, αποτελεί ένα από τα βασικά οξέα που συναντώνται στο γλεύκος και στον οίνο, με συγκεντρώσεις στους ελληνικούς οίνους να κυμαίνονται από 0,5 έως 3 g/L. Το L-μηλικό οξύ συμβάλλει σημαντικά στη φρεσκάδα του αρώματος και της γεύσης του οίνου, ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις προσδίδει τη χαρακτηριστική οξύτητα του άγουρου μήλου. Η αποικοδόμησή του παρακολουθείται συστηματικά, καθώς αποτελεί βασικό δείκτη για την πρόοδο της μηλογαλακτικής ζύμωσης στους ερυθρούς οίνους.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός του L-μηλικού οξέος βασίζεται στην ανίχνευση του NADH, το οποίο απορροφά έντονα στα 340 nm. Η μέτρηση πραγματοποιείται φασματοφωτομετρικά, καθώς η συγκέντρωση του παραγόμενου NADH είναι ευθέως ανάλογη με την ποσότητα του μηλικού οξέος, σύμφωνα με τη στοιχειομετρία της αντίδρασης. Η συγκέντρωση του μηλικού οξέος υπολογίζεται βάσει του τύπου: $C = \frac{V \times MW}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A [g/L]$, όπου ο τελικός όγκος είναι **V**, ο όγκος δείγματος είναι **v**, το μοριακό βάρος του μηλικού οξέος είναι **MW**, ο συντελεστής απορρόφησης του NADH στα 340 nm είναι **NADH**, 340nm ($\epsilon = 6.3 \text{ mmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) το πάχος κυψελίδας είναι **d**, η διαφορά απορρόφησης δείγματος και τυφλού είναι **ΔA** - διαφορά απορρόφησης δείγματος – τυφλού, ενώ ο συντελεστής αραίωσης είναι **F**.

Η διαδικασία ξεκινά με τη μέτρηση του τυφλού, όπου 1,00 ml από το ρυθμιστικό διάλυμα (pH 10,0) αναμειγνύονται με 0,20 ml συνεχζύμου NAD, 1,00 ml απεσταγμένου νερού και 0,01 ml

εναιωρήματος τρανσαμινάσης γλουταμινικού-οξαλοξικού. Μετά από ανάδευση και αναμονή 3 λεπτών, μετράται η απορρόφηση στα 340 nm (A1τ). Στη συνέχεια, προστίθενται 0,01 ml διαλύματος μηλικής αφυδρογονάσης και μετά από 10 λεπτά καταγράφεται ξανά η απορρόφηση (A2τ).

Στο δείγμα, 1,00 ml από το ρυθμιστικό διάλυμα αναμειγνύονται με 0,20 ml συνεχζύμου NAD, 0,90 ml απεσταγμένου νερού, 0,10 ml δείγματος και 0,01 ml εναιωρήματος τρανσαμινάσης. Μετά από 3 λεπτά, μετράται η απορρόφηση (A1δ). Στη συνέχεια, προστίθενται 0,01 ml διαλύματος μηλικής αφυδρογονάσης, και η απορρόφηση καταγράφεται μετά από 10 λεπτά (A2δ). Η διαφορά στις απορροφήσεις μεταξύ δείγματος και τυφλού υπολογίζεται ως:

Υπολογισμοί: Αντικαθιστώντας στον τύπο (1) για το μηλικό βρίσκουμε

$$C = \frac{2,977}{\varepsilon} \times \Delta A[G/L] \text{ και } \Delta A = \Delta A \text{ δείγματος} - \Delta A \text{ τυφλού, } \Delta A\delta - \Delta A\tau = (A2\delta - A1\delta) - (A2\tau - A1\tau)$$

Η μέθοδος μπορεί να ανιχνεύσει συγκεντρώσεις μηλικού οξέος από 0,02 έως 0,3 g/L. Εάν η συγκέντρωση υπερβαίνει αυτό το εύρος, απαιτείται αραιώση του δείγματος. Σε τέτοιες περιπτώσεις, η τελική συγκέντρωση υπολογίζεται πολλαπλασιάζοντας την ανιχνευθείσα ποσότητα με τον συντελεστή αραιώσης, ώστε να ληφθεί η πραγματική περιεκτικότητα του μηλικού οξέος στο δείγμα. (Mollering et al., 1985), (Boehringer Mannheim et al., 1987), (Lubert Stryer et al., 1997).

2.2.2. Μέθοδοι ανάλυσης χρώματος και φαινολικών συστατικών

- Ένταση
- Προσδιορισμός Ολικών Φαινολικών- Μέθοδος Folin-Ciocalteu
- Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ)
- Προσδιορισμός ταννινών – Methyl Cellulose Precipitable (MCP)
- Προσδιορισμός ταννινών με την μέθοδο BSA (δέσμευση από πρωτεΐνες – δείκτης στυπτικότητας)
- Προσδιορισμός ανθοκυανών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)
- Προσδιορισμός ολιγομερών φαινολικών ενώσεων με HPLC

2.2.2.1 Ένταση χρώματος και Απόχρωση

Το χρώμα των οίνων καθορίζεται από την εκλεκτική απορρόφηση συγκεκριμένων μηκών κύματος του ηλιακού φάσματος, η οποία οφείλεται στις φαινολικές ενώσεις. Στους ερυθρούς οίνους, το σημείο μέγιστης απορρόφησης εμφανίζεται στα 520 nm (ερυθρό). Με την πάροδο του χρόνου, παρατηρείται μείωση της απορρόφησης στα 520 nm και ταυτόχρονη αύξηση στα 420 nm (κίτρινο). Στους νέους οίνους, καταγράφεται επίσης η απορρόφηση στα 620 nm (κυανό), η οποία αποδίδεται στις μορφές της βάσης κινόνης των ελεύθερων και δεσμευμένων ανθοκυανινών. Η μέτρηση των χρωματικών χαρακτηριστικών των οίνων πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο που προτείνει ο OIV (2009), χρησιμοποιώντας φασματοφωτόμετρο UV-1900 UV-Vis Shimadzu. Οι απορροφήσεις καταγράφηκαν στα τρία μήκη κύματος (420, 520 και 620 nm), χρησιμοποιώντας κυψελίδες 10 mm, ενώ το φασματοφωτόμετρο μηδενίστηκε με απιονισμένο νερό. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με συντελεστή αραιώσης 10. Η ένταση του χρώματος εκφράζεται ως το άθροισμα των απορροφήσεων στα 420, 520 και 620 nm (OIV (2009)).

$$E = A_{420} + A_{520} + A_{620}, \text{ ενώ η απόχρωση των οίνων λαμβάνεται από τον λόγο της } A_{420} \text{ και } A_{520} \text{ (Glories, 1984): } A = A_{420}/A_{520}$$

2.2.2.2 Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ)

Ο Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ) χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της περιεκτικότητας σε φλαβονοειδείς φαινόλες, φαινολικά οξέα και ορισμένες μη φαινολικές ουσίες που απορροφούν στα 280 nm. Ο ΔΦΟ έχει κυριαρχήσει στον τομέα της οινολογίας λόγω της ευκολίας και της ταχύτητας της μεθόδου σε σύγκριση με τον Δείκτη Folin-Ciocalteu. Για τη μέτρηση του ΔΦΟ, χρησιμοποιήθηκε ένα φασματοφωτόμετρο με δυνατότητα μέτρησης στο υπεριώδες (UV), χρησιμοποιώντας κυψελίδες χαλαζίας και λαμβάνοντας απορρόφηση στα 280 nm. Τα δείγματα αραιώθηκαν 1/100. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων υπολογίζονται με βάση την ακόλουθη σχέση: $\Delta\Phi\text{O} = \text{OD}_{280} \times 100$ όπου OD_{280} είναι η ένδειξη του οργάνου.

2.2.2.3 Προσδιορισμός Ολικών Φαινολικών- Μέθοδος Folin-Ciocalteu

Για τον προσδιορισμό του συνολικού φαινολικού περιεχομένου των οίνων στη συγκεκριμένη μελέτη, χρησιμοποιήθηκε η επίσημη μέθοδος του ΟΙV, γνωστή ως μέθοδος Folin-Ciocalteu (Τροποποιημένη ΟΙV-MA-AS2-10). Η μέθοδος αυτή αποτελεί μια φωτομετρική τεχνική, η οποία βασίζεται στην οξείδωση των φαινολικών ενώσεων του οίνου από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Στόχος της είναι η μέτρηση του συνολικού φαινολικού περιεχομένου, χωρίς διάκριση μεταξύ μονομερών, διμερών ή πολυμερών φαινολικών συστατικών. Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu περιέχει σύνθετα πολυμερή ιόντα που προέρχονται από φωσφο-μολυβδαινικά ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) και φωσφο-βολφραμικά ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) ετεροπολυμερή οξέα. Κατά τη διάρκεια της αντίδρασης, οι φαινόλες οξειδώνονται και το αντιδραστήριο αναγωγικά μετατρέπεται σε κυανά οξειδία βολφραμίου (W_8O_{23}) και μολυβδαινίου (Mo_8O_{23}). Το παραγόμενο κυανό χρώμα εμφανίζει μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 750 nm και η έντασή του είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων (ΟΙV). Για την εκτέλεση της μεθόδου, σε ογκομετρική φιάλη 20 mL τοποθετήθηκαν 0,2 mL οίνου, 10 mL απεσταγμένου νερού, 1 mL αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu και 4 mL διαλύματος ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3), το οποίο ρυθμίζει την αλκαλικότητα του διαλύματος. Το μίγμα συμπληρώθηκε με απεσταγμένο νερό έως τα 20 mL. Η απορρόφηση μετρήθηκε στα 750 nm, 30 λεπτά μετά την προσθήκη του τελευταίου αντιδραστηρίου, ώστε να έχει ολοκληρωθεί η ανάπτυξη και σταθεροποίηση του χρώματος. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε για τον μάρτυρα, αντικαθιστώντας τον οίνο με νερό. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (Gallic Acid Equivalents, GAE). Για την ποσοτικοποίηση των φαινολικών συστατικών, παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα γαλλικού οξέος, τα οποία υποβλήθηκαν στην ίδια διαδικασία. Με βάση τη συσχέτιση των συγκεντρώσεων των πρότυπων διαλυμάτων με τις αντίστοιχες απορροφήσεις, κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη. Από την εξίσωση της καμπύλης, υπολογίστηκε η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών στα δείγματα, η οποία εκφράστηκε σε mg γαλλικού οξέος ανά λίτρο (mg GAE/L).

Αντιδραστήρια

1. Folin
2. Διάλυμα Na_2CO_3 20% (20 g άνυδρο Na_2CO_3 διαλύεται σε 70 περίπου mL H_2O και συμπληρώνεται ο όγκος στα 100 mL)
3. Πρότυπο διάλυμα γαλλικού οξέος 1g/L (100 mg γαλλικού οξέος διαλύονται σε 10 mL αιθανόλης σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL και συμπληρώνεται ο όγκος με H_2O)

Διαδικασία

Σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες (εις διπλούν) μεταφέρονται κατά σειρά:

Απιονισμένο νερό 2 mL

Δείγμα	50 μL
Folin	250 μL
Na_2CO_3 20%	750 μL
Απιονισμένο νερό	1950 μL

Μετά από κάθε προσθήκη γίνεται ανάδευση στο vortex. Στο τέλος, οι σωλήνες παραμένουν για 30 min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, σε ηρεμία, για την ανάπτυξη του χρωμοφόρου. Κατόπιν μετριέται η απορρόφηση στα 765 nm. Για τον μάρτυρα της μεθόδου, στην αντίδραση, αντί για δείγμα χρησιμοποιείται H_2O (ο μάρτυρας παρασκευάζεται εις διπλούν σε κάθε πείραμα).

Καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος

Σε endpoint των 2 mL παρασκευάζονται οι παρακάτω συγκεντρώσεις (**Πίνακας 2.2**):

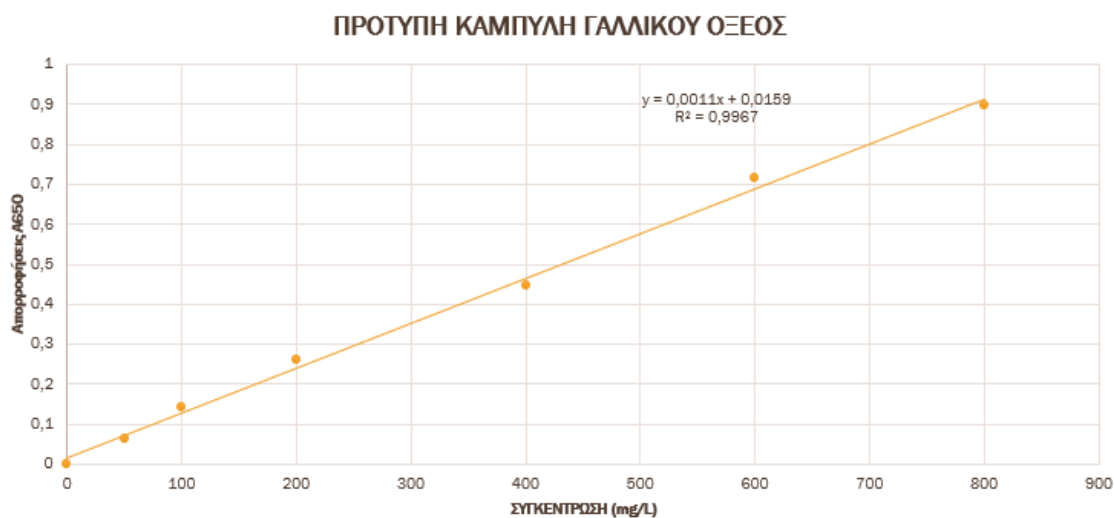
Πίνακας 2.2 Συγκεντρώσεις για καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος

[Γαλλικό οξύ] (mg/L)	Πρότυπο διάλυμα γαλλικού οξέος 1 g/L (μL)	H_2O (μL)
50	100	1900
100	200	1800
200	400	1600
400	800	1200
600	1200	800
800	1600	400

Ακολουθεί ο προσδιορισμός των φαινολικών όπως παραπάνω.

Υπολογισμός

Αντιστοιχίζοντας τις συγκεντρώσεις των πρότυπων διαλυμάτων με τις απορροφήσεις κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη. Από την ευθεία της μορφής $y=ax+\beta$ που την περιγράφει υπολογίζεται η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών του δείγματος σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE) λαμβάνοντας υπόψη και την αραίωση που τυχόν προηγήθηκε. (βλ **Διάγραμμα 2.1**)



Διάγραμμα 2.1 Πρότυπη καμπύλη Γαλλικού οξέος

2.2.2.4 Προσδιορισμός ταννινών – Methyl Cellulose Precipitable (MCP)

Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της συνολικής συγκέντρωσης των ταννινών στον οίνο. Βασίζεται στην αντίδραση της μεθυλκυτταρίνης, ενός πολυσακχαρίτη, με τις ταννίνες του οίνου, η οποία οδηγεί στον σχηματισμό αδιάλυτων πολυμερών συμπλόκων ταννινών. Η αξιολόγηση πραγματοποιείται μέσω της σύγκρισης των τιμών απορρόφησης στα 280 nm (A_{280}) των διαλυμάτων πριν και μετά την καθίζηση των συμπλοκοποιημένων ταννινών, χρησιμοποιώντας φασματοφωτόμετρο. Η μεθυλκυτταρίνη, καθώς δεν απορροφά στα 280 nm, δεν επηρεάζει τις μετρήσεις. Για την εκτέλεση της μεθόδου, απαιτείται η χρήση δύο διαλυμάτων: ενός μάρτυρα (blanc) και ενός δείγματος με προσθήκη μεθυλκυτταρίνης. Ο μάρτυρας είναι διάλυμα οίνου χωρίς την προσθήκη του αντιδραστήριου, ενώ στο δείγμα προστίθεται μεθυλκυτταρίνη. Η απορρόφηση του μάρτυρα στα 280 nm ($A_{280,bl}$) αντιστοιχεί στη συγκέντρωση όλων των φαινολικών συστατικών του οίνου. Αντίστοιχα, η απορρόφηση του δείγματος με προσθήκη μεθυλκυτταρίνης ($A_{280,s}$) αντανακλά τα φαινολικά συστατικά που παραμένουν σε διάλυση μετά την κατακρήμνιση των συμπλόκων ταννινών.

Αντιδραστήρια: Κορεσμένο διάλυμα θειικού αμμωνίου (ammonium sulfate): Σε φιάλη αντιδραστήριων με βιδωτό πώμα (durán) των 500 mL μεταφέρονται 300 mL νερού (H_2O). Υπό συνεχή ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα, προστίθενται κρύσταλλοι θειικού αμμωνίου μέχρι το σημείο κορεσμού. Η προσθήκη συνεχίζεται μέχρι να σχηματιστεί στον πυθμένα μια στιβάδα στερεού θειικού αμμωνίου ύψους περίπου 1,5 cm. Εάν οι κρύσταλλοι λιγοστεύουν, προστίθενται επιπλέον. Το διάλυμα διατηρείται για περίπου 6 μήνες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Διάλυμα 0,04% μεθυλ-κυτταρίνης (methyl cellulose): Για την παρασκευή 200 mL διαλύματος, θερμαίνονται περίπου 60 mL απιονισμένου νερού (H_2O) στους 80°C και ψύχονται περίπου 140 mL απιονισμένου νερού στους 0-5°C. Σε ποτήρι ζέσεως προστίθενται τα 60 mL ζεστού νερού και, υπό έντονη ανάδευση, 0,08 g μεθυλ-κυτταρίνης, μέχρι να διαλυθεί πλήρως. Αν το πολυμερές κολλήσει στα τοιχώματα, χρησιμοποιείται ζεστό νερό με μικρό πουάρ για τη διάλυση των συσσωματωμάτων. Στη συνέχεια, προστίθεται σταδιακά το κρύο νερό, ενώ το ποτήρι μεταφέρεται σε παγόλουτρο για 20-40 λεπτά με συνεχή ανάδευση. Στο τέλος, το ποτήρι αφαιρείται από το παγόλουτρο και το διάλυμα αφήνεται να αναδεύεται μέχρι να γίνει τελείως διαυγές. Ο όγκος συμπληρώνεται σε ογκομετρική φιάλη 200 mL με απιονισμένο νερό. Το διάλυμα παραμένει σταθερό για 2 εβδομάδες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Αν θολώσει, απορρίπτεται.

Πρότυπο διάλυμα κατεχίνης 1 g/L: Για την παρασκευή 100 mL διαλύματος, σε ποτήρι ζέσεως μεταφέρονται 10 mL αιθανόλης, μικρή ποσότητα νερού (H_2O) και 100 mg κατεχίνης. Το μείγμα αναδεύεται μέχρι να διαλυθεί πλήρως, και ο όγκος συμπληρώνεται σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL με νερό (H_2O).

Διαδικασία μέτρησης

Η μέθοδος εκτελείται εξ ολοκλήρου σε erpendorf των 2 mL. Για κάθε δείγμα οίνου ετοιμάζονται δύο erpendorf, ένα για τον μάρτυρα και ένα για το δείγμα:

Μάρτυρας:

Σε 50 μ L οίνου (με προηγούμενη αραιώση, αν απαιτείται) προστίθενται 400 μ L κορεσμένου θειικού αμμωνίου και 1550 μ L απιονισμένου νερού. Το μείγμα αναδεύεται με vortex και παραμένει σε ηρεμία, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, για 10 λεπτά. Ακολουθεί φυγοκέντρηση για 5 λεπτά στις 10000 rpm. Το υπερκείμενο μεταφέρεται σε κυψελίδα χαλαζία και μετράται η απορρόφηση στα 280 nm (A_{280-bl}).

Δείγμα:

Σε 50 μL οίνου (με προηγούμενη αραίωση, αν απαιτείται) προστίθενται 600 μL διαλύματος μεθυλ-κυτταρίνης. Το μείγμα αναδεύεται ήπια με αναστροφή αρκετές φορές και αφήνεται σε ηρεμία για 2-3 λεπτά. Στη συνέχεια, προστίθενται 400 μL κορεσμένου θεικού αμμωνίου και 950 μL απιονισμένου νερού. Το μείγμα αναδεύεται με vortex. Μετά την παρασκευή του διαλύματος, αφήνουμε το διάλυμα σε ηρεμία για 10 λεπτά, διατηρώντας τη θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στη συνέχεια, εκτελούμε φυγοκέντρηση για 5 λεπτά στις 10000 στροφές ανά λεπτό (rpm). Το υπερκείμενο μεταφέρεται σε κυψελίδα χαλαζία, και προβαίνουμε στη μέτρηση της απορρόφησης στα 280 nm (A280-s). Για τον μηδενισμό του φωτόμετρου, χρησιμοποιείται νερό (H_2O).

Καμπύλη αναφοράς

Για την καμπύλη αναφοράς παρασκευάζονται οι παρακάτω συγκεντρώσεις κατεχίνης, από 10 έως 100 mg/L, σε τελικό όγκο 2 mL. (Πίνακας 2.3)

Πίνακας 2.3 Συγκεντρώσεις για καμπύλη αναφοράς κατεχίνης

[Κατεχίνη] (mg/L)	Πρότυπο διάλυμα κατεχίνης 1 g/L (μL)	H_2O (μL)
10	20	1980
25	50	1950
50	100	1900
75	150	1850
100	200	1800



Διάγραμμα 2.2 Πρότυπη καμπύλη κατεχίνης με την μέθοδο ταννινών MCP

Για τον υπολογισμό των απορροφήσεων στα 280 nm, καταγράφουμε απευθείας τις μετρήσεις για τις συγκεντρώσεις κατεχίνης. Στη συνέχεια, δημιουργούμε ένα σύστημα αξόνων όπου στον άξονα x αντιστοιχούμε τις συγκεντρώσεις της κατεχίνης και στον άξονα y τις αντίστοιχες τιμές απορρόφησης στα 280 nm. Η σχέση αυτή αποτυπώνεται σε γράφημα, το οποίο παράγει μια ευθεία y : οι απορροφήσεις στα 280 nm, x : οι συγκεντρώσεις της κατεχίνης, a : η κλίση της ευθείας, β : η σταθερά που αντιπροσωπεύει την τομή της ευθείας με τον άξονα y . Η ευθεία αυτή χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό των φαινολικών συστατικών στα δείγματα, βασιζόμενοι στις απορροφήσεις που προκύπτουν από τις μετρήσεις.

Η καμπύλη αναφοράς περιγράφεται μαθηματικά από την εξίσωση ευθείας της μορφής: $y=ax+\beta$. (βλ **Διάγραμμα 2.2**)

Υπολογισμοί

Από τη διαφορά $A_{280,tan} = (A_{280,bl}) - (A_{280,s})$ υπολογίζεται η απορρόφηση που οφείλεται στις τανίνες. Από την καμπύλη αναφοράς υπολογίζεται η συγκέντρωση των τανινών, σε ισοδύναμα κατεχίνης, στο διάλυμα μέτρησης (C_{ds}). Η τελική συγκέντρωση των τανινών στο δείγμα οίνου, σε (mg/L), είναι $C_{wine} = C_{ds} * 40$ **(αραίωση)** όπου 40: ο συντελεστής αραίωσης του δείγματος στο διάλυμα μέτρησης.

Σημείωση:

Η συγκέντρωση των τανινών υπολογίζεται σε mg/L εκχυλίσματος, όπως και για τον οίνο ή σε mg/g ομογενοποιημένων ραγών. Στη δεύτερη περίπτωση υπολογίζεται από τον τύπο:

$$[\text{Τανίνες}] \text{ (mg/g)} = ([\text{τανίνες}] * V_{\text{εκχ}}) / W_{\text{ραγ}}$$

όπου: [τανίνες] = η συγκέντρωσή τους σε mg/L

$V_{\text{εκχ}}$ = ο τελικός όγκος του εκχυλίσματος (L)

$W_{\text{ραγ}}$ = το βάρος του δείγματος σταφυλιών (g) (Sarneckis et al., 2006), (AWRI, www.awri.com.au.)

2.2.2.5 Προσδιορισμός ταννινών με την μέθοδο BSA (δέσμευση από πρωτεΐνες – δείκτης στυπτικότητας)

Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται για τον προσδιορισμό των ταννινών σε δείγματα οίνου ή ράγας. Βασίζεται στην αλληλεπίδραση των ταννινών με μόρια όπως η αλβουμίνη (πρωτεΐνη), η οποία οδηγεί στη δημιουργία αδιάλυτων συμπλόκων που καταβυθίζονται. Το ίζημα στη συνέχεια διαλύεται σε αλκαλικό διάλυμα, και η συγκέντρωση των ταννινών προσδιορίζεται μέσω της αντίδρασής τους με χλωριούχο σίδηρο. Ο χλωριούχος σίδηρος αντιδρά με τις πολυφαινόλες, σχηματίζοντας σύμπλοκα τύπου $Fe-(OR)_6$ (όπου το OR αντιπροσωπεύει ιονισμένα φαινολικά μόρια). Τα σύμπλοκα αυτά εμφανίζουν ιώδες χρώμα σε αλκαλικό περιβάλλον, και η συγκέντρωσή τους μετράται φασματοφωτομετρικά στα 510 nm. Η συγκέντρωση των ταννινών στα σύμπλοκα ταννίνης-πρωτεΐνης εξαρτάται από την ποσότητα της πρωτεΐνης που περιέχεται στο διάλυμα. Για την ακριβή ποσοτικοποίηση της συνολικής συγκέντρωσης ταννινών, το πρωτεϊνικό διάλυμα πρέπει να περιέχει τουλάχιστον διπλάσια ποσότητα αλβουμίνης σε σχέση με τη συγκέντρωση των ταννινών του δείγματος. Αξίζει να σημειωθεί ότι η περίσσεια πρωτεΐνης δεν επηρεάζει τα αποτελέσματα της μέτρησης.

Αντιδραστήρια

Για το **Model wine** (12% αιθανόλη, 5 g/L τρυγικό οξύ, pH 3,3 με 1N NaOH), τοποθετούνται σε ποτήρι ζέσεως περίπου 500 mL νερού (H_2O), 120 mL αιθανόλης και 5 g τρυγικού οξέος. Το μίγμα αναδεύεται μέχρι να διαλυθούν τα συστατικά, το pH διορθώνεται στο 3,3 με 1N NaOH και ο όγκος συμπληρώνεται σε ογκομετρική φιάλη 1 L με H_2O . Για το **Διάλυμα A** (200 mM οξικό οξύ, 170 mM NaCl, pH 4,9 με 1N NaOH), τοποθετούνται σε ποτήρι ζέσεως περίπου 150 mL H_2O , προστίθενται 2,4 g οξικού οξέος και 1,98 g NaCl, και αναδεύονται μέχρι να διαλυθούν. Το pH διορθώνεται στο 4,9 με 1N NaOH και ο όγκος συμπληρώνεται σε ογκομετρική φιάλη 200 mL με H_2O . Για το **Πρωτεϊνικό διάλυμα BSA 1 g/L**, τοποθετούνται σε ποτήρι ζέσεως μικρή ποσότητα από το Διάλυμα A και 100 mg BSA-fraction V. Το μίγμα αναδεύεται μέχρι να διαλυθεί, και ο όγκος συμπληρώνεται σε ογκομετρική φιάλη 100 mL με Διάλυμα A. Για το **Διάλυμα TEA-SDS** [5% v/v τριαθανολαμίνη (TEA) - 10% w/v δωδεκυλοθειικό νάτριο (SDS)], τοποθετούνται σε ποτήρι ζέσεως περίπου 80 mL H_2O , προστίθενται 5 mL TEA και 10 g SDS με ήπια ανάδευση. Το διάλυμα αφήνεται για μία ημέρα, και ο όγκος συμπληρώνεται την επόμενη σε ογκομετρική φιάλη 100 mL με H_2O . Για το **Διάλυμα $FeCl_3$** (10 mM $FeCl_3$ σε 0,01N HCl), τοποθετούνται σε ποτήρι ζέσεως μικρή ποσότητα H_2O , 0,083 mL πυκνού HCl (37%) και 270

mg ένυδρου FeCl_3 . Το μίγμα αναδεύεται μέχρι να διαλυθούν τα συστατικά, και ο όγκος συμπληρώνεται σε ογκομετρική φιάλη 100 mL με H_2O .

Προετοιμασία δείγματος

Για την ανάλυση των τανινών, το δείγμα υποβάλλεται σε αραιώση με model wine, η οποία προσαρμόζεται ανάλογα με τη συγκέντρωση των τανινών του. Το ποσοστό αραιώσης καθορίζεται πειραματικά, δηλαδή πραγματοποιούνται διάφορες αραιώσεις, και στη συνέχεια πραγματοποιούνται μετρήσεις. Συστήνεται η προτεινόμενη αραιώση να είναι 1:10 με model wine.

Διαδικασία μέτρησης

Σε ένα erppendorf προστίθενται 500 μL οίνου ή αραιωμένου δείγματος, με την αραιώση να πραγματοποιείται με model wine, και 1 mL πρωτεϊνικού διαλύματος BSA. Το μίγμα υποβάλλεται σε ήπια ανάδευση για 15 λεπτά και στη συνέχεια φυγοκεντρείται για 5 λεπτά στις 12.500 στροφές ανά λεπτό. Μετά τη φυγοκέντρωση, το υπερκείμενο απομακρύνεται προσεκτικά. Στο ίζημα προστίθενται 250 μL μη πρωτεϊνικού διαλύματος (διάλυμα Α), αποφεύγοντας τη διατάραξη του ιζήματος, και ακολουθεί δεύτερη φυγοκέντρωση υπό τις ίδιες συνθήκες (5 λεπτά στις 12.500 στροφές ανά λεπτό). Το νέο υπερκείμενο απομακρύνεται επίσης. Στο ίζημα που παραμένει, προστίθενται 875 μL διαλύματος TEA-SDS, και το μίγμα αφήνεται σε ηρεμία για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, αναδεύεται σε vortex μέχρι να διαλυθεί πλήρως το ίζημα. Μετά την ανάδευση, μετράται η απορρόφηση του διαλύματος στα 510 nm (A1) χρησιμοποιώντας κυψελίδα στένωσης. Ακολούθως, προστίθενται 125 μL διαλύματος FeCl_3 , και το διάλυμα αφήνεται να αντιδράσει για 15 λεπτά. Στη συνέχεια, η απορρόφηση στα 510 nm μετράται ξανά (A2). Για τον μηδενισμό του φασματοφωτόμετρου (μάρτυρας), χρησιμοποιείται διάλυμα TEA-SDS, ώστε να εξασφαλιστεί η ακρίβεια στις μετρήσεις.

Καμπύλη αναφοράς

Για την καμπύλη αναφοράς παρασκευάζονται οι παρακάτω συγκεντρώσεις, από 50 έως 300 mg/L κατεχίνης, και ακολουθεί η μέθοδος προσδιορισμού σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 2.4).

Πίνακας 2.4 Διαλύματα για καμπύλη αναφοράς κατεχίνης BSA.

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

Τα μίγματα που δημιουργούνται υποβάλλονται σε ανάδευση με τη χρήση vortex και παραμένουν σφραγισμένα, σε θερμοκρασία δωματίου, για 10 λεπτά. Εκτελούμε μέτρηση των απορροφήσεων στα 510 nm. Αντιστοιχίζοντας τις συγκεντρώσεις της κατεχίνης με τις απορροφήσεις τους σε ένα σύστημα αξόνων, παράγεται μια καμπύλη αναφοράς, η οποία περιγράφεται από την εξίσωση $y=ax+\beta$. (βλ Διάγραμμα 2.3)



Διάγραμμα 2.3 Πρότυπη καμπύλη κατεχίνης με την μέθοδο ταννινών BSA.

Υπολογισμοί

-Υπολογίζεται η διαφορά $A_{510} = (A2) - (A1)$.

-Από την καμπύλη αναφοράς υπολογίζεται η συγκέντρωση των ταννινών του αραιωμένου δείγματος, σε ισοδύναμα κατεχίνης, έστω C1.

-Η τελική συγκέντρωση των ταννινών στο δείγμα οίνου είναι $C=C1*(\Sigma A)$ mg/L οίνου (όπου ΣA : συντελεστής αραιώσης) (Harbertson et al., 2002, (Hangerman et al., 1978).

2.2.2. ΣΤ. Προσδιορισμός ανθοκυανών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)

Προετοιμασία δείγματος

Τα δείγματα περνάνε από φίλτρο σύριγγας με πορότητα 0,45 μm και τοποθετούνται σε φιαλίδια του αυτόματου δειγματολήπτη για HPLC.

- Στήλη: SVEA C18 (5 μm , 4.6x250mm) (Nanologica)

- Διαλύτες: (A) 10 % μυρμηγκικό οξύ σε H_2O (B) Μεθανόλη

- Gradient:

Πίνακας 2.5 Χρόνοι εκλουσης δειγμάτων

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

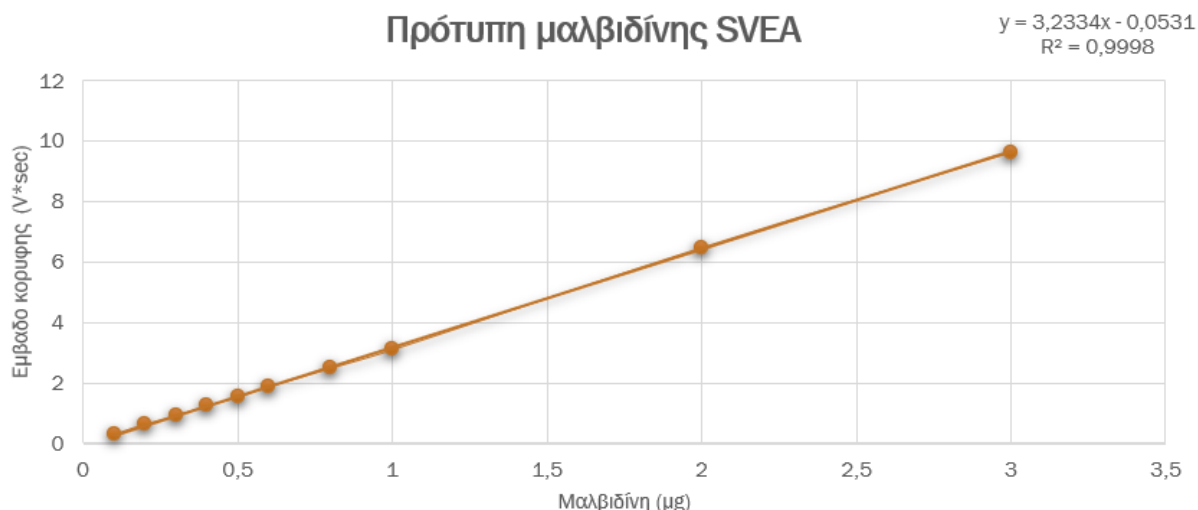
Ροή 1 mL/min, Ανίχνευση:520 nm, Όγκος έγχυσης: 10 μL

Βαθμονόμηση

Παρασκευάζεται ένα πρότυπο διάλυμα μαλβιδίνης σε συγκέντρωση **0,1 mg/mL**. Με τη χρήση διαφορετικών όγκων από το διάλυμα αυτό, δημιουργείται μια πρότυπη καμπύλη που αποτυπώνει τη σχέση μεταξύ **συγκέντρωσης μαλβιδίνης** και απορρόφησης. Η καμπύλη περιγράφεται από την εξίσωση της ευθείας, μέσω της οποίας υπολογίζεται η συγκέντρωση των **γλυκοζιτών των ανθοκυανών** στα δείγματα οίνου, εκφρασμένη σε ισοδύναμο μαλβιδίνης. Οι σχετικοί υπολογισμοί και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.6 και το συνοδευτικό διάγραμμα.

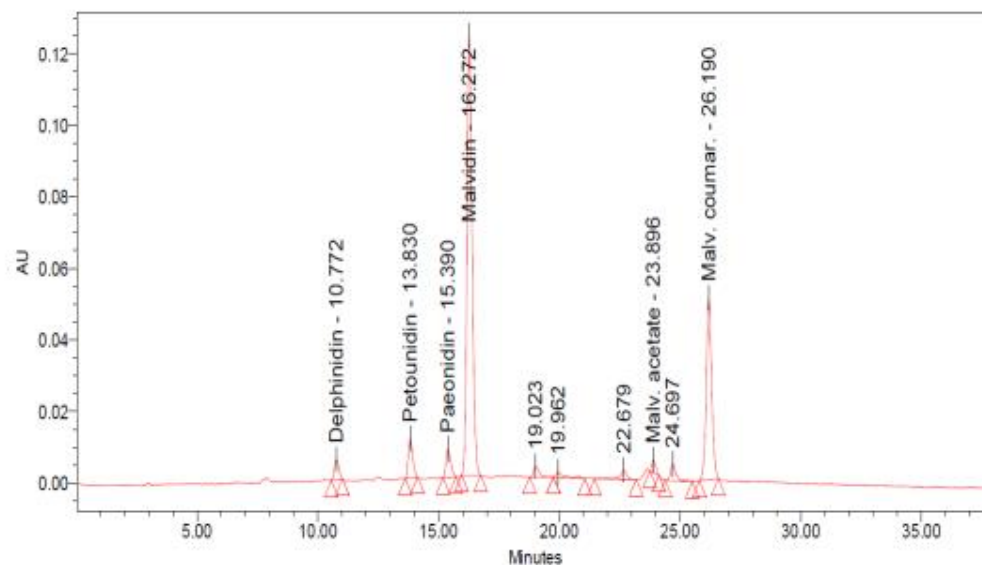
Πίνακας 2.6 Συγκεντρώσεις για καμπύλη αναφοράς μαλβιδίνης

Πρότυπη μαλβιδίνης		
Μαλβιδίνη (μg/mL)	Area (μV*sec)	Area (V*sec)
0,1	311757	0,312
0,2	640844	0,641
0,3	924649	0,925
0,4	1246932	1,247
0,5	1529953	1,530
0,6	1874350	1,874
0,8	2490618	2,491
1	3102811	3,103
2	6487320	6,487
3	9637376	9,637
Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης στα δείγματα:		
1. Λαμβάνονται τα εμβαδά των κορυφών από την HPLC (είναι σε μV*sec)		
2. Μετατρέπονται σε V*sec διαιρώντας με 1.000.000		
3. Εφαρμόζεται η πρότυπη ευθεία και υπολογίζεται η κάθε κορυφή σε ισοδύναμο μαλβιδίνης (ME) (σε μg)		
4. Από τον όγκο της ένεσης υπολογίζεται η κάθε κορυφή σε ισοδύναμο μαλβιδίνης (ME) σε mg/L → $ME(mg/L) = [ME(\mu g)/\acute{o}γκος \acute{\epsilon}νεσης(mL)]$		



Διάγραμμα 2.4 Πρότυπη καμπύλη μαλβιδίνης SVEA

Η πρότυπη καμπύλη αναφοράς έχει γραμμικό συντελεστή 0,9998 και ακολουθεί την εξίσωση $y = 3,2334x - 0,0531$ (όπου y το Area (V*sec) – άξονας Y , και x η ποσότητα της μαλβιδίνης σε μg – άξονας X) (Διάγραμμα 2.4)



Διάγραμμα 2.5 Χρωματογράφημα που απεικονίζει τις ανθοκυάνες της δελφινιδίνης (Dp), Κυανιδίνης (Cy) Πετουινιδίνης (Pt), Παιονιδίνης (Pn), Μαλβιδίνης (Mv), τον οξικό εστέρα (Mv-ac) και τον κουμαρικό εστέρα της μαλβιδίνης (Mv-coum).

Η ταυτοποίηση των ανθοκυανών πραγματοποιήθηκε με τη σύγκριση των χρόνων συγκράτησης (tR) των δειγμάτων με εκείνους πρότυπων ουσιών. Η βαθμονόμηση των ανθοκυανών εκφράστηκε σε ισοδύναμα μαλβιδίνης (ME). Μέσω της χρωματογραφικής ανάλυσης, εντοπίστηκαν οι ακόλουθες ανθοκυάνες, με τη σειρά εμφάνισής τους στο χρωματογράφημα:

- Κυανιδίνη
- Δελφινιδίνη
- Πετουινιδίνη
- Παιονιδίνη

- Μαλβιδίνη
- Οξικός εστέρας μαλβιδίνης
- Κουμαρικός εστέρας μαλβιδίνης (Διάγραμμα 2.5)

2.2.2.6 Προσδιορισμός μονομερών και oligομερών φαινολικών

Βήμα πρώτο: Εκχύλιση Υγρού/Υγρού

Σε falcon μεταφέρονται 10 mL οίνου, τα οποία έχουν προηγουμένως υποστεί φιλτράρισμα (με φίλτρο 0,45 μm) ή φυγοκέντρηση (στις 8000 στροφές ανά λεπτό, για 15 λεπτά). Στη συνέχεια, προστίθενται 10 mL οξικού αιθυλεστέρα (ethyl acetate), το μείγμα αναδεύεται στο vortex για 30 δευτερόλεπτα και φυγοκεντρείται στις 8000 στροφές ανά λεπτό για 5 λεπτά, ώστε να διαχωριστούν οι δύο φάσεις. Η οργανική φάση συλλέγεται, και η διαδικασία επαναλαμβάνεται με άλλα 10 mL οξικού αιθυλεστέρα. Η νέα οργανική φάση συλλέγεται και ενώνεται με την προηγούμενη. Ακολουθεί συμπύκνωση με ροή αζώτου (N₂) μέχρι την πλήρη αφαίρεση του διαλύτη. Τέλος, η στερεή φάση επαναδιαλύεται σε 2 mL μεθανόλης (MeOH), φιλτράρεται με φίλτρο 0,2 μm και εισάγεται στο σύστημα HPLC.

Βήμα δεύτερο: HPLC

Ο εξοπλισμός που χρησιμοποιείται για την ανάλυση με HPLC περιλαμβάνει το σύστημα Waters Alliance 2695 και τον ανιχνευτή PAD 2996, τα οποία ελέγχονται από το λογισμικό Empower pro. Η στήλη που χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό είναι η Sveda C18+ με καλυπτόμενο διάμετρο 5 μm και πόρους 110Å, με διαστάσεις 250x4,6 μm. Οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται στο πρόγραμμα έκλυσης της HPLC περιλαμβάνουν τον Διαλύτη Α, ο οποίος αποτελείται από 1 mL/L ορθοφωσφορικού οξέος σε νερό (H₂O), και τον Διαλύτη Β, που είναι ένα μείγμα του Διαλύτη Α με ακετονιτρίλιο σε αναλογία 6:4 (v/v). Η έκλυση γίνεται με το ακόλουθο πρόγραμμα gradient: (Πίνακας 2.8) (Kallithraka et al., (2005)

Πίνακας 2.8 Χρόνοι έκλυσης (min)για Διαλύτη Α και Διαλύτη Β

Χρόνος	Διαλύτης Α	Διαλύτης Β
0	95	5
20	95	5
100	60	40
110	60	40
130	30	70
140	30	70
145	0	100
155	0	100
157	95	5
165	95	5

Η ανίχνευση και ολοκλήρωση των φαινολικών ενώσεων πραγματοποιήθηκε στα 280 nm και 360 nm. Η αναγνώριση των ενώσεων βασίστηκε στη σύγκριση των χρόνων κατακράτησης των κορυφών με εκείνες των πρότυπων ουσιών. Συγκεκριμένα, στα 280 nm ανιχνεύθηκαν το γαλλικό οξύ, η κατεχίνη, η επικατεχίνη, οι προκυανιδίνες B1, B2, C1, καθώς και οι γαλλικοί εστέρες. Στα 360 nm εντοπίστηκαν οι φλαβονόλες. Η ποσοτική εκτίμηση έγινε μέσω πρότυπων καμπυλών αναφοράς, οι οποίες κατασκευάστηκαν χρησιμοποιώντας γνωστές συγκεντρώσεις πρότυπων ουσιών, όπως η κατεχίνη, η επικατεχίνη, ο γαλλικός εστέρας της επικατεχίνης, η επιγαλλοκατεχίνη, οι προκυανιδίνες B1, B2, C1, το γαλλικό οξύ, καθώς και οι φλαβονόλες

ρουτίνη, καμπερόλη, μυρισετίνη και κερσετίνη. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg ουσίας ανά λίτρο (mg/L) (Kallithraka et al., 2001, Kyrалеου et al., 2015).

2.2.3 Οργανοληπτικός έλεγχος

Ο σκοπός του οργανοληπτικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε ήταν η αξιολόγηση των ερυθρών οίνων ποικιλίας Λημνιώνας. Εννέα εκπαιδευμένοι δοκιμαστές συμμετείχαν στον έλεγχο με σκοπό να διακρίνουν τυχόν διαφορές μεταξύ των δειγμάτων. Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο οινολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, σε κατάλληλο χώρο εξοπλισμένο με λευκούς πάγκους και ποτήρια δοκιμής οίνων. Πιο συγκεκριμένα έλαβε χώρα:

- ❖ Οπτική αξιολόγηση με βάση την Ένταση και την Απόχρωση των οίνων (σε κλίμακα 1-5)
- ❖ Οσφρητική αξιολόγηση στις κατηγορίες: Κόκκινα φρούτα, Μαύρα φρούτα, Αποξηραμένα φρούτα (σε κλίμακα 1-5)
- ❖ Γευστική αξιολόγηση η οποία επικεντρώθηκε στην οξύτητα, στυπτικότητα, πικρή γεύση και στο σώμα. (σε κλίμακα 1-5)
- ❖ Γενική αξιολόγηση ποιότητας των οίνων. (σε κλίμακα 1-5)

2.2.4. Στατιστική επεξεργασία

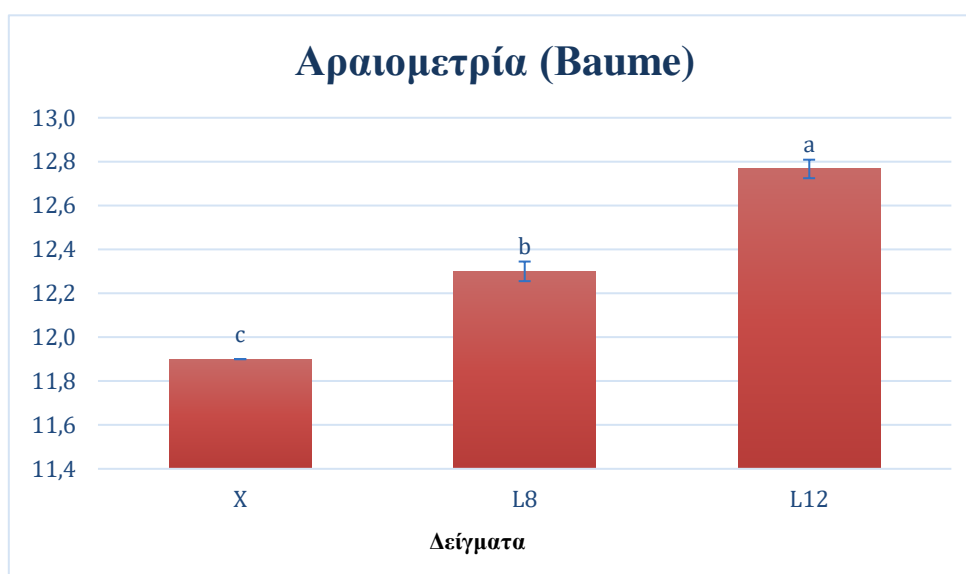
Για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων, χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό SPSS Statistics 21.0 της IBM. Οι στατιστικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων εξετάστηκαν με ανάλυση διασποράς ενός παράγοντα (ANOVA) και τη μέθοδο Tukey HSD για σύγκριση των μέσων τιμών, με επίπεδο σημαντικότητας 5% ($p < 0,05$), δηλαδή με όριο εμπιστοσύνης 95%. Οι μέσοι όροι που φέρουν τους ίδιους χαρακτήρες διαφοροποίησης (a, b, c κ.λπ.) δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Βασικές αναλύσεις οίνου

Στο πλαίσιο του πειράματος, πραγματοποιήθηκαν δύο φυσικές επαναλήψεις για κάθε συνθήκη: για τα σταφύλια χωρίς λιάσιμο (μάρτυρας), για τα σταφύλια με λιάσιμο 8 ημερών και για τα σταφύλια με λιάσιμο 12 ημερών, συνολικά έξι δείγματα. Στην ανάλυση των αποτελεσμάτων, υπολογίστηκαν οι μέσες τιμές κάθε ζεύγους επαναλήψεων, μειώνοντας τον αριθμό των δειγμάτων σε τρία (X, L8 και L12). Με αυτόν τον τρόπο, τα αποτελέσματα παρουσιάζονται με μεγαλύτερη σαφήνεια και συνοχή, ενώ παράλληλα διατηρείται η αξιοπιστία της πειραματικής διαδικασίας.

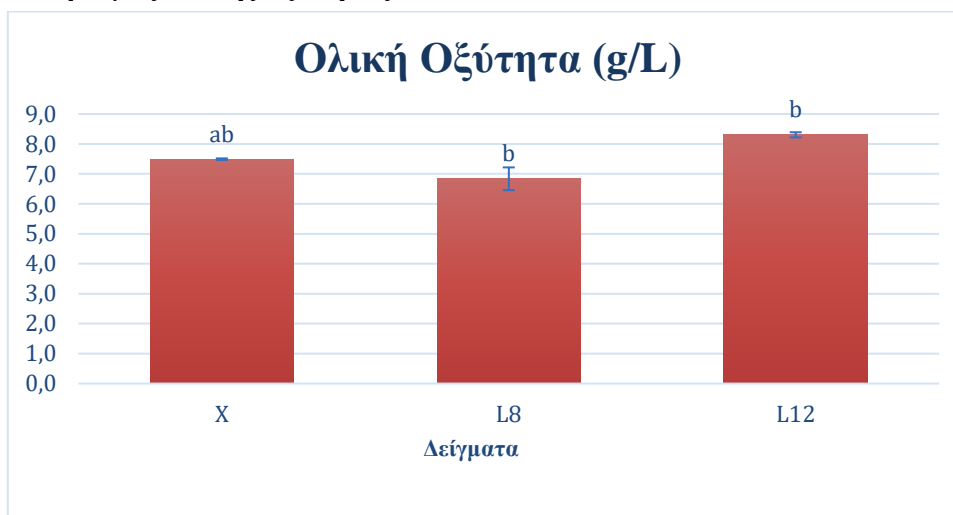
3.1.1 Προσδιορισμός σακχάρων με αραιομετρία (Baume)



Διάγραμμα 3.1. Τιμές ζαχάρων εκφρασμένες σε βαθμούς Baume. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Το πείραμα διερευνά την επίδραση του λιασίματος των σταφυλιών Λημνιώνας για 8 και 12 ημέρες στην περιεκτικότητα σε σάκχαρα του οίνου, συγκρίνοντας τα αποτελέσματα με έναν μάρτυρα χωρίς λιάσιμο. Όπως φαίνεται στο **Διάγραμμα 3.1**, τα ευρήματα δείχνουν ότι όσο περισσότερο διαρκεί το λιάσιμο, τόσο αυξάνεται η τιμή της αραιομετρίας Baume, η οποία αντανακλά μεγαλύτερη συγκέντρωση σακχάρων. Το δείγμα X (μάρτυρας), εμφανίζει τη χαμηλότερη τιμή Baume, ενώ το δείγμα L12, που λιάστηκε για 12 ημέρες, έχει την υψηλότερη. Οι στατιστικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων επιβεβαιώνουν ότι το λιάσιμο επηρεάζει σημαντικά τη συγκέντρωση σακχάρων και τη δυνητική αλκοολική περιεκτικότητα του οίνου. Αυτή η τάση είναι λογική, καθώς με το λιάσιμο απομακρύνεται το νερό που περιέχεται στα σταφύλια λόγω αφυδάτωσης, οδηγώντας σε συμπύκνωση των σακχάρων και των άλλων διαλυμένων ουσιών.

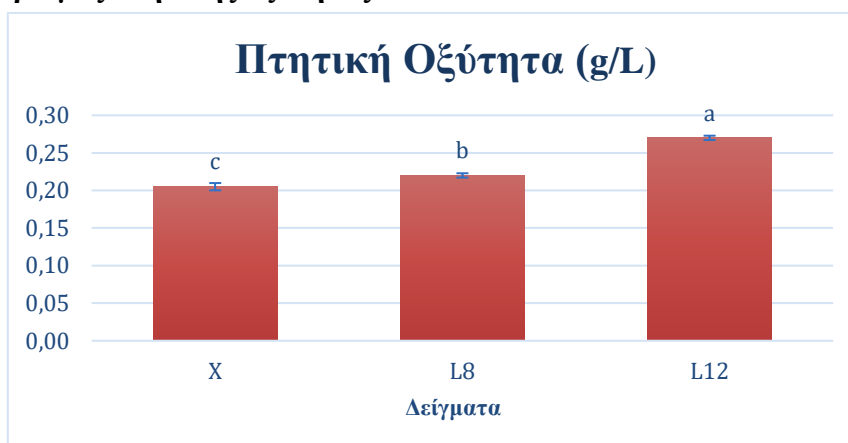
3.1.2 Προσδιορισμός ολικής οξύτητας



Διάγραμμα 3.2 Ολική οξύτητα εκφρασμένη σε g/L τρυγικό οξύ. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Το διάγραμμα παρουσιάζει την ολική οξύτητα των δειγμάτων οίνου (X, L8, L12) σε g/L τρυγικού οξέος. Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 3.2, παρατηρείται ότι το δείγμα X (μάρτυρας, χωρίς λιάσιμο) εμφανίζει ελαφρώς χαμηλότερη τιμή οξύτητας σε σχέση με το δείγμα L12 (λιασμένο για 12 ημέρες), ενώ έχει παρόμοια τιμή με το δείγμα L8 (λιασμένο για 8 ημέρες). Οι σημάνσεις "ab" και "b" δηλώνουν ότι το δείγμα X δεν διαφέρει σημαντικά από το L8, αλλά ούτε το δείγμα L12 εμφανίζει στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τα άλλα δυο, ιδιαίτερα με το L8. Άρα συμπεραίνουμε ότι η αφυδάτωση δεν επηρέασε σημαντικά την ολική οξύτητα των δειγμάτων.

3.1.3 Προσδιορισμός πτητικής οξύτητας



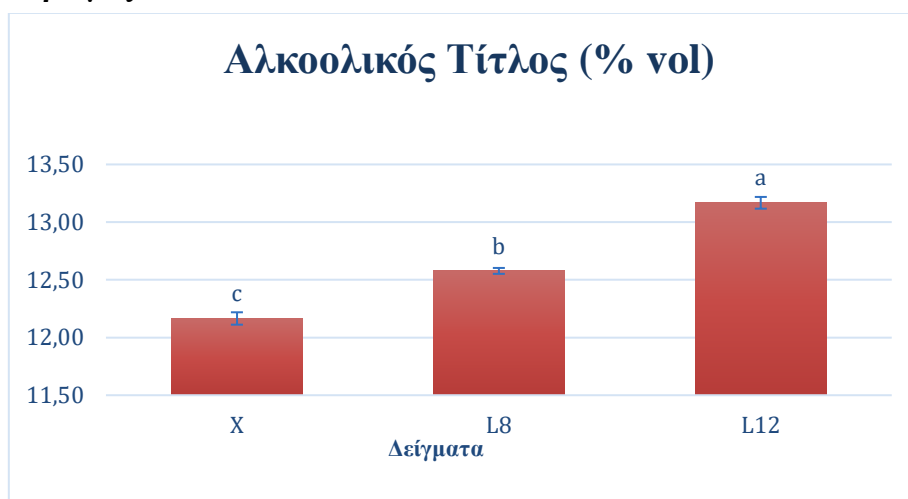
Διάγραμμα 3.3 Πτητική οξύτητα εκφρασμένη σε g/L οξικό οξύ. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Στο Διάγραμμα 3.3 φαίνεται ότι η πτητική οξύτητα (VA) των δειγμάτων οίνου (X, L8, L12) αυξάνεται με την παράταση του λιασίματος, λόγω των ενζυμικών και χημικών οξειδώσεων που ενισχύονται κατά την αφυδάτωση. Το δείγμα X (χωρίς λιάσιμο) έχει τη χαμηλότερη τιμή, το

δείγμα L12 (λιασμένο για 12 ημέρες) τη μεγαλύτερη, ενώ το L8 (8 ημέρες) βρίσκεται σε ενδιάμεση θέση αλλά υψηλότερα από το X.

Η στατιστική ανάλυση επιβεβαιώνει σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων, με το L12 να διαφέρει από τα άλλα δύο, ενώ το L8 παρουσιάζει διαφορά από το X, σύμφωνα με τα γράμματα "a", "b", "c". Οι διαφορές αυτές οφείλονται στις πιθανές οξειδώσεις και μικροβιακές αλλοιώσεις που προκύπτουν με την αφυδάτωση, οδηγώντας σε αυξημένη συγκέντρωση οξικού οξέος στα δείγματα με μεγαλύτερη διάρκεια λιασίματος.

3.1.4 Προσδιορισμός αλκοολικού τίτλου

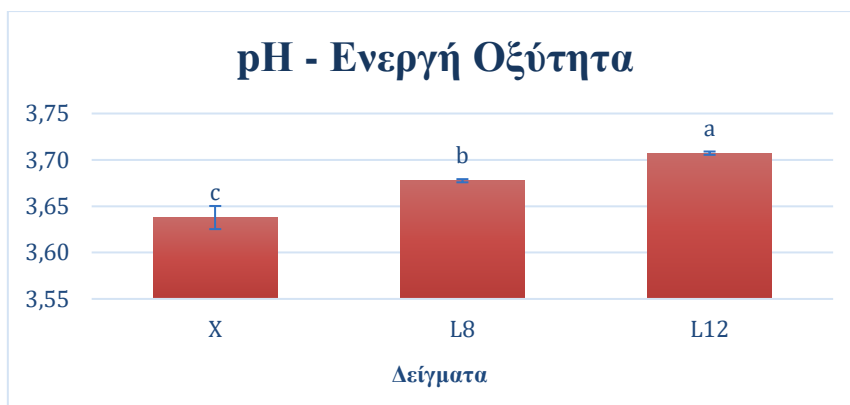


Διάγραμμα 3.4 Αλκοολικός τίτλος (%vol). (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Όπως βλέπουμε στο **Διάγραμμα 3.3**, το οποίο παρουσιάζει τον αλκοολικό τίτλο των δειγμάτων οίνου (X, L8, L12), παρατηρείται ότι η τιμή αυξάνεται με την αύξηση της διάρκειας του λιασίματος. Το δείγμα X (μάρτυρας, χωρίς λιάσιμο) έχει τη χαμηλότερη αλκοολική περιεκτικότητα, ενώ το δείγμα L12 (λιασμένο για 12 ημέρες) εμφανίζει την υψηλότερη τιμή. Το δείγμα L8 (λιασμένο για 8 ημέρες) βρίσκεται σε ενδιάμεση θέση, αλλά είναι σημαντικά υψηλότερο από το δείγμα X. Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές που επισημαίνονται με τα γράμματα "a", "b", "c" δείχνουν ότι το δείγμα L12 έχει στατιστικά υψηλότερο αλκοολικό τίτλο σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα, ενώ το δείγμα L8 παρουσιάζει επίσης διαφορά από τον μάρτυρα X. Αυτή η τάση είναι αναμενόμενη, καθώς το λιάσιμο αφυδατώνει τα σταφύλια, αυξάνοντας τη συγκέντρωση σακχάρων, τα οποία μετατρέπονται σε αιθανόλη κατά τη ζύμωση, οδηγώντας σε υψηλότερο αλκοολικό τίτλο στον τελικό οίνο.

3.1.5 pH-Ενεργή Οξύτητα

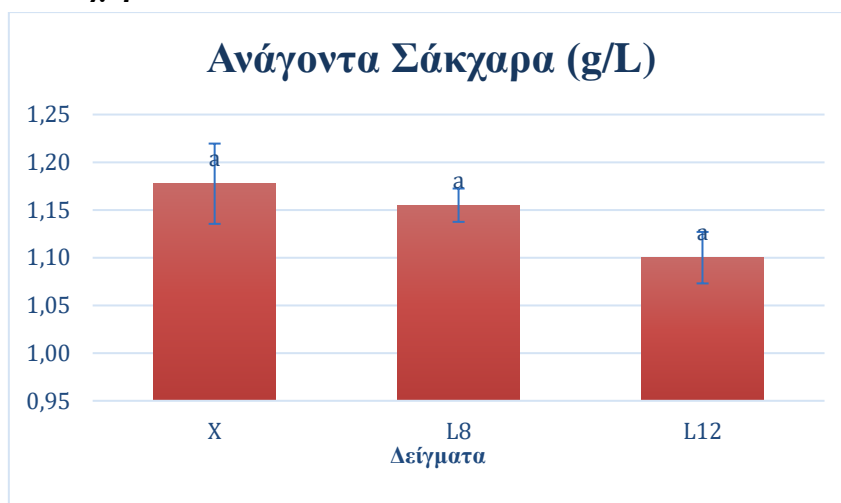
Το διάγραμμα 3.4 δείχνει την ενεργή οξύτητα (pH) των δειγμάτων οίνου **X**, **L8**, και **L12**, με σαφή αύξηση του pH καθώς αυξάνεται η διάρκεια του λιασίματος. Το δείγμα **X** (μάρτυρας) έχει τη χαμηλότερη τιμή pH, ενώ το **L12** (λιασμένο για 12 ημέρες) παρουσιάζει την υψηλότερη τιμή, με το **L8** να βρίσκεται ενδιάμεσα. Η αύξηση του pH μπορεί να εξηγηθεί από την πιθανή αύξηση των ιόντων καλίου και ασβεστίου, στα λιασμένα δείγματα λόγω συμπύκνωσης. Αυτά τα ιόντα έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν το τρυγικό οξύ, το οποίο αποτελεί ένα από τα βασικά οξέα του οίνου. Η δέσμευση του τρυγικού οξέος μειώνει τη διαθεσιμότητά του στον οίνο, με αποτέλεσμα να μειώνεται η οξύτητα και να αυξάνεται το pH.



Διάγραμμα 3.4 Ενεργή οξύτητα. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Όπως φαίνεται επίσης στο **Διάγραμμα της Ολικής Οξύτητας 3.2**, παρατηρείται αύξηση της ολικής οξύτητας με την διάρκεια του λιασίματος. Αυτό μπορεί να οφείλεται στη συγκέντρωση άλλων οξέων (όπως το μηλικό ή το οξικό οξύ), τα οποία αυξάνουν την ολική οξύτητα, ενώ ταυτόχρονα το τρυγικό οξύ δεσμεύεται, επηρεάζοντας μόνο το pH. Έτσι, παρόλο που το pH αυξάνεται, η συνολική ποσότητα οξέων στον οίνο παραμένει υψηλή.

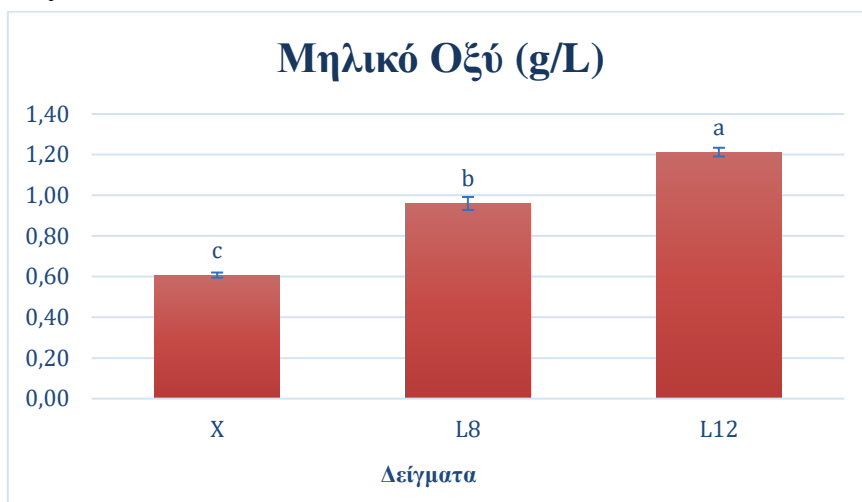
3.1.6 Ανάγοντα Σάκχαρα



Διάγραμμα 3.5 Συγκέντρωση αναγόντων σακχάρων εκφρασμένη σε g/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Το διάγραμμα 3.5 παρουσιάζει την ποσότητα των αναγόντων σακχάρων (Residual Sugars) σε g/L για τα δείγματα οίνου (X, L8, L12). Συγκεκριμένα, τα δείγματα X (μάρτυρας), L8 (λιασμένο για 8 ημέρες) και L12 (λιασμένο για 12 ημέρες) παρουσιάζουν παρόμοιες τιμές αναγόντων σακχάρων, χωρίς σημαντικές στατιστικές διαφορές (όπως υποδεικνύεται από το κοινό γράμμα "a"). Αυτό δείχνει ότι η ζύμωση ήταν παρόμοια και στα τρία δείγματα και η διαδικασία μετατροπής των σακχάρων σε αλκοόλη ήταν εξίσου αποτελεσματική, με αποτέλεσμα να απομένουν σχεδόν ίδιες συγκεντρώσεις αναγόντων σακχάρων. Άρα, η διαφοροποίηση της διάρκειας λιασίματος δεν φαίνεται να έχει επηρεάσει σημαντικά την ποσότητα των υπολειπόμενων σακχάρων, που υποδεικνύει ότι η ζύμωση έχει ολοκληρωθεί σε μεγάλο βαθμό σε όλα τα δείγματα.

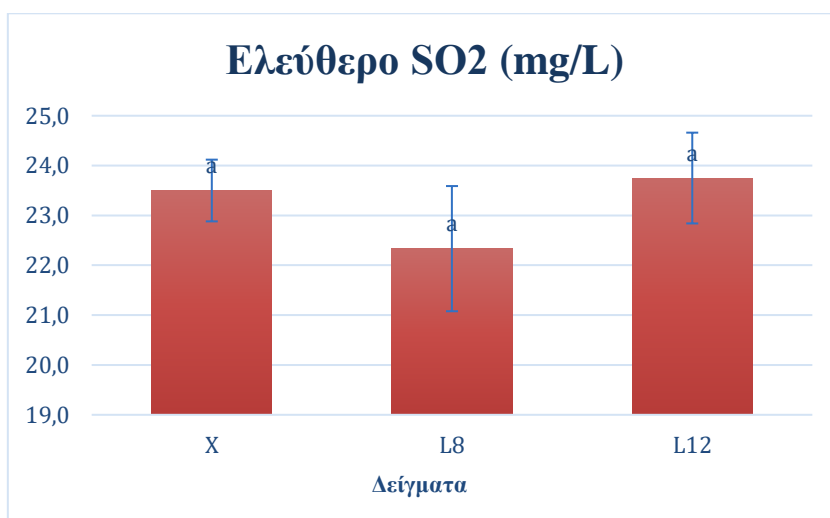
3.1.7 Μηλικό Οξύ



Διάγραμμα 3.6 Συγκέντρωση του μηλικού οξέος εκφρασμένη σε g/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Το διάγραμμα 3.6 δείχνει τα επίπεδα του μηλικού οξέος σε g/L για τα δείγματα οίνου (X, L8, L12). Παρατηρείται ότι το μηλικό οξύ αυξάνεται με την αύξηση της διάρκειας του λιασίματος. Συγκεκριμένα, το δείγμα **X** (μάρτυρας, χωρίς λιάσιμο) έχει τη χαμηλότερη συγκέντρωση μηλικού οξέος, ενώ το δείγμα **L12** (λιασμένο για 12 ημέρες) φτάνει την υψηλότερη τιμή. Το δείγμα **L8** (λιασμένο για 8 ημέρες) βρίσκεται μεταξύ των δύο. Οι στατιστικές διαφορές, όπως υποδεικνύουν τα γράμματα "a", "b", και "c", δείχνουν ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα δείγματα. Το δείγμα **L12** διαφέρει σημαντικά από τα υπόλοιπα, ενώ το **L8** διαφέρει επίσης από το **X**. Η αύξηση των επιπέδων μηλικού οξέος στα λιασμένα δείγματα οφείλεται στη διαδικασία αφυδάτωσης, κατά την οποία τα οξέα, όπως το μηλικό οξύ, συμπυκνώνονται λόγω της μείωσης του νερού στα σταφύλια. Αυτή η συμπύκνωση εξηγεί τις υψηλότερες τιμές στα δείγματα **L8** και **L12**.

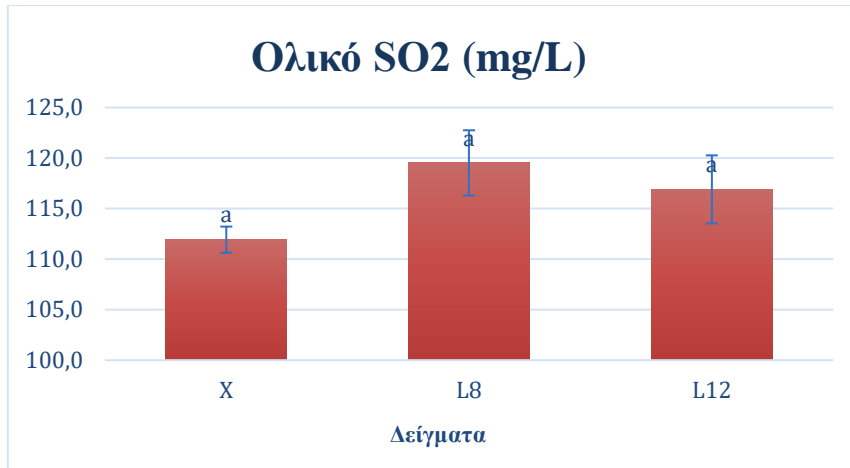
3.1.8 Ελεύθερο SO₂



Διάγραμμα 3.7 Συγκέντρωση ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη εκφρασμένη σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Το διάγραμμα 3.7 παρουσιάζει τα επίπεδα ελεύθερου SO₂ (διοξειδίου του θείου) σε mg/L για τα δείγματα οίνου **X**, **L8** και **L12**, τα οποία αντιστοιχούν σε σταφύλια που είτε δεν λιάστηκαν (**X**) είτε λιάστηκαν για 8 και 12 ημέρες αντίστοιχα. Παρατηρούμε ότι τα επίπεδα του ελεύθερου SO₂ είναι παρόμοια σε όλα τα δείγματα, με το δείγμα **X** να έχει ελαφρώς υψηλότερη συγκέντρωση, ενώ τα δείγματα **L8** και **L12** εμφανίζουν μικρές διαφορές μεταξύ τους πράγμα φυσικό αφού η προσθήκη θειώδη ανυδρίτη έγινε ομοιόμορφα σε όλα τα δείγματα.

3.1.9 Ολικό SO₂



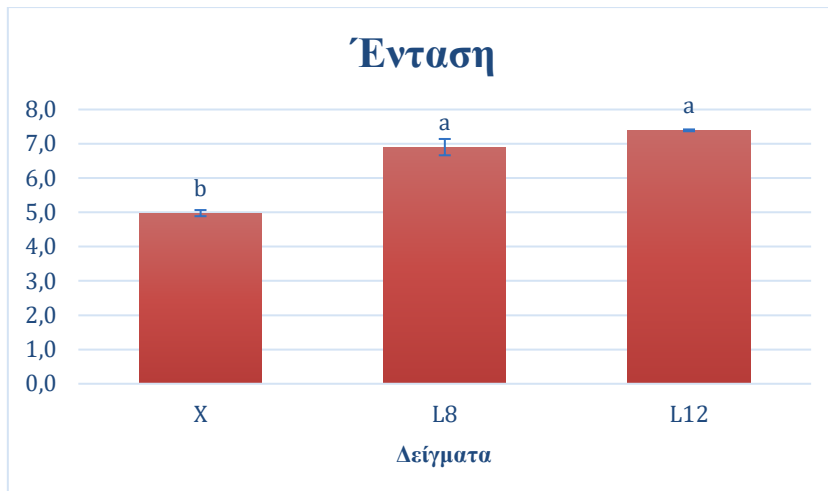
Διάγραμμα 3.8 Συγκέντρωση ολικού θειώδους ανυδρίτη εκφρασμένη σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Το διάγραμμα 3.8 απεικονίζει τα επίπεδα ολικού SO₂ (διοξειδίου του θείου) σε mg/L για τα δείγματα οίνου **X**, **L8** και **L12**, τα οποία αντιστοιχούν σε σταφύλια χωρίς λιάσιμο (**X**) και λιάσιμο για 8 και 12 ημέρες (**L8**, **L12**) αντίστοιχα. Παρατηρούμε ότι τα επίπεδα ολικού SO₂ είναι πολύ κοντά μεταξύ τους, με μικρές διαφορές που δεν είναι στατιστικά σημαντικές, όπως υποδηλώνει το κοινό γράμμα "a" στα τρία δείγματα. Αυτό επιβεβαιώνει ότι η προσθήκη του θειώδους πραγματοποιήθηκε με ομοιόμορφο τρόπο σε όλα τα δείγματα, ανεξάρτητα από τη διάρκεια του λιασίματος, καθώς δεν παρατηρούνται μεγάλες αποκλίσεις στις συγκεντρώσεις του ολικού SO₂.

3.2 Χρώμα και φαινολικά συστατικά

3.2.1 Ένταση

Το διάγραμμα 3.10 παρουσιάζει την ένταση (I) για τα δείγματα οίνου **X**, **L8**, και **L12**, όπου φαίνεται ότι η ένταση αυξάνεται με την αύξηση της διάρκειας του λιασίματος. Το δείγμα **X** (μάρτυρας, χωρίς λιάσιμο) παρουσιάζει τη χαμηλότερη ένταση, ενώ τα δείγματα **L8** και **L12** (λιασμένα για 8 και 12 ημέρες αντίστοιχα) παρουσιάζουν υψηλότερες και παρόμοιες τιμές έντασης, όπως δείχνουν τα γράμματα "a". Η διαφορά στην ένταση μπορεί να εξηγηθεί από την αφυδάτωση που προκαλείται κατά τη διάρκεια του λιασίματος. Καθώς τα σταφύλια λιάζονται, χάνουν νερό, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η συγκέντρωση των χρωστικών και άλλων ουσιών που επηρεάζουν το χρώμα και την ένταση του οίνου. Αυτό εξηγεί γιατί τα δείγματα **L8** και **L12** έχουν παρόμοια ένταση, αλλά σημαντικά υψηλότερη από το δείγμα **X**.



Διάγραμμα 3.10 Έντασης χρώματος (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Συνοψίζοντας, το λιάσιμο φαίνεται να αυξάνει την ένταση του χρώματος του οίνου, όπως φαίνεται από τα λιασμένα δείγματα, τα οποία έχουν παρόμοια και υψηλότερη ένταση σε σχέση με τον μάρτυρα. Η αυξημένη ένταση είναι σημαντική, καθώς ενισχύει την εμφάνιση του οίνου και συχνά συνδέεται με την αίσθηση ποιότητας, δίνοντας στον οίνο πιο πλούσιο και βαθύ χρώμα, το οποίο μπορεί να θεωρηθεί ελκυστικό από τους καταναλωτές.

3.2.2 Απόχρωση



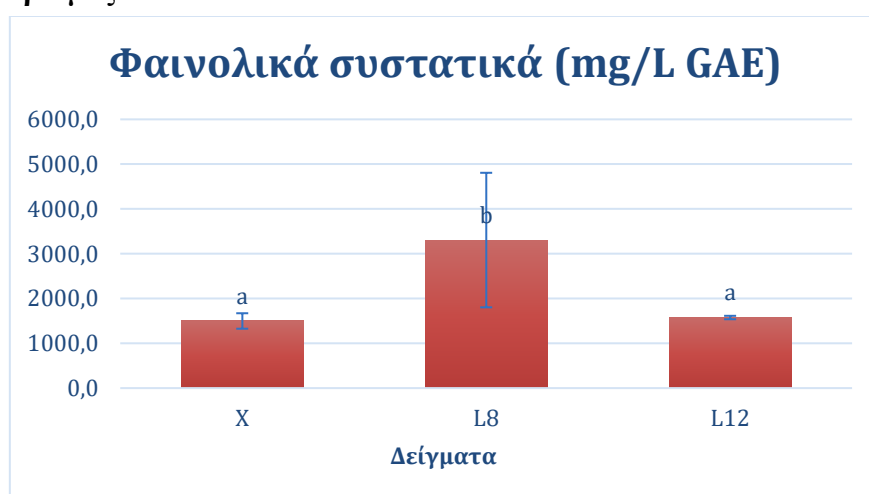
Διάγραμμα 3.11 Απόχρωση. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Το διάγραμμα 3.11 αποτυπώνει τις τιμές της απόχρωσης (H) για τα δείγματα οίνου X, L8, και L12. Παρατηρούμε ότι η απόχρωση αυξάνεται όσο μεγαλύτερη είναι η διάρκεια του λιασίματος. Το δείγμα X (μάρτυρας, χωρίς λιάσιμο) εμφανίζει τη χαμηλότερη τιμή απόχρωσης, ενώ τα δείγματα L8 (λιασμένο για 8 ημέρες) και L12 (λιασμένο για 12 ημέρες) παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερες τιμές αλλά πολύ κοντά μεταξύ τους, με το L12 να φτάνει τη μεγαλύτερη

τιμή. Τα γράμματα "a" και "b" δείχνουν ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του δείγματος X και των δειγμάτων L8 και L12.

Η χαμηλή απόχρωση είναι προτιμητέα για την ποιότητα του οίνου, καθώς αντανακλά ευνοϊκές ιδιότητες στην εμφάνιση και τη χημική του σταθερότητα. Αντίθετα, η αυξημένη απόχρωση συχνά αποτελεί ένδειξη πολυμερισμού και οξείδωσης τανινών και ανθοκυανών, που προκαλούνται κατά τη διαδικασία του λιασίματος. Συμπερασματικά, το λιάσιμο φαίνεται να έχει αρνητική επίδραση στην απόχρωση του οίνου, με τα λιασμένα δείγματα να παρουσιάζουν σημαντικά πιο έντονη απόχρωση σε σύγκριση με το μάρτυρα, και επιβεβαιώνεται βιβλιογραφικά από τις μελέτες των [Figueiredo-González et al., \(2013\)](#). Για τον λόγο αυτό, είναι σημαντική η προσεκτική ρύθμιση της διαδικασίας, ώστε να διασφαλίζεται η επιθυμητή ποιότητα και εμφάνιση του οίνου.

3.2.3 Προσδιορισμός Ολικών Φαινολικών



Διάγραμμα 3.12 Συγκέντρωση ολικών φαινολών με την μέθοδο Folin-Ciocalteu σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Το διάγραμμα 3.12 δείχνει τις συγκεντρώσεις ολικών φαινολών στα δείγματα οίνου, όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. Παρά τις διαφοροποιήσεις στις μέσες τιμές μεταξύ των δειγμάτων (X, L8, L12), η στατιστική ανάλυση υποδεικνύει ότι οι διαφορές είναι στατιστικά σημαντικές μόνο μεταξύ του δείγματος L8 και των δειγμάτων X και L12 ($p < 0,05$). Αυτό υποδηλώνει ότι η διαδικασία του λιασίματος μπορεί να προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης των ολικών φαινολών στο δείγμα L8 (λιασμένο για 8 ημέρες), ενώ στο δείγμα L12 (λιασμένο για 12 ημέρες) η συγκέντρωση φαίνεται να μειώνεται ξανά σε επίπεδα παρόμοια με εκείνα του δείγματος X (χωρίς λιάσιμο).

Η παρατηρούμενη αύξηση στο δείγμα L8 πιθανώς σχετίζεται με την παρουσία ανθοκυανινών και άλλων φαινολικών ενώσεων που αντιδρούν με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Η μείωση στο δείγμα L12 μπορεί να οφείλεται σε αποδόμηση ή οξείδωση ορισμένων φαινολικών ενώσεων κατά τη μεγαλύτερη διάρκεια λιασίματος. Συνεπώς, τα δεδομένα δείχνουν ότι η επίδραση του λιασίματος στη συγκέντρωση των ολικών φαινολών εξαρτάται από τη διάρκεια της διαδικασίας, με το δείγμα L8 να εμφανίζει τη μέγιστη συγκέντρωση.

3.2.4 Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ)



Διάγραμμα 3.13 Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ). (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Το διάγραμμα 3.13 παρουσιάζει τον δείκτη φαινολικών ουσιών (ΔΦΟ) για τα δείγματα οίνου X, L8, και L12. Παρατηρείται ότι η τιμή του ΔΦΟ αυξάνεται με τη διάρκεια του λιασίματος. Συγκεκριμένα, το δείγμα X (μάρτυρας, χωρίς λιάσιμο) εμφανίζει τη χαμηλότερη τιμή του ΔΦΟ, ενώ τα δείγματα L8 (λιασμένο για 8 ημέρες) και L12 (λιασμένο για 12 ημέρες) παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές. Τα γράμματα "a", "b" και "c" δείχνουν ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ όλων των δειγμάτων.

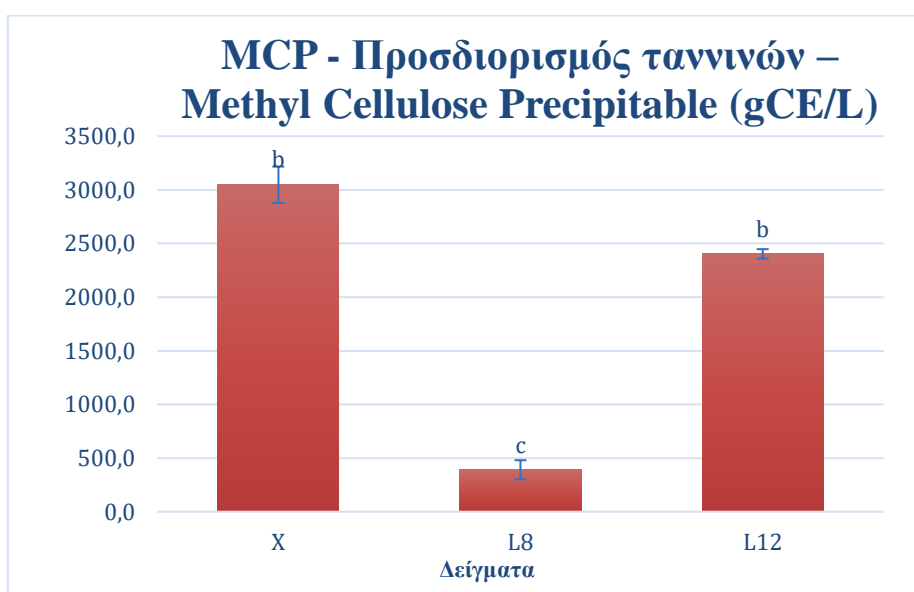
Η αύξηση του δείκτη φαινολικών ουσιών στα λιασμένα δείγματα αποδίδεται στη διαδικασία αφυδάτωσης κατά το λιάσιμο. Καθώς τα σταφύλια χάνουν νερό, οι τανίνες και τα φλαβονοειδή, που απορροφούν έντονα στα **280 nm**, αυξάνουν τη συγκέντρωσή τους. Η μέτρηση του ΔΦΟ στα **280 nm** αντανακλά κυρίως τη συγκέντρωση αυτών των ενώσεων και λιγότερο τη συγκέντρωση των ανθοκυανών, οι οποίες απορροφούν σε διαφορετικό μήκος κύματος. Επομένως, η αύξηση του ΔΦΟ με τη διάρκεια λιασίματος μπορεί να οφείλεται κυρίως στη συγκέντρωση τανινών και φλαβονοειδών. Παρατηρείται ότι οι δύο μέθοδοι δίνουν διαφορετικά αποτελέσματα για τα δείγματα οίνου. Συγκεκριμένα, η μέθοδος Folin-Ciocalteu δείχνει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών στο δείγμα L8, ενώ η μέτρηση ΔΦΟ στα 280 nm δείχνει τη μεγαλύτερη τιμή για το δείγμα L12. Η διαφορά αυτή μπορεί να οφείλεται στη διαφορετική φύση των μετρούμενων φαινολικών ενώσεων. Η μέθοδος Folin-Ciocalteu αντιδρά με όλες τις φαινολικές ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων ανθοκυανινών, που πιθανώς υπάρχουν σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο δείγμα L8. Αντίθετα, η μέτρηση ΔΦΟ στα 280 nm αντανακλά κυρίως τη συγκέντρωση τανινών και φλαβονοειδών, που μπορεί να αυξάνονται σταδιακά με τη διάρκεια λιασίματος, αποδίδοντας υψηλότερη τιμή στο δείγμα L12.

3.2.4 Προσδιορισμός ταννινών MCP

Το διάγραμμα 3.14 δείχνει τη συγκέντρωση ταννινών (MCP - Methyl Cellulose Precipitable) για τα δείγματα οίνου X, L8, και L12. Παρατηρείται ότι τα λιασμένα δείγματα (L8 και L12) έχουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις ταννινών σε σχέση με το δείγμα X (μάρτυρας, χωρίς λιάσιμο), με το L8 (λιασμένο για 8 ημέρες) να εμφανίζει τη χαμηλότερη τιμή. Οι στατιστικές διαφορές υποδεικνύονται από τα γράμματα "b" και "c", με το L8 να διαφέρει σημαντικά από τα άλλα

δείγματα, ενώ το L12 παρουσιάζει συγκέντρωση ταννινών που επανέρχεται κοντά στην αρχική τιμή του δείγματος X.

Η μέθοδος MCP μετρά την περιεκτικότητα σε προανθοκυανιδίνες (συμπυκνωμένες ταννίνες), οι οποίες είναι πολυμερείς ή ολιγομερείς μορφές φαινολικών ενώσεων που επηρεάζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου, όπως η στυπτικότητα και η δομή. Αυτές οι ταννίνες είναι υπεύθυνες για τη σύνδεση με πρωτεΐνες και άλλες ενώσεις κατά την κατεργασία του οίνου. Η μείωση των ταννινών στα λιασμένα δείγματα μπορεί να εξηγηθεί από τις φυσικοχημικές μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά τη διαδικασία του λιασίματος. Πιθανοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν την οξείδωση των ταννινών, τον πολυμερισμό τους, καθώς και τη δέσμευσή τους με άλλες φαινολικές ενώσεις ή πρωτεΐνες, γεγονός που μειώνει τη διαλυτότητά τους στον οίνο. Όπως αναφέρεται και στην έρευνα των [Scalzini et al., \(2024\)](#).



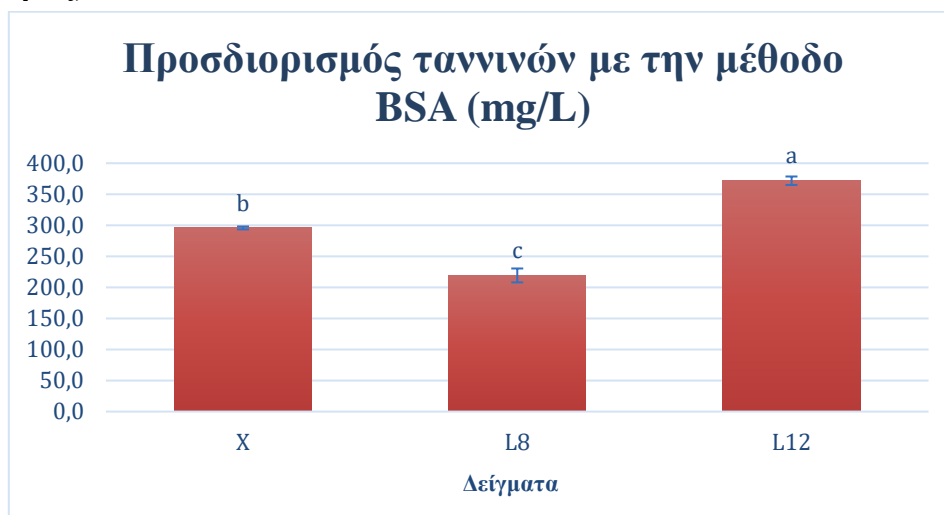
Διάγραμμα 3.14 Συγκέντρωση ταννινών προσδιορισμένες με την μέθοδο Methyl Cellulose Precipitable (MCP), γραμμάρια ισοδυνάμων κατεχινών ανά λίτρο (gCE/L). (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Η μεγαλύτερη μείωση που παρατηρείται στο L8 μπορεί να υποδηλώνει ότι στις πρώτες ημέρες λιασίματος οι παραπάνω διεργασίες (οξείδωση, πολυμερισμός και δέσμευση) βρίσκονται σε μέγιστη ένταση. Στο L12, παρά τη μεγαλύτερη διάρκεια λιασίματος, η συγκέντρωση ταννινών επανέρχεται κοντά στην αρχική τιμή του δείγματος X. Αυτό θα μπορούσε να οφείλεται σε δυναμικές αλλαγές, όπως μερική αποδέσμευση ταννινών από τις δομές στις οποίες είχαν δεσμευτεί ή διαφοροποιήσεις στην εκχύλιση λόγω διαφορών στις φυσικές ιδιότητες των φλοιών μετά από παρατεταμένο λιάσιμο. Επιπλέον, η αύξηση των ταννινών στο L12 μπορεί να αποδοθεί στην απομάκρυνση του νερού λόγω της εντατικότερης αφυδάτωσης, η οποία οδηγεί σε συμπύκνωση του χυμού και, κατ' επέκταση, σε αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυτών ενώσεων, όπως οι ταννίνες. Αυτό επιβεβαιώνεται και από την έρευνα των [Mahmutoglu et al., \(1996\)](#).

Συνολικά, το λιάσιμο φαίνεται να επηρεάζει τη συγκέντρωση των ταννινών στον οίνο, με το L8 να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη μείωση και το L12 να επαναφέρει τις ταννίνες κοντά στα επίπεδα του δείγματος X. Απαιτείται περαιτέρω μελέτη για να κατανοηθούν οι ακριβείς μηχανισμοί που

επηρεάζουν τη συγκέντρωση των ταννινών και να αξιολογηθεί η βέλτιστη διάρκεια λιασίματος για τη διατήρηση της ποιότητας του οίνου.

3.2.5 Προσδιορισμός ταννινών με την μέθοδο BSA (δέσμευση από πρωτεΐνες – δείκτης στυπτικότητας)

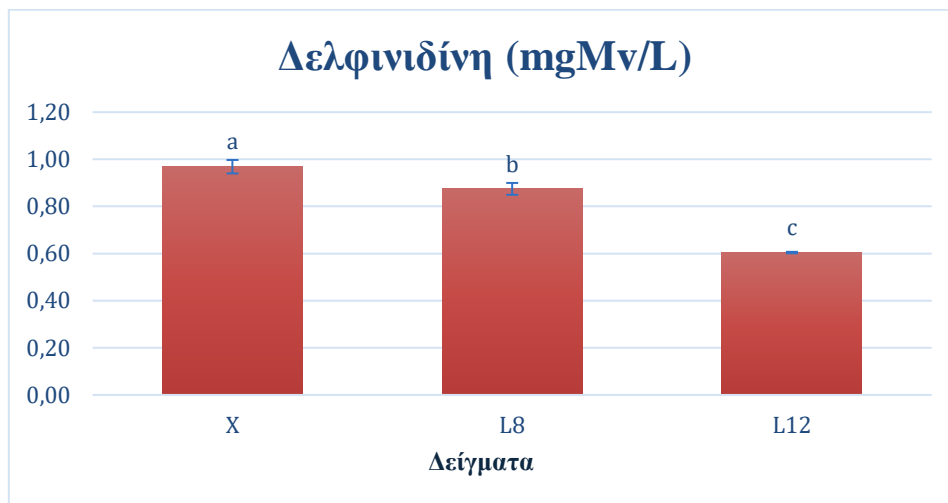


Διάγραμμα 3.15 Συγκέντρωση ταννινών προσδιορισμένων με την μέθοδο BSA (mg/L). (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Το διάγραμμα 3.15 παρουσιάζει τη συγκέντρωση ταννινών (mg/L) στα δείγματα οίνου **X**, **L8**, και **L12** με τη μέθοδο **BSA (Bovine Serum Albumin)**. Παρατηρείται ότι το δείγμα **L12** (λιασμένο για 12 ημέρες) εμφανίζει την υψηλότερη συγκέντρωση ταννινών, ενώ το δείγμα **L8** (λιασμένο για 8 ημέρες) παρουσιάζει τη χαμηλότερη. Το δείγμα **X** (μάρτυρας, χωρίς λιάσιμο) βρίσκεται σε ενδιάμεσο επίπεδο. Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων επισημαίνονται με τα γράμματα "a", "b", και "c". Η υψηλή συγκέντρωση ταννινών στο δείγμα **L12** μπορεί να αποδοθεί στην παρατεταμένη διάρκεια λιασίματος, που ευνοεί τη συσσώρευση ταννινών και την αυξημένη δέσμευση με την πρωτεΐνη. Το δείγμα **L8** εμφανίζει σημαντικά χαμηλότερη συγκέντρωση ταννινών, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί σε παράγοντες όπως η οξειδωση των ταννινών.

3.2.6 Αποτελέσματα Ανάλυσης Ανθοκυανών με HPLC

3.2.6.1 Δελφινιδίνη (Dp)



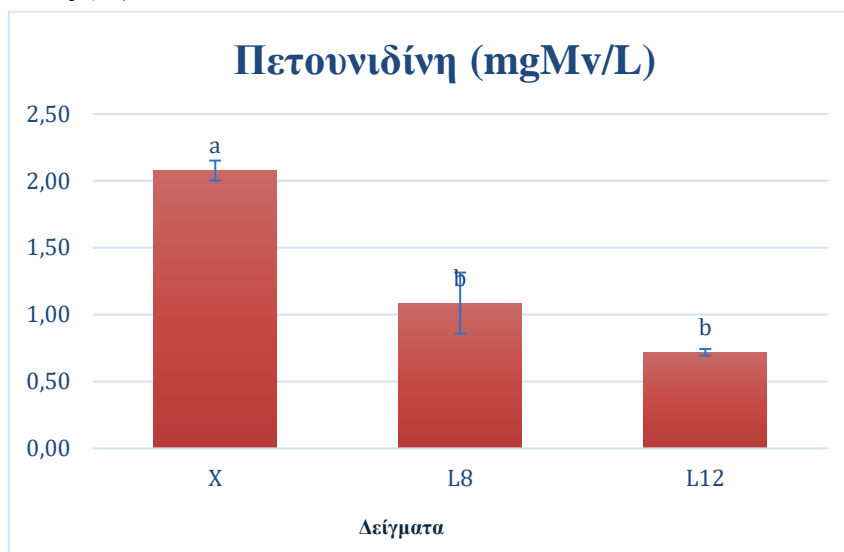
Διάγραμμα 3.16 Συγκέντρωση της δελφινιδίνης με την μέθοδο HPLC, οι ανθοκυάνες εκφράζονται ως προς τη μαλβιδίνη σε mg mMv/L οίνου. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Η ανάλυση των συγκεντρώσεων της δελφινιδίνης στα δείγματα X, L8 και L12 αποδεικνύει την επίδραση της αφυδάτωσης στη σύνθεση του οίνου (βλ. Διάγραμμα 3.16). Στο δείγμα X, που δεν έχει υποστεί αφυδάτωση, η συγκέντρωση είναι υψηλή, προσεγγίζοντας το 1,2, διατηρώντας τα φυσικά χαρακτηριστικά των σταφυλιών. Η παρουσία αυξημένης δελφινιδίνης συμβάλλει στη βαθυκόκκινη απόχρωση του οίνου. Στο δείγμα L8, η συγκέντρωση μειώνεται σε περίπου 1,0, υποδεικνύοντας την αρχική επίδραση της αφυδάτωσης. Αυτή η μείωση μπορεί να οφείλεται στην οξείδωση και τη διάσπαση των χρωστικών κατά την έκθεση στον ήλιο. Στο δείγμα L12, η συγκέντρωση πέφτει κάτω από 0,8, αποδεικνύοντας ότι η παρατεταμένη αφυδάτωση έχει σημαντική επίδραση στη μείωση της χρωστικής, πιθανόν λόγω της υποβάθμισης της δομής της από τις ακραίες συνθήκες θερμοκρασίας και φωτός. Οι στατιστικές διαφορές (a, b, c) επιβεβαιώνουν ότι η διάρκεια της αφυδάτωσης είναι κρίσιμη για τη διατήρηση της δελφινιδίνης.

3.2.6.2 Κυανιδίνη (Cy)

Σε κανένα από τα δείγματα δεν προσδιορίστηκε κυανιδίνη. Η απουσία κυανιδίνης (Cy) στα δείγματα μπορεί να οφείλεται σε αρκετούς παράγοντες. Ενδέχεται η συγκεκριμένη ποικιλία σταφυλιών να μην περιέχει κυανιδίνη. Επιπλέον, οι συνθήκες κατά την οινοποίηση, όπως η θερμοκρασία και η διάρκεια εκχύλισης, μπορεί να έχουν προκαλέσει την αποικοδόμησή της ή η συγκέντρωσή της να βρίσκεται κάτω από το όριο ανίχνευσης. Τέλος, περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως οι κλιματολογικές συνθήκες και το έδαφος, μπορεί επίσης να έχουν συμβάλει στην απουσία της.

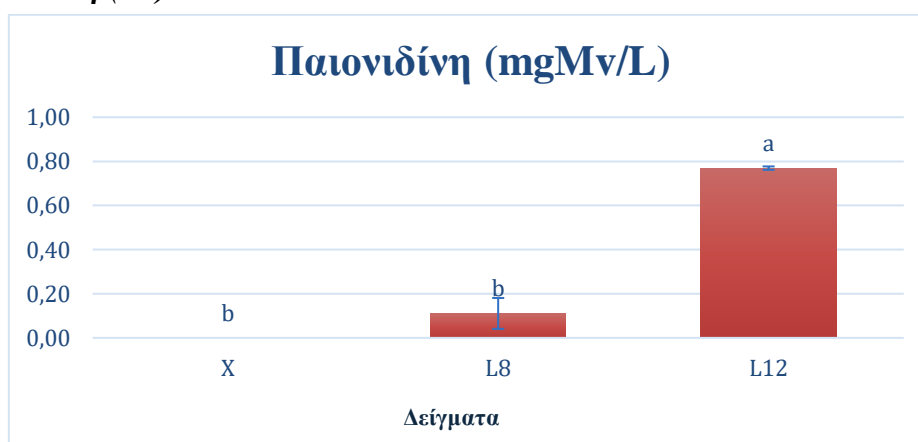
3.2.6.3 Πετουνιδίνη (Pt)



Διάγραμμα 3.17 Συγκέντρωση της πετουνιδίνης με την μέθοδο HPLC, οι ανθοκυάνες εκφράζονται ως προς τη μαλβιδίνη σε mg/L οίνου. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Στο διάγραμμα της πετουνιδίνης 3.17, το δείγμα X παρουσιάζει την υψηλότερη συγκέντρωση, σχεδόν 2,0, υποδεικνύοντας ότι η απουσία αφυδάτωσης διατηρεί τις χρωστικές σε υψηλά επίπεδα. Στο δείγμα L8, η συγκέντρωση μειώνεται σε περίπου 1,0, δείχνοντας ότι η αφυδάτωσή του για 8 ημέρες αρχίζει να επηρεάζει τη συνολική περιεκτικότητα. Στο δείγμα L12, η συγκέντρωση πέφτει περαιτέρω στο 0,7, υποδηλώνοντας ότι η παρατεταμένη αφυδάτωση για 12 ημέρες έχει σημαντική επίδραση στην πετουνιδίνη. Αυτή η παρατεταμένη έκθεση μπορεί να προκαλεί επιπλέον χημικές αντιδράσεις, όπως η οξείδωση, που οδηγούν σε υποβάθμιση της χρωστικής. Οι ετικέτες (a, b) στο διάγραμμα δείχνουν ότι το δείγμα X διαφέρει σημαντικά από τα L8 και L12, ενώ οι τελευταίες δύο δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά. Συνολικά η αφυδάτωση (και όχι τόσο η διάρκεια του λιασίματος) φαίνεται να μειώνει σημαντικά τη συγκέντρωση της πετουνιδίνης,

3.2.6.4 Παιονιδίνη (Pn)

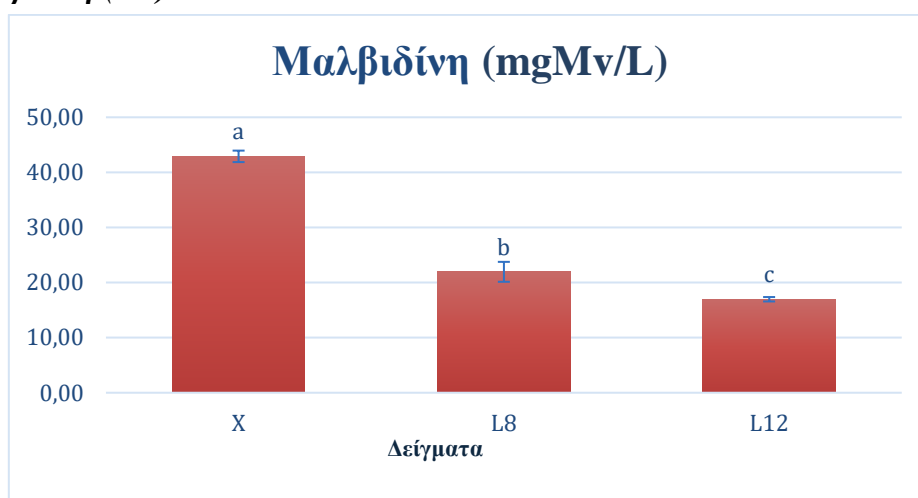


Διάγραμμα 3.18 Συγκέντρωση της παιονιδίνης με την μέθοδο HPLC, οι ανθοκυάνες εκφράζονται ως προς τη μαλβιδίνη σε mg/L οίνου. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c)

είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Στο διάγραμμα της παιονιδίνης 3.18, το δείγμα L12 παρουσιάζει την υψηλότερη συγκέντρωση, σχεδόν 1,0, γεγονός που υποδεικνύει ότι η παρατεταμένη αφυδάτωση του διατηρεί τη χρωστική σε υψηλά επίπεδα. Αντίθετα, το δείγμα X, το οποίο δεν έχει υποστεί αφυδάτωση, έχει τη χαμηλότερη συγκέντρωση, σχεδόν μηδενική. Στο δείγμα L8, η συγκέντρωση κυμαίνεται γύρω από 0,2, υποδεικνύοντας ότι η αρχική αφυδάτωση έχει αρχίσει να επηρεάζει τις χρωστικές ουσίες. Η αύξηση των συγκεντρώσεων στα L8 και L12 μπορεί να αποδοθεί στη συμπίκνωση της χρωστικής λόγω της αφυδάτωσης, η οποία μπορεί να έχει οδηγήσει σε υψηλότερες αναλογίες της ουσίας στα συγκεκριμένα δείγματα. Οι στατιστικές διαφορές (a, b) δείχνουν ότι η διάρκεια της αφυδάτωσης είναι κρίσιμη για τη συγκέντρωση της παιονιδίνης.

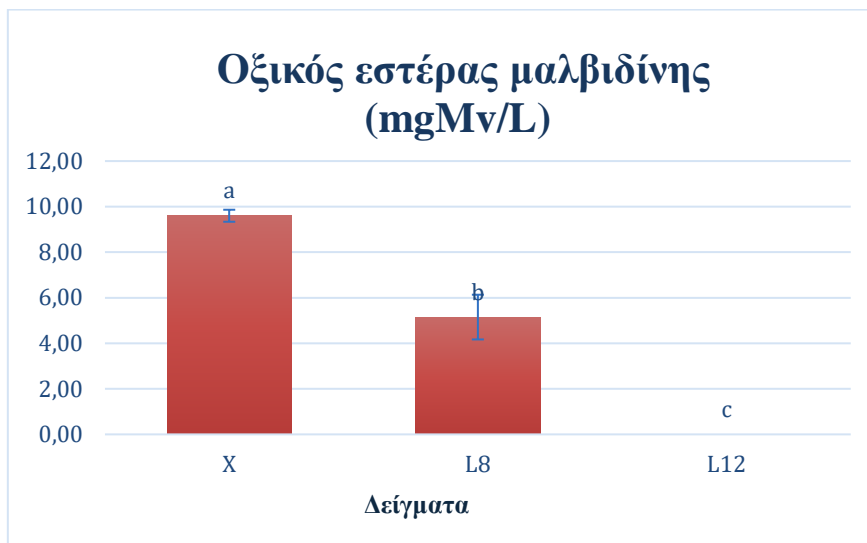
3.2.6.5 Μαλβιδίνη (Mv)



Διάγραμμα 3.19 Συγκέντρωση της Μαλβιδίνης με την μέθοδο HPLC, οι ανθοκυάνες εκφράζονται ως προς τη μαλβιδίνη σε mg/L οίνου. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Στο διάγραμμα της μαλβιδίνης 3.19, το δείγμα X (μάρτυρας) παρουσιάζει την υψηλότερη συγκέντρωση, υποδηλώνοντας ότι η απουσία αφυδάτωσης ευνοεί τη συγκέντρωση της χρωστικής. Στο δείγμα L8 (λιάσιμο 8 ημερών), η συγκέντρωση μειώνεται σε περίπου 30,000, ενώ στο L12 (λιάσιμο 12 ημερών) καταγράφεται περαιτέρω πτώση κοντά στις 10,000. Αυτή η μείωση υποδεικνύει ότι η παρατεταμένη αφυδάτωση έχει αρνητική επίδραση στη συγκέντρωση της μαλβιδίνης, πιθανόν λόγω χημικών αντιδράσεων που οδηγούν στην αποικοδόμηση της χρωστικής. Οι ετικέτες (a, b, c) καταδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

3.2.6.6 Οξικός εστέρας μαλβιδίνης (Mv-ac)

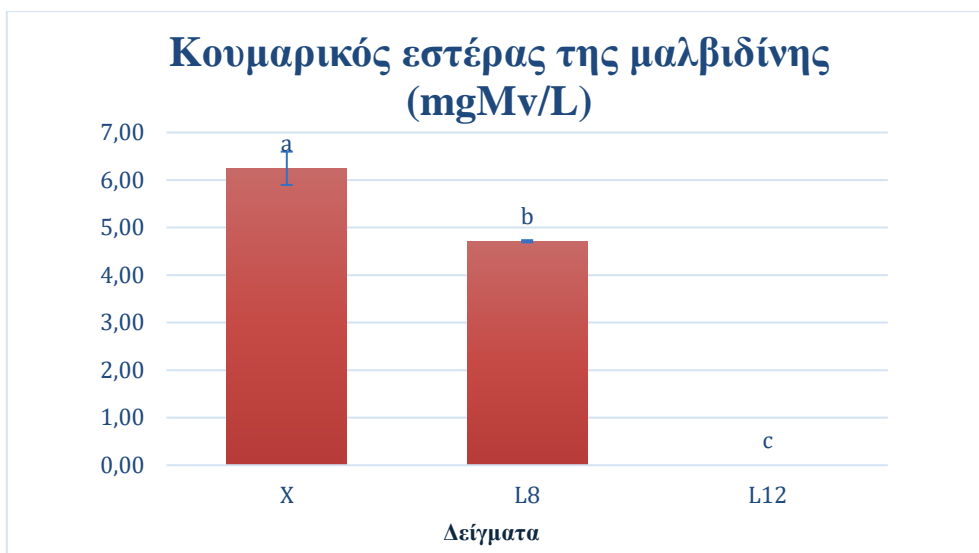


Διάγραμμα 3.20 Συγκέντρωση του Οξικού εστέρα με την μέθοδο HPLC, οι ανθοκυάνες εκφράζονται ως προς τη μαλβιδίνη σε mg/L οίνου. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Στο διάγραμμα του οξικού εστέρα της μαλβιδίνης 3.20, παρατηρείται ότι το δείγμα X έχει την υψηλότερη συγκέντρωση, σχεδόν 12,0, υποδεικνύοντας ότι η απουσία λιασίματος συμβάλλει στη διατήρηση της χρωστικής. Αντίθετα, στο δείγμα L8, η συγκέντρωση μειώνεται σε περίπου 8,0, ενώ στο L12 πλησιάζει το 4,0. Αυτή η σταδιακή πτώση υποδηλώνει ότι η παρατεταμένη αφυδάτωση έχει σημαντική επίδραση στη συγκέντρωση του οξικού εστέρα, πιθανόν λόγω διάσπασης της χρωστικής υπό ακραίες συνθήκες. Οι στατιστικές ετικέτες (a, b) καταδεικνύουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων, επισημαίνοντας τη σημασία της προσεκτικής διαχείρισης της αφυδάτωσης για την επίτευξη των επιθυμητών χαρακτηριστικών του οίνου.

3.2.6.7 Κουμαρικός εστέρας της μαλβιδίνης (Mv-coum)

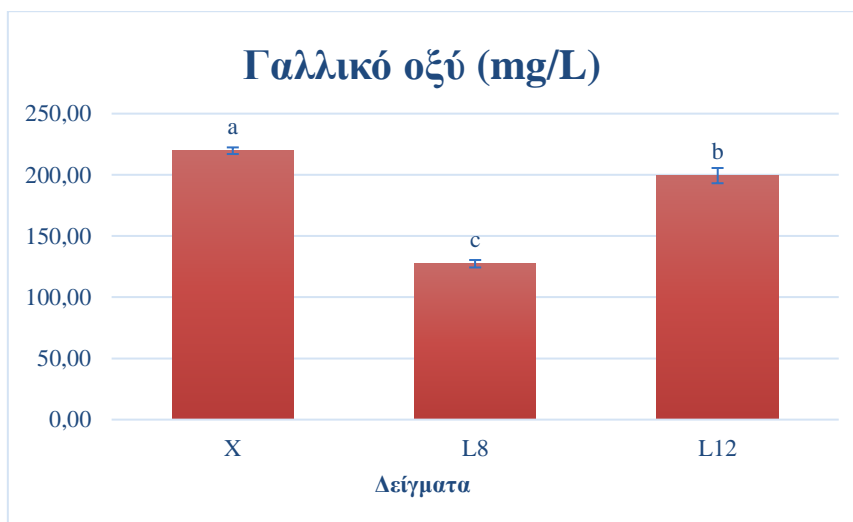
Στο διάγραμμα του κουμαρικού εστέρα της μαλβιδίνης (Διάγραμμα 3.21), παρατηρείται ότι το δείγμα X παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση, γεγονός που υποδηλώνει ότι η απουσία λιασίματος συμβάλλει στη διατήρηση της χρωστικής. Στο δείγμα L8 η συγκέντρωση εμφανίζεται μειωμένη, ενώ στο δείγμα L12 παρατηρείται ακόμη μεγαλύτερη μείωση. Η σταδιακή αυτή πτώση δείχνει ότι η παρατεταμένη αφυδάτωση επηρεάζει αρνητικά τη συγκέντρωση του κουμαρικού εστέρα, πιθανώς λόγω διάσπασης της χρωστικής υπό έντονες συνθήκες αφυδάτωσης. Οι στατιστικές ενδείξεις (a, b) επιβεβαιώνουν τις σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων.



Διάγραμμα 3.21 Συγκέντρωση του Κουμαρικού εστέρα της μαλβιδίνης με την μέθοδο HPLC, οι ανθοκυάνες εκφράζονται ως προς τη μαλβιδίνη σε mg/L οίνου. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

3.2.7 Αποτελέσματα HPLC για μονομερή και ολιγομερή φαινολικά

3.2.7.1 Γαλλικό οξύ

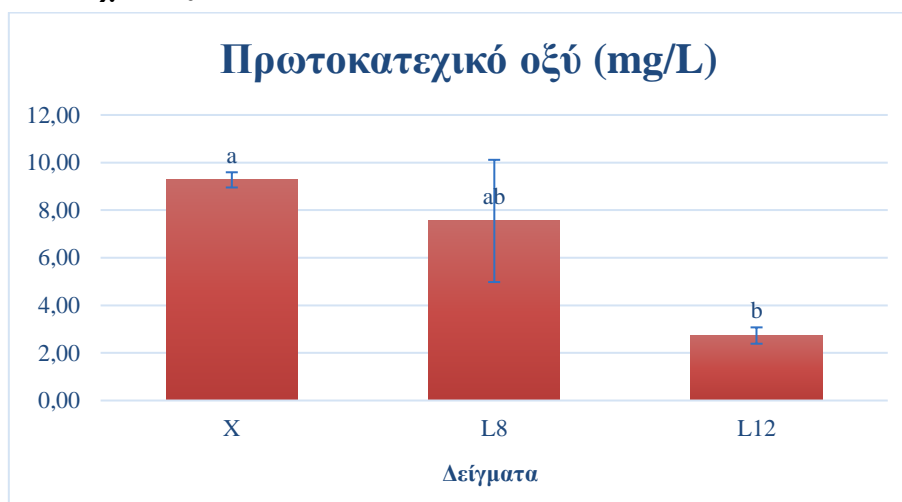


Διάγραμμα 3.22 Συγκέντρωση του γαλλικού οξέος με την μέθοδο HPLC, σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Στο διάγραμμα του γαλλικού οξέος 3.22, η συγκέντρωση κυμαίνεται ανάμεσα στα δείγματα X (μάρτυρας), L8 (λιάσιμο για 8 μέρες) και L12 (λιάσιμο για 12 μέρες), με το δείγμα X να παρουσιάζει την υψηλότερη συγκέντρωση, υποδεικνύοντας ότι η απουσία αφυδάτωσης, επιτρέπει τη διατήρηση αυτού του οξέος, το οποίο είναι σημαντικό για την οργανοληπτική ποιότητα του οίνου. Οι μειώσεις στα L8 και L12 μπορεί να οφείλονται σε χημικές αποικοδομήσεις, όπως η οξειδωση, που συμβαίνουν κατά την διάρκεια της επεξεργασίας. Οι

στατιστικές διαφορές (a, b, c) επιβεβαιώνουν ότι οι συγκεντρώσεις διαφέρουν σημαντικά, τονίζοντας τη σημασία της διαχείρισης της αφυδάτωσης στην οινοποίηση.

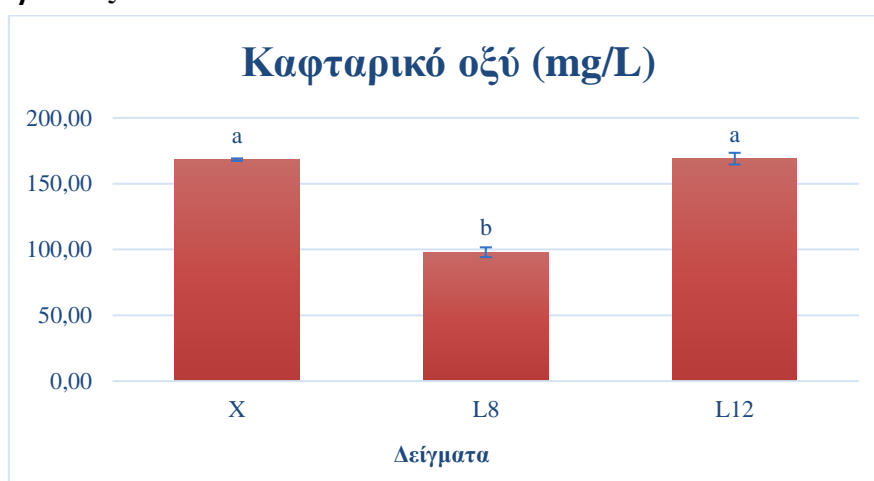
3.2.7.2 Πρωτοκατεχικό οξύ



Διάγραμμα 3.23 Συγκέντρωση του πρωτοκατεχικού οξέος με την μέθοδο HPLC, σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Οι συγκεντρώσεις του πρωτοκατεχικού οξέος όπως παρατηρείται στο διάγραμμα 3.23, είναι υψηλότερες στο δείγμα X και μειώνονται στα L8 και L12, υποδεικνύοντας ότι η μη εφαρμογή αφυδάτωσης βοηθά στη διατήρησή του. Οι μειώσεις στα L8 και L12 σχετίζονται με χημικές αντιδράσεις που προκύπτουν κατά την διάρκεια της επεξεργασίας, ενώ τυχόν πειραματικά λάθη μπορεί να έχουν συμβάλει στη διακύμανση των αποτελεσμάτων. Η στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της συγκέντρωσης του πρωτοκατεχικού οξέος στο μάρτυρα X και του δείγματος L12 πιθανώς υποδεικνύει ότι η αυξημένη διάρκεια λιασίματος έως τις 12 μέρες είναι που επιφέρει ουσιαστικά μείωση της συγκέντρωσής της.

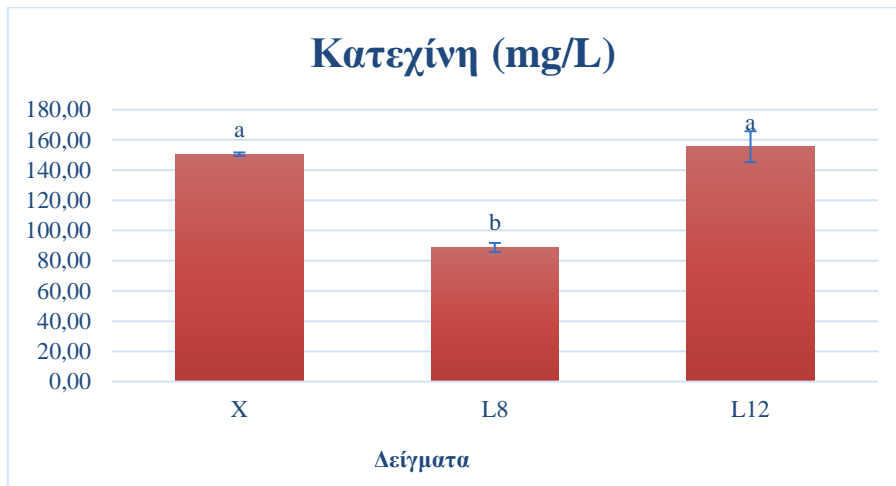
3.2.7.3 Καφταρικό οξύ



Διάγραμμα 3.24 Συγκέντρωση του καφταρικού οξέους με την μέθοδο HPLC, σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Παρατηρούμε στο διάγραμμα 3.24 ότι τα δείγματα X και L12 έχουν παρόμοιες και τις υψηλότερες συγκεντρώσεις καφταρικού οξέος, όπως υποδεικνύεται από τη μη ύπαρξη στατιστικής διαφοράς μεταξύ τους (γράμμα a). Αντίθετα, το δείγμα L8 παρουσιάζει σημαντικά χαμηλότερη συγκέντρωση, όπως δείχνει η στατιστική διαφορά που σημειώνεται με το γράμμα b. Η μείωση της συγκέντρωσης στο δείγμα L8 μπορεί να αποδοθεί σε χημικές διεργασίες που οδηγούν στην αποικοδόμηση του καφταρικού οξέος. Η αύξηση της συγκέντρωσης στο δείγμα L12, μετά από 12 ημέρες λιασίματος, πιθανότατα οφείλεται στη συμπύκνωση του καφταρικού οξέος λόγω της απομάκρυνσης νερού κατά τη διάρκεια της αφυδάτωσης.

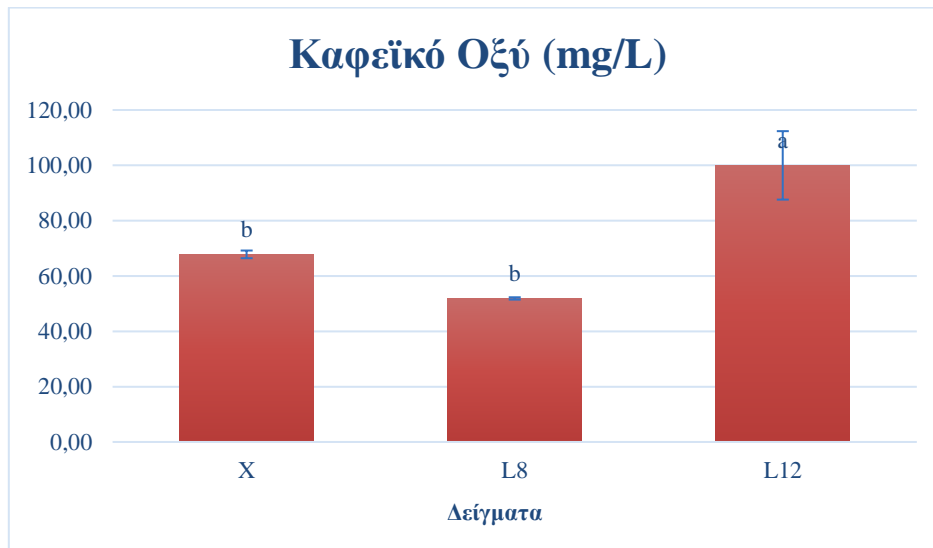
3.2.7.4 Κατεχίνη



Διάγραμμα 3.25 Συγκέντρωση της κατεχίνης με την μέθοδο HPLC, σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Η συγκέντρωση της κατεχίνης (βλ. Διάγραμμα 3.25) παραμένει υψηλή στα δείγματα X (μάρτυρας) και L12 (λιάσιμο για 12 ημέρες), χωρίς να παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Στο δείγμα L8 (λιάσιμο για 8 ημέρες), η συγκέντρωση της κατεχίνης εμφανίζεται μειωμένη, με στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τα δείγματα X και L12. Η επίδραση της αφυδάτωσης στη συγκέντρωση της κατεχίνης φαίνεται να είναι περιορισμένη, καθώς οι διαφορές μεταξύ των δειγμάτων X και L12 δεν είναι στατιστικά σημαντικές. Η μειωμένη συγκέντρωση της κατεχίνης στο δείγμα L8 μπορεί να οφείλεται σε αποικοδόμηση της ένωσης κατά τη διάρκεια του λιασίμου, ενώ η αύξηση στο δείγμα L12 πιθανώς σχετίζεται με τη συμπύκνωση λόγω της απομάκρυνσης νερού κατά τη διαδικασία της αφυδάτωσης.

3.2.7.5 Καφεϊκό Οξύ

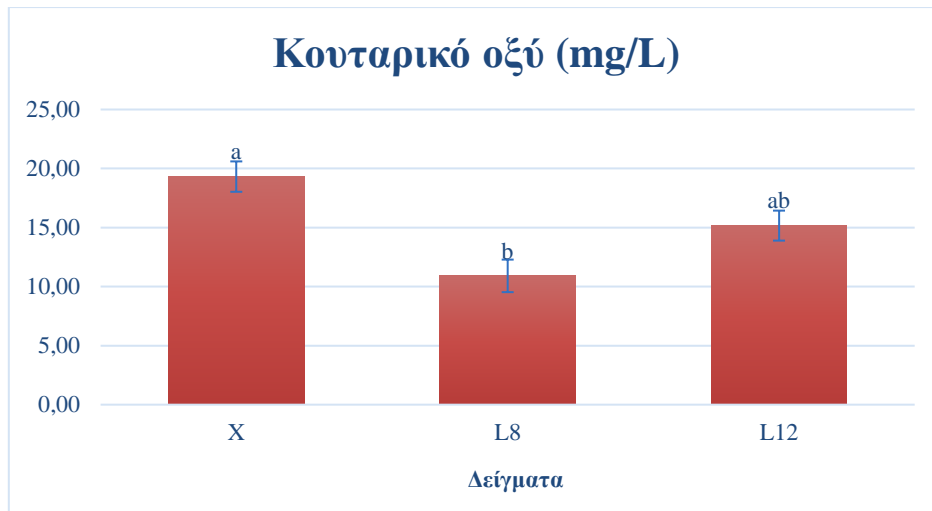


Διάγραμμα 3.26 Συγκέντρωσης του καφεϊκού οξέους με την μέθοδο HPLC, σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Βάσει των παρατηρήσεων για το δείγμα L12 (β. διάγραμμα 3.26), σημειώνεται ότι η συγκέντρωση καφεϊκού οξέος είναι η υψηλότερη, ενώ στα δείγματα X και L8 οι συγκεντρώσεις είναι στατιστικά πιο κοντά. Αυτό υποδεικνύει ότι η αυξημένη συγκέντρωση στο L12 πιθανόν να σχετίζεται με τις φυσικοχημικές διεργασίες που συμβαίνουν κατά τη διαδικασία του λιασίματος και της ωρίμανσης. Η στατιστική ανάλυση επιβεβαιώνει τη διαφοροποίηση των δειγμάτων, με το L12 να εμφανίζει σημαντική αύξηση. Αυτό υποστηρίζει την υπόθεση ότι η υψηλή συγκέντρωση στο δείγμα L12 δεν είναι τυχαία, αλλά αποτέλεσμα των μεταβολών που λαμβάνουν χώρα κατά τη μεγαλύτερη διάρκεια λιασίματος. Παράλληλα, μπορεί να υπάρχουν μηχανισμοί που ευνοούν την αποδέσμευση ή τον σχηματισμό του καφεϊκού οξέος κατά την αλληλεπίδραση των φαινολικών ενώσεων με την παρατεταμένη διάρκεια λιασίματος. Συνολικά, η διαδικασία του λιασίματος φαίνεται να επηρεάζει θετικά τη συγκέντρωση του καφεϊκού οξέος, με το δείγμα L12 να καταδεικνύει την επίδραση της αυξημένης διάρκειας λιασίματος στη χημική σύνθεση του τελικού προϊόντος.

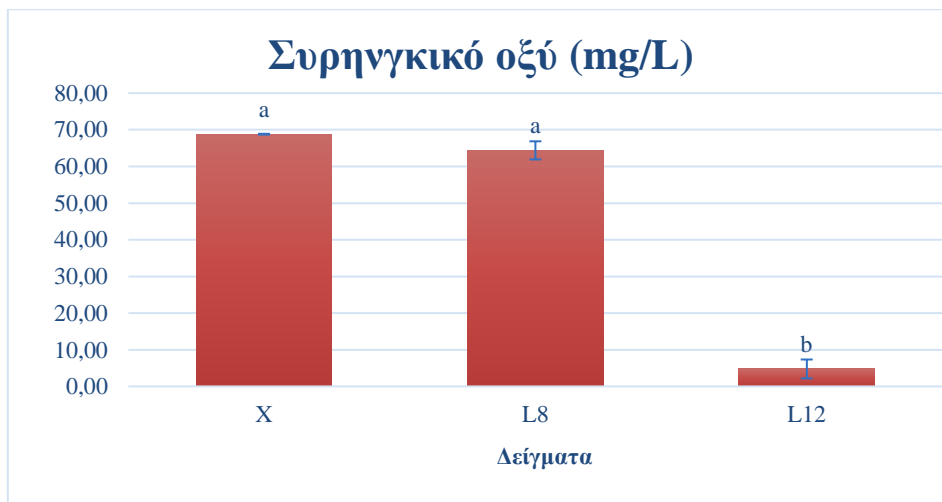
3.2.7.6 Κουταρικό οξύ

Στα δείγματα L8 (λιάσιμο για 8 μέρες) και L12 (λιάσιμο για 12 μέρες) (βλ. Διάγραμμα 3.27) σημειώνεται στατιστικά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης κουταρικού οξέος, η οποία οφείλεται στις χημικές διεργασίες που συνδέονται με το λιάσιμο. Η έκθεση των σταφυλιών στον ήλιο και σε υψηλές θερμοκρασίες μπορεί να προκαλέσει φωτοχημικές αντιδράσεις που διασπών το κουταρικό οξύ, οδηγώντας σε μείωση της συγκέντρωσής του. Οι στατιστικές διαφορές (a, b) επιβεβαιώνουν το συμπέρασμα.



Διάγραμμα 3.27 Συγκέντρωση του κουταρικού οξέους με την μέθοδο HPLC, σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

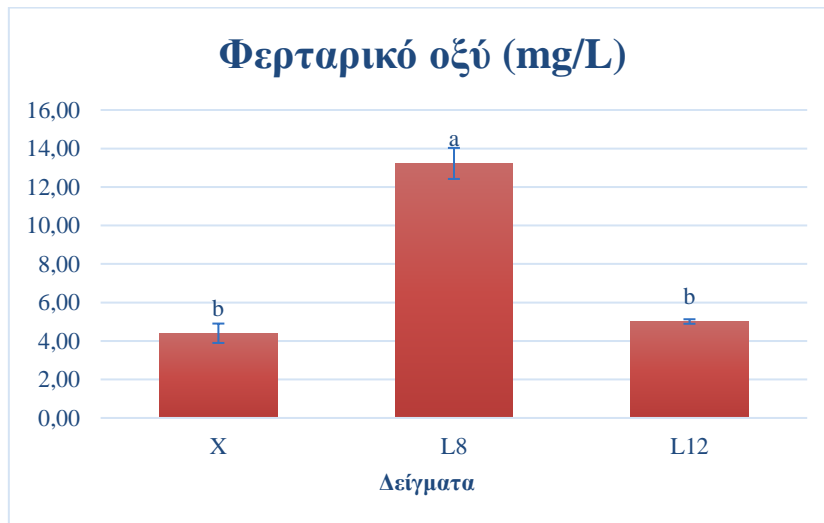
3.2.7.7 Σιρηνγικό οξύ



Διάγραμμα 3.28 Συγκέντρωση του Σιρηνγικού οξέους με την μέθοδο HPLC, σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Στα δείγματα L8 (λιάσιμο για 8 μέρες) και L12 (λιάσιμο για 12 μέρες), (βλ. Διάγραμμα 3.28) παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης του σιρηνγικού οξέος, η οποία μπορεί να οφείλεται σε χημικές αντιδράσεις που συμβαίνουν κατά την αφυδάτωσή. Ειδικότερα, το δείγμα L8 δεν φαίνεται να επηρεάζεται αρνητικά από τη διάρκεια των 8 ημερών λιασίματος, ενώ η μεγαλύτερη διασπαστική επίδραση παρατηρείται μεταξύ της 8ης και της 12ης ημέρας, όπου η συγκέντρωση μειώνεται σημαντικά. Οι στατιστικές αναλύσεις το επιβεβαιώνουν.

3.2.7.8 Φερταρικό οξύ

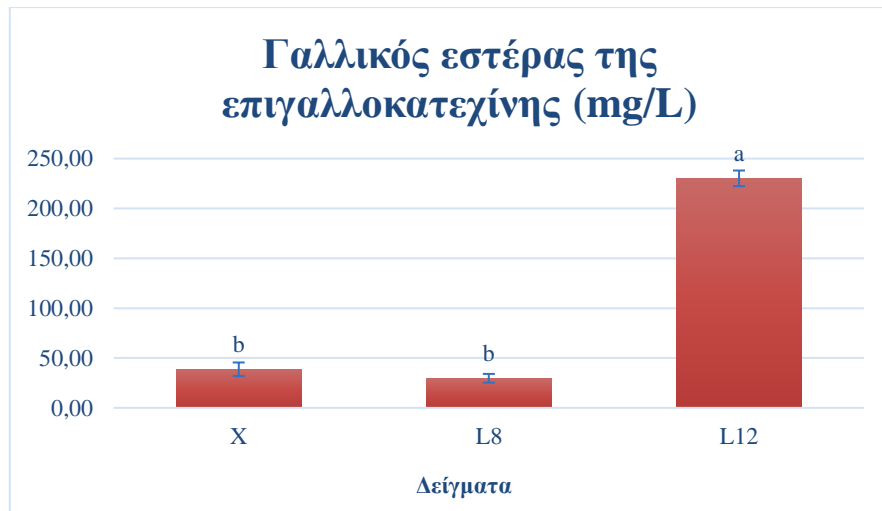


Διάγραμμα 3.29 Συγκέντρωση του φερταρικού οξέους με την μέθοδο HPLC, σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Στο διάγραμμα του φερταρικού οξέος 3.29, το δείγμα L8 (λιάσιμο για 8 μέρες) εμφανίζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση, ενώ τα δείγματα X και L12 παρουσιάζουν χαμηλότερες τιμές. Οι στατιστικές διαφορές (a, b) υποδεικνύουν ότι η συγκέντρωση στο L8 είναι σημαντικά υψηλότερη από εκείνη στο δείγμα X. Επιπλέον, η διαφορά μεταξύ των δειγμάτων L8 και L12 είναι επίσης στατιστικά σημαντική, γεγονός που υποδεικνύει τη διαφορετική επίδραση της διάρκειας της διαδικασίας λιασίματος στο φερταρικό οξύ. Συμπεραίνουμε ότι το λιάσιμο για 8 ημέρες έχει τη μεγαλύτερη επίδραση στη συγκέντρωση της ένωσης, υποδεικνύοντας πιθανώς τη βέλτιστη διάρκεια για την ενίσχυση της περιεκτικότητας του φερταρικού οξέος. Η παρατηρούμενη αύξηση στο δείγμα L8 μπορεί να σχετίζεται με την απομάκρυνση του νερού λόγω της αφυδάτωσης του φρούτου, γεγονός που αυξάνει τη συγκέντρωση του φερταρικού οξέος. Από την άλλη πλευρά, η μικρότερη συγκέντρωση στο L12 μπορεί να οφείλεται σε περαιτέρω αποδόμηση του φερταρικού οξέος ή σε απώλειες λόγω μεγαλύτερης έκθεσης στο περιβάλλον, όπως οξείδωση ή έντονη αποικοδόμηση που προκύπτει από την μεγαλύτερη παραμονή των σταφυλιών στον ήλιο.

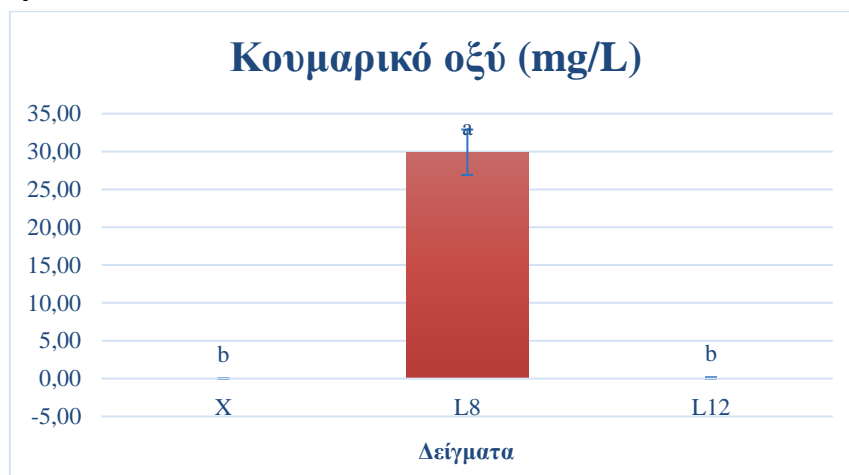
3.2.7.9 Γαλλικός εστέρας της επιγαλλοκατεχίνης

Στο διάγραμμα του γαλλικού εστέρα της επιγαλλοκατεχίνης 3.30, το δείγμα L8 έχει συγκέντρωση ελαφρώς χαμηλότερη από το X, αλλά οι διαφορές τους δεν είναι στατιστικά σημαντικές, υποδηλώνοντας ότι οι συγκεντρώσεις τους είναι πολύ κοντά. Στο L12 παρατηρούμε ότι η αφυδάτωση μέσω λιασίματος έχει θετική επίδραση στη συγκέντρωση του γαλλικού εστέρα της επιγαλλοκατεχίνης. Ωστόσο, η απουσία σημαντικής διαφοράς μεταξύ των X και L8 δείχνει ότι οι 8 ημέρες λιασίματος δεν έχουν τον ίδιο ενισχυτικό αντίκτυπο όπως οι 12 ημέρες. Επίσης οι στατιστικές διαφορές (a, b) δείχνουν ότι η συγκέντρωση στο L12 είναι σημαντικά υψηλότερη από το X.



Διάγραμμα 3.30 Συγκέντρωση του γαλλικού εστέρα της επιγαλλοκατεχίνης με την μέθοδο HPL, σε mg/L.. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

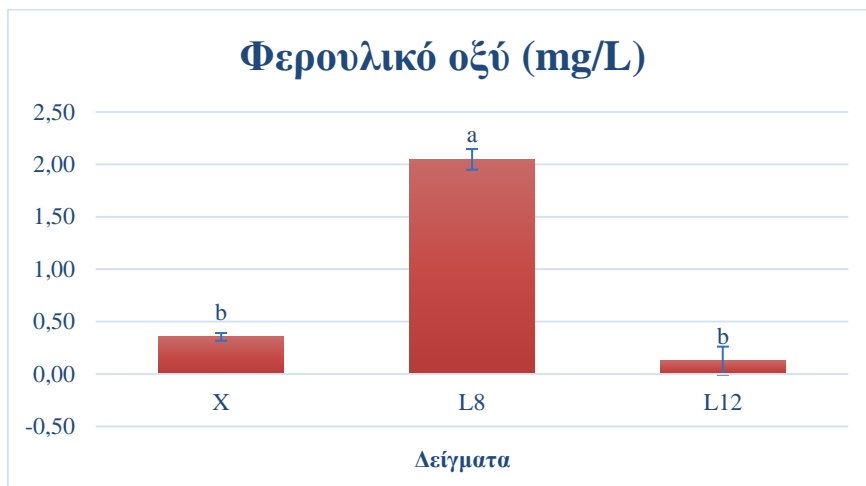
3.2.7.10 Κουμαρικό οξύ



Διάγραμμα 3.31 Συγκέντρωση του κουμαρικού οξέος με την μέθοδο HPLC, σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Στο διάγραμμα του κουμαρικού οξέος 3.31, το δείγμα L8 εμφανίζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση, ενώ τα δείγματα X και L12 έχουν χαμηλότερες τιμές. Οι στατιστικές διαφορές (a, b) δείχνουν ότι η συγκέντρωση στο L8 είναι σημαντικά υψηλότερη από αυτή του X. Επιπλέον, η διαφορά μεταξύ των L8 και L12 είναι στατιστικά σημαντική, γεγονός που υποδεικνύει την πιθανή επίδραση της διάρκειας της διαδικασίας λιασίματος στη συγκέντρωση του κουμαρικού οξέους. Η υψηλή συγκέντρωση στο δείγμα L8 ενδέχεται να σχετίζεται με την απομάκρυνση του νερού λόγω της αφυδάτωσης, η οποία αυξάνει τη συγκέντρωση της ένωσης. Από την άλλη, η μικρότερη συγκέντρωση στο δείγμα L12 μπορεί να αποδοθεί σε πιθανή αποικοδόμηση του κουμαρικού οξέος λόγω παρατεταμένης έκθεσης ή σε άλλους μηχανισμούς όπως οξείδωση. Συνεπώς, η διάρκεια της διαδικασίας λιασίματος φαίνεται να παίζει καθοριστικό ρόλο στη συγκέντρωση του οξέους. Είναι σημαντικό να διερευνηθεί περαιτέρω ο μηχανισμός με τον οποίο η αφυδάτωση επηρεάζει τη συγκέντρωση του κουμαρικού οξέους, ώστε να κατανοηθεί καλύτερα ο ρόλος της στη διατήρηση αυτού του οξέος και στη συνολική ποιότητα του οίνου.

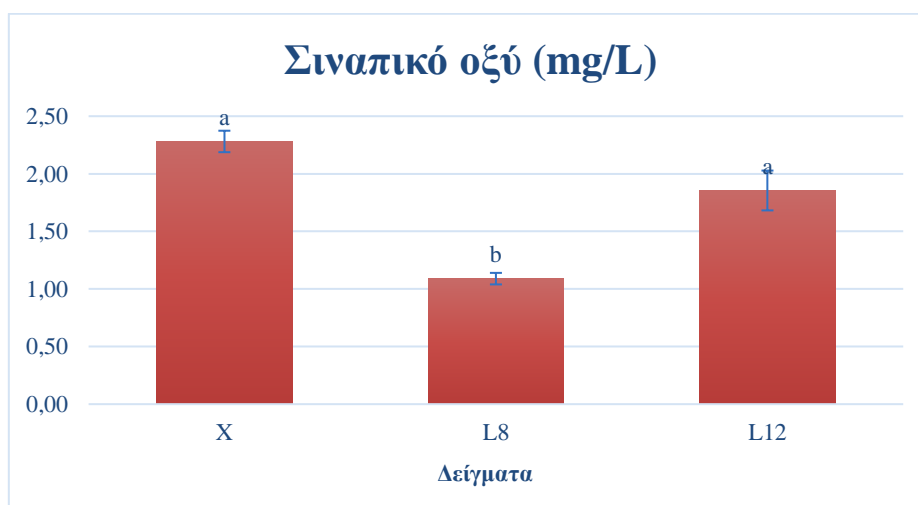
3.2.7.11 Φερουλικό οξύ



Διάγραμμα 3.32 Συγκέντρωση του φερουλικού οξέους με την μέθοδο HPLC, σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Στο διάγραμμα του φερουλικού οξέος (3.32), το δείγμα L8 εμφανίζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση, ενώ τα δείγματα X και L12 παρουσιάζουν χαμηλότερες τιμές. Οι στατιστικές διαφορές (a, b) υποδεικνύουν ότι η συγκέντρωση στο L8 είναι σημαντικά υψηλότερη από εκείνη στο δείγμα X. Επιπλέον, η διαφορά μεταξύ των δειγμάτων L8 και L12 είναι επίσης στατιστικά σημαντική, γεγονός που ενδέχεται να οφείλεται στη διαφορετική επίδραση της διάρκειας λιασίματος στη συγκέντρωση του φερουλικού οξέος. Η υψηλή συγκέντρωση στο δείγμα L8 πιθανόν να σχετίζεται με τη διαδικασία αφυδάτωσης, η οποία μειώνει την περιεκτικότητα του νερού στο φρούτο, αυξάνοντας τη συγκέντρωση του φερουλικού οξέος. Από την άλλη πλευρά, η χαμηλότερη συγκέντρωση στο L12 ενδέχεται να οφείλεται σε αποικοδόμηση του φερουλικού οξέος ή σε άλλους μηχανισμούς, όπως οξείδωση ή μεταβολές που προκύπτουν από την παρατεταμένη έκθεση.

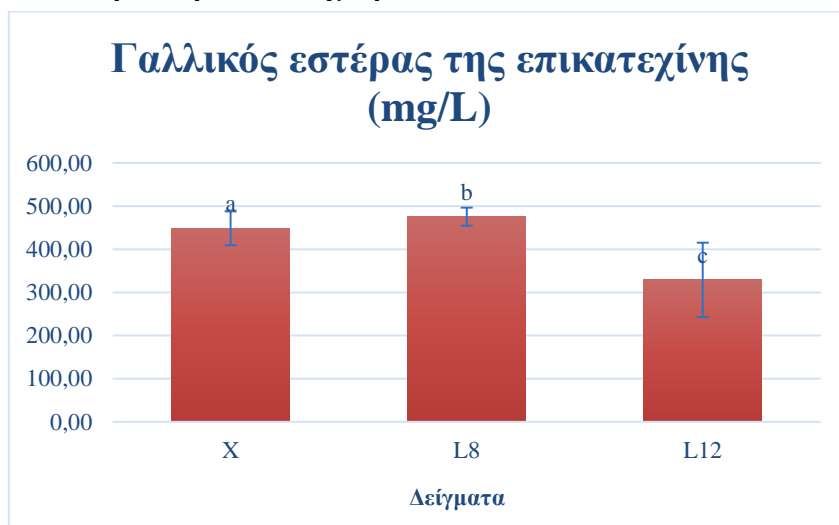
3.2.7.12 Σιναπικό οξύ



Διάγραμμα 3.33 Συγκέντρωση του σιναπικού οξέους με την μέθοδο HPLC, σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Στο διάγραμμα 3.33, οι συγκεντρώσεις του σιναπικού οξέος διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των δειγμάτων. Το δείγμα X (μάρτυρας) εμφανίζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση, ενώ το L8 (λιάσιμο 8 ημερών) καταγράφει σημαντικά χαμηλότερες τιμές. Οι στατιστικές διαφορές (a, b) επιβεβαιώνουν ότι η συγκέντρωση στο L8 είναι σημαντικά μειωμένη σε σχέση με το X. Ωστόσο, η συγκέντρωση του σιναπικού οξέος στο L12 (λιάσιμο για 12 ημέρες) αυξάνεται σε επίπεδα κοντά σε αυτά του X, χωρίς η διαφορά να είναι στατιστικά σημαντική. Η αύξηση της συγκέντρωσης στο L12 ενδέχεται να σχετίζεται με την έντονη αφυδάτωση, η οποία οδηγεί σε απώλεια νερού από το φρούτο και, συνεπώς, σε αύξηση της συγκέντρωσης της ένωσης λόγω συμπύκνωσης. Από την άλλη πλευρά, η μείωση που παρατηρείται στο L8 πιθανόν να οφείλεται σε χημικές αντιδράσεις ή προσωρινή αποδόμηση του σιναπικού οξέος, οι οποίες λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια του αρχικού σταδίου του λιασίματος. Ως εκ τούτου, προτείνεται περαιτέρω έρευνα για να επιβεβαιωθεί η επίδραση της αφυδάτωσης στην τελική συγκέντρωση του σιναπικού οξέους.

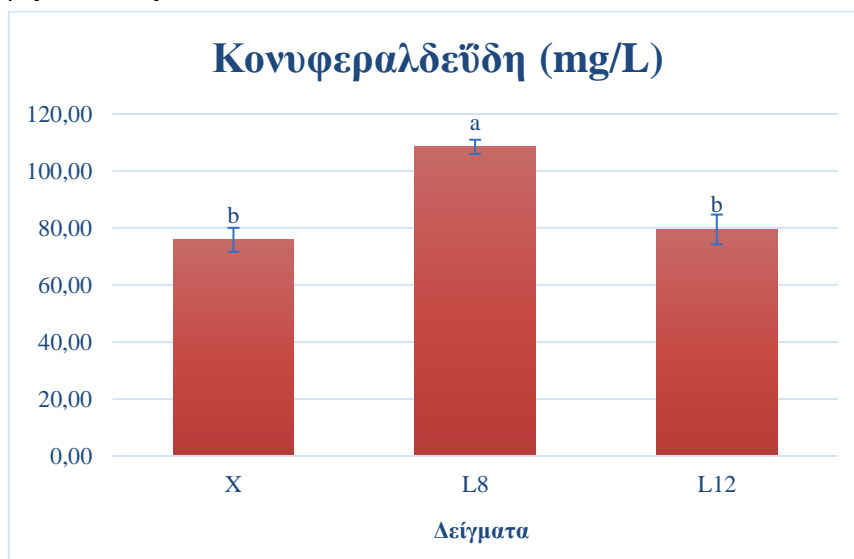
3.2.7.13 Γαλλικός εστέρας της επικατεχίνης



Διάγραμμα 3.34 Συγκέντρωση του γαλλικού εστέρα της επικατεχίνης με την μέθοδο HPLC, σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Παρατηρούμε στο διάγραμμα 3.34 ότι η συγκέντρωση του γαλλικού εστέρα της επικατεχίνης είναι υψηλότερη στο δείγμα L8, ακολουθούμενη από το δείγμα X, ενώ το δείγμα L12 παρουσιάζει τη χαμηλότερη συγκέντρωση. Οι στατιστικές αναλύσεις δείχνουν ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων, όπως υποδεικνύεται από τα διαφορετικά γράμματα (a, b, c). Το αποτέλεσμα αυτό δείχνει ότι το λιάσιμο και η διάρκειά του επηρεάζουν τη συγκέντρωση του γαλλικού εστέρα της επικατεχίνης, με τη μείωση που παρατηρείται στο δείγμα L12 να οφείλεται πιθανότατα σε αποικοδόμηση της ένωσης λόγω μεγαλύτερης διάρκειας έκθεσης.

3.2.7.14 Κονυφεραλδεΐδη

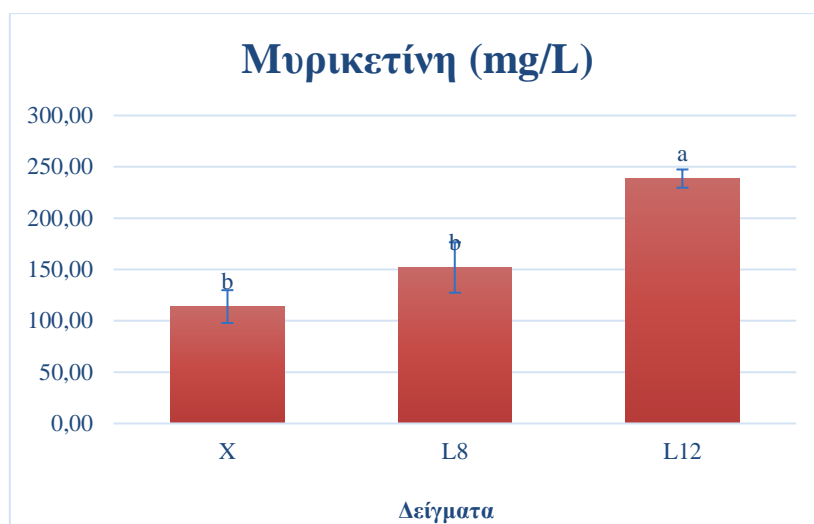


Διάγραμμα 3.35 Συγκέντρωση της κονυφεραλδεΐδης με την μέθοδο HPLC, σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Στο διάγραμμα 3.35, οι συγκεντρώσεις της κονυφεραλδεΐδης διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των δειγμάτων. Το δείγμα X (μάρτυρας) παρουσιάζει τη χαμηλότερη συγκέντρωση, ενώ το L8 (λιάσιμο για 8 μέρες) καταγράφει σημαντικά υψηλότερη τιμή. Οι στατιστικές διαφορές (a, b) δείχνουν ότι η συγκέντρωση στο L8 είναι σημαντικά αυξημένη σε σύγκριση με το X. Ωστόσο, η συγκέντρωση της κονυφεραλδεΐδης στο L12 (λιάσιμο για 12 μέρες) μειώνεται σε επίπεδα κοντά σε αυτά του X, χωρίς η διαφορά να είναι στατιστικά σημαντική. Η αύξηση της συγκέντρωσης στο L8 πιθανόν να οφείλεται στη συμπύκνωση κατά τη διάρκεια της αφυδάτωσης, όπου η απώλεια νερού αυξάνει τη συγκέντρωση της ένωσης. Η επακόλουθη μείωση στο L12 ενδέχεται να σχετίζεται με διεργασίες αποικοδόμησης ή μεταβολές στις χημικές ιδιότητες της κονυφεραλδεΐδης μετά την 8η ημέρα λιασίματος.

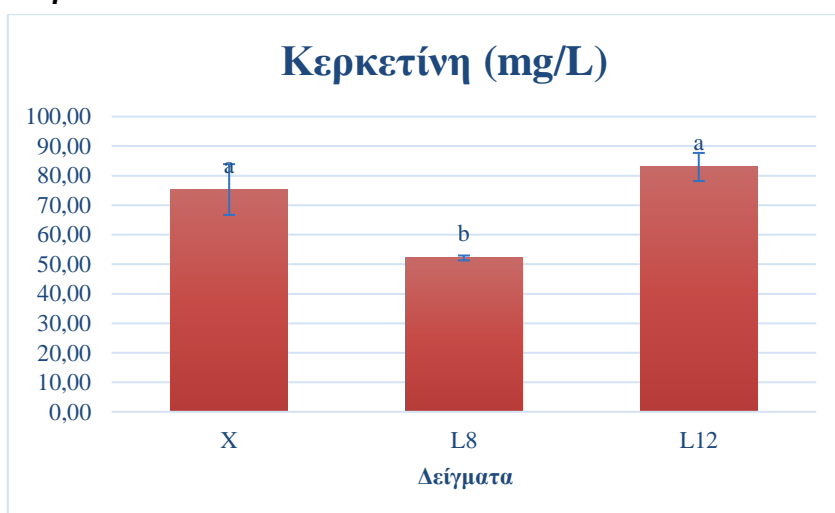
3.2.7.15 Μυρικετίνη

Στο διάγραμμα 3.36, οι συγκεντρώσεις της μυρικετίνης διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των δειγμάτων. Το δείγμα X καταγράφει τη χαμηλότερη συγκέντρωση, ακολουθούμενο από το L8, ενώ το L12 εμφανίζει τη μεγαλύτερη τιμή. Οι στατιστικές διαφορές (a, b) δείχνουν ότι η συγκέντρωση στο L12 είναι σημαντικά υψηλότερη από αυτή του X. Αυτή η παρατήρηση υποδεικνύει ότι η διαδικασία αφυδάτωσης έχει θετική επίδραση στην αύξηση της συγκέντρωσης της μυρικετίνης.



Διάγραμμα 3.36 Συγκέντρωση της μυρικετίνης με την μέθοδο HPLC, σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

3.2.7.16 Κερκετίνη



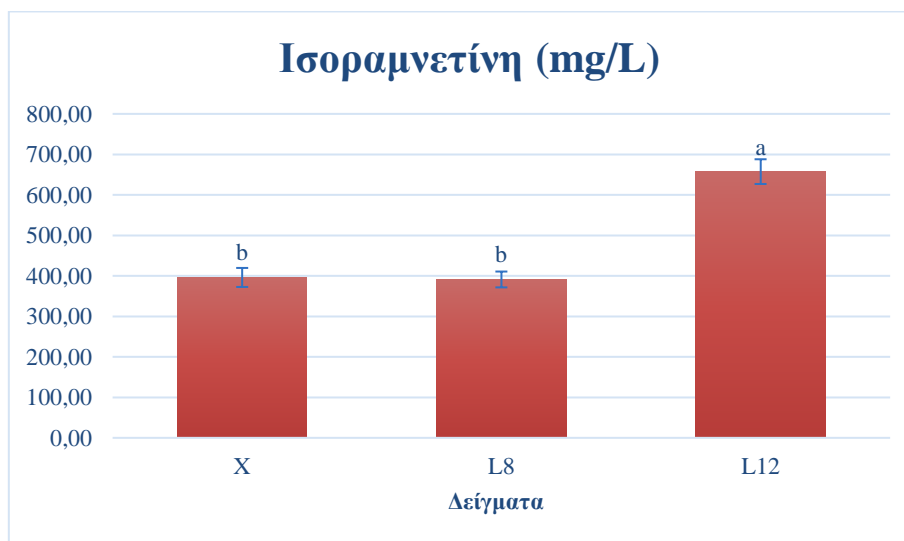
Διάγραμμα 3.37 Συγκέντρωση της κερκετίνης με την μέθοδο HPLC, σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

Στο διάγραμμα 3.37, το δείγμα L12 (λιάσιμο για 12 μέρες) καταγράφει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση της κερκετίνης, ενώ το L8 (λιάσιμο για 8 μέρες) εμφανίζει σημαντικά χαμηλότερη τιμή. Οι στατιστικές διαφορές (a, b) επιβεβαιώνουν ότι η συγκέντρωση στο L8 είναι μειωμένη σε σχέση με το X (μάρτυρας). Αντίθετα, η συγκέντρωση της κερκετίνης στο L12 αυξάνεται σε επίπεδα παρόμοια με αυτά του X, υποδηλώνοντας αύξηση της συγκέντρωσης της ένωσης στα αρχικά επίπεδα κατά τη μεγαλύτερη διάρκεια λιάσιμου. Η αρχική μείωση στο L8 πιθανώς οφείλεται σε ενδιάμεσες βιοχημικές διεργασίες κατά την αφυδάτωση, όπως η διάσπαση ή μετατροπή της κερκετίνης σε άλλες μορφές. Στη συνέχεια, η αύξηση στο L12 πιθανώς οφείλεται στη πιο εντατική εξάτμιση του νερού από το φρούτο, με αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης της ένωσης λόγω συμπύκνωσης. Συμπερασματικά, η διάρκεια του λιάσιμου φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στη συγκέντρωση της κερκετίνης, με το παρατεταμένο

λιάσιμο (12 μέρες) να συμβάλλει στην ανάκτηση της συγκέντρωσης της ένωσης. Η παρατήρηση αυτή υπογραμμίζει τη σημασία της σωστής ρύθμισης της διάρκειας λιάσιμου για τη βελτιστοποίηση της ποιότητας του τελικού προϊόντος.

3.2.7.17 Ισοραμνετίνη

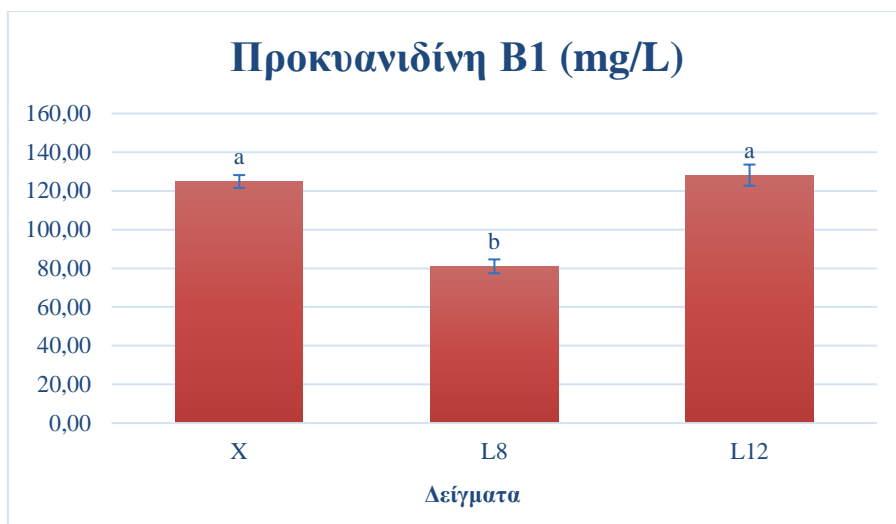
Στο διάγραμμα 3.38, το δείγμα L12 (λιάσιμο για 12 μέρες) παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση, ενώ τα δείγματα X (μάρτυρας) και L8 (λιάσιμο για 8 μέρες) έχουν χαμηλότερες τιμές. Οι στατιστικές διαφορές (a, b) δείχνουν ότι η συγκέντρωση στο L12 είναι σημαντικά υψηλότερη από αυτή των X και L8, γεγονός που υποδηλώνει ότι η διαδικασία αφυδάτωσης μπορεί να έχει θετική επίδραση στην αύξηση της συγκέντρωσης της ισοραμνετίνης. Αυτό ενισχύει την υπόθεση ότι η διάρκεια του λιασίματος, ειδικά οι 12 ημέρες, μπορεί να συμβάλλει στη βελτίωση της συγκέντρωσης της ένωσης. Η διαφορά των συγκεντρώσεων στα δείγματα X και L8, που είναι κοντά, υποδηλώνει ότι οι 8 ημέρες λιασίματος δεν είναι αρκετές για την αύξηση των επιπέδων της ισοραμνετίνης.



Διάγραμμα 3.38 Συγκέντρωση της ισοραμνετίνης με την μέθοδο HPLC, σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

3.2.7.18 Προκυανιδίνη B1

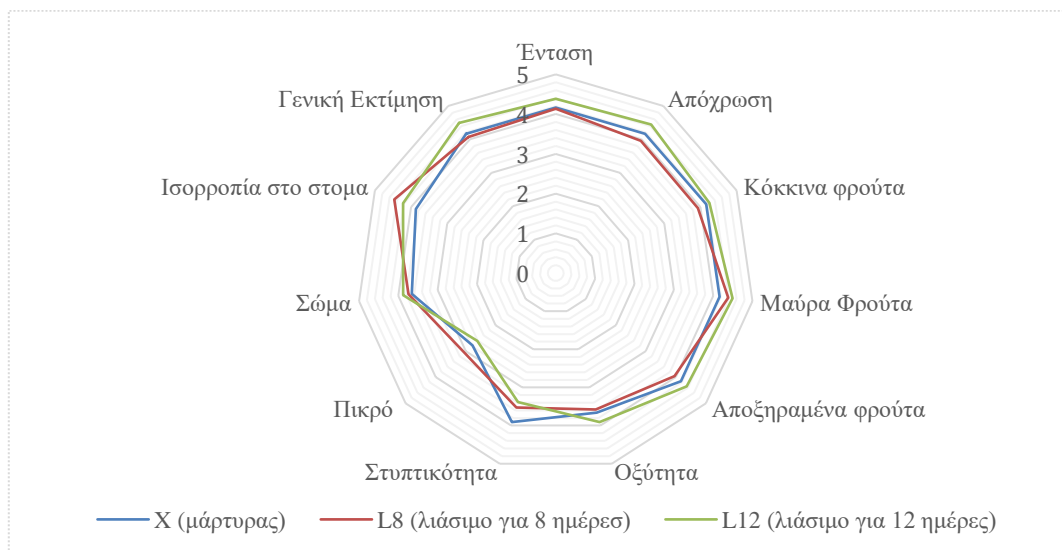
Στο διάγραμμα 3.39, το δείγμα X (μάρτυρας) παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση προκυανιδίνης B1, ενώ το L8 (λιασίμο για 8 ημέρες) εμφανίζει σημαντικά χαμηλότερη συγκέντρωση. Οι στατιστικές διαφορές (a, b) επιβεβαιώνουν ότι η συγκέντρωση της προκυανιδίνης B1 στο δείγμα L8 μειώνεται σε σχέση με το X. Επιπλέον, η συγκέντρωση στο δείγμα L12 (λιασίμο για 12 ημέρες) παραμένει σε επίπεδα κοντά σε αυτά του X, με τη στατιστική διαφορά να μην είναι σημαντική. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η εφαρμογή λιασίματος για 8 ημέρες (L8) μπορεί να συνδέεται με μείωση της συγκέντρωσης της προκυανιδίνης B1, ενώ η εφαρμογή για μεγαλύτερο διάστημα (12 ημέρες) φαίνεται να επαναφέρει τη συγκέντρωση σε επίπεδα παρόμοια με αυτά του μάρτυρα, πιθανόν λόγω εξάτμισης του νερού και αύξηση της συγκέντρωσης της ένωσης. Η παρατήρηση αυτή υποδηλώνει μια πιθανή επίδραση της διάρκειας του λιασίματος στη συγκέντρωση της προκυανιδίνης B1.



Διάγραμμα 3.39 Συγκέντρωση της προκυανιδίνης B1 με την μέθοδο HPLC, σε mg/L. (Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα (a, b, c) είναι σημαντικά διαφορετικές, σύμφωνα με το τεστ LSD του Fisher, με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.)

3.3 Αποτελέσματα Οργανοληπτικής Αξιολόγησης Ερυθρών Οίνων Λημνιώνας

Στα παρακάτω αποτελέσματα, παρουσιάζονται οι μέσες τιμές οργανοληπτικής αξιολόγησης τριών δειγμάτων ερυθρών οίνων ποικιλίας Λημνιώνας. Οι παράμετροι αφορούν την οπτική, οσφρητική, γευστική αξιολόγηση και την ισορροπία στο στόμα, καταλήγοντας σε μια συνολική γενική εκτίμηση της ποιότητας των οίνων.



Διάγραμμα 3.40: Αραχνόγραμμα των αποτελεσμάτων της οργανοληπτικής αξιολόγησης στα δείγματα X μάρτυρας, L8 οίνος από σταφύλια με λιάσιμο για 8 ημέρες, L12 οίνος από σταφύλια με λιάσιμο για 12 ημέρες.

3.3.1 Οπτική Αξιολόγηση

Στην ανάλυση της απόχρωσης και της έντασης των δειγμάτων, είναι σημαντική η διάκριση μεταξύ εργαστηριακών μετρήσεων και αισθητηριακής αξιολόγησης από γευσιγνώστες, καθώς οι δύο μέθοδοι αποτυπώνουν διαφορετικές πτυχές του προϊόντος. Στο εργαστήριο, παρατηρήθηκε ότι η παρατεταμένη διαδικασία λιασίματος αυξάνει την απόχρωση και την

ένταση. Τα δείγματα L8 και L12 είχαν παρόμοια υψηλή εργαστηριακή απόχρωση, συνδεδεμένη με πολυμερισμό και οξείδωση, που υποδηλώνουν υποβάθμιση της χημικής ποιότητας. Παρόμοια τάση παρατηρήθηκε και στην ένταση. Αντίθετα, οι γευσιγνώστες αξιολόγησαν την απόχρωση και την ένταση βάσει της αισθητηριακής εμπειρίας (βλ. **διάγραμμα 3.40**), όπου οι υψηλές τιμές, όπως στο δείγμα L12 (απόχρωση 4.4, ένταση 4.4), ίσως θεωρήθηκαν θετικές, προσδίδοντας πλούσια και ελκυστική εμφάνιση. Το L8 (3.9 απόχρωση, 4.1 ένταση) είχε πιο «φρέσκια» όψη λόγω μικρότερης επίδρασης του λιασίματος. Η σύγκριση αναδεικνύει ότι οι εργαστηριακές μετρήσεις καταγράφουν τη χημική κατάσταση, ενώ οι γευσιγνώστες αποτιμούν την αισθητική εντύπωση. Ενώ η υψηλή εργαστηριακή απόχρωση θεωρείται υποβάθμιση, η αισθητηριακή αξιολόγηση την ερμηνεύει συχνά ως θετικό χαρακτηριστικό, ενισχύοντας την ελκυστικότητα του προϊόντος.

3.3.2 Οσφρητική Αξιολόγηση

Στην κατηγορία των αρωμάτων, το δείγμα L12, όπως φαίνεται **στο διάγραμμα 3.40**, ξεχωρίζει με υψηλές βαθμολογίες, υποδεικνύοντας υψηλή αρωματική ένταση. Συγκεκριμένα, στα κόκκινα φρούτα καταγράφει βαθμολογία (4.2), αναδεικνύοντας μια έντονη φρουτώδη αίσθηση, ενώ στα μαύρα και αποξηραμένα φρούτα σημειώνει αντίστοιχα (4.5) και (4.3), επιβεβαιώνοντας την αρωματική του πολυπλοκότητα. Τα δείγματα X και L8 ακολουθούν με ελαφρώς χαμηλότερες τιμές, με το L8 να εμφανίζει τη χαμηλότερη βαθμολογία στα κόκκινα φρούτα (3.9), υποδηλώνοντας μια πιο ήπια αρωματική ένταση.

3.3.3 Γευστική Αξιολόγηση

Η γευστική αξιολόγηση ανέδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων σύμφωνα με το **διάγραμμα 3.40**, με το L12 να διακρίνεται σε αρκετές παραμέτρους. Στην οξύτητα, το L12 εμφανίζει την υψηλότερη τιμή (3.9), συμβάλλοντας σε μια δροσερή και ζωνή γεύση. Όσον αφορά τη στυπτικότητα, το δείγμα X καταγράφει την υψηλότερη τιμή (3.9), αποδίδοντας έναν πιο στυφό χαρακτήρα, ενώ το L12, με χαμηλότερη τιμή (3.39), παρουσιάζει μια πιο ευχάριστη αίσθηση. Επιπλέον, το L12 σημειώνει την πιο χαμηλή βαθμολογία στο πικρό (2.6), κάτι που υποδηλώνει μια πολύ ήπια πικρή γεύση, σε αντίθεση με το δείγμα X που είναι πιο πικρό (2.78). Τέλος, το L12 ξεχωρίζει στην κατηγορία του σώματος, καταγράφοντας την υψηλότερη βαθμολογία (3.9), γεγονός που επιβεβαιώνει τη γεμάτη και ισχυρή παρουσία του στο στόμα. Αυτά τα χαρακτηριστικά καθιστούν το L12 πιο ισορροπημένο και ευχάριστο στη γευστική εμπειρία, ενώ το δείγμα X παρουσιάζει ορισμένες πιο έντονες και άλλες πιο αδρές γευστικές ιδιότητες, που το κάνουν να φαίνεται λιγότερο ισορροπημένο. Όπως φαίνεται στο **διάγραμμα 3.4**, το δείγμα L12 καταγράφει την υψηλότερη βαθμολογία στην ισορροπία στο στόμα (4.2), υποδηλώνοντας ότι οι γεύσεις, τα αρώματα στο στόμα, η οξύτητα, η στυφάδα και το αλκοόλ συνδυάζονται αρμονικά. Αντίθετα, το δείγμα X παρουσιάζει χαμηλότερη βαθμολογία (3.8), υποδεικνύοντας μικρότερη ισορροπία στις παραπάνω παραμέτρους.

3.3.4 Γενική Εκτίμηση

Το **δείγμα X** (βλ. **διάγραμμα 3.40**) έχει τη **χαμηλότερη γενική εκτίμηση** (4.1), ενώ το **L12** έχει τη **μεγαλύτερη** (4.5), κάτι που σημαίνει ότι οι δοκιμαστές βρήκαν το L12 πιο ολοκληρωμένο και συνολικά καλύτερο οίνο.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

4.1. Ανάλυση αποτελεσμάτων

Το πείραμα διερεύνησε την επίδραση της διαδικασίας του λιασίματος σταφυλιών Λημνιώνας για 8 και 12 ημέρες, συγκρίνοντας τα αποτελέσματα με έναν μάρτυρα χωρίς λιάσιμο, με στόχο την ανάλυση της χημικής σύστασης, των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και της συνολικής ποιότητας του οίνου. Τα ευρήματα ανέδειξαν σημαντικές διαφοροποιήσεις στις φυσικοχημικές ιδιότητες (περιεκτικότητα σε σάκχαρα και οξέα), στις φαινολικές ενώσεις, στις ανθοκυάνες και στην οργανοληπτική αξιολόγηση. Προηγούμενες μελέτες [Çoklar et al., \(2017\)](#) έχουν αναδείξει ότι η αφυδάτωση μέσω λιασίματος οδηγεί σε συμύκνωση των φαινολικών ενώσεων, όπως οι ανθοκυάνες, και επηρεάζει τις φυσικοχημικές ιδιότητες του οίνου.

Η διαδικασία του λιασίματος αύξησε την περιεκτικότητα σε σάκχαρα (Baume, μέτρο της περιεκτικότητας σε διαλυμένα σάκχαρα) και τον αλκοολικό τίτλο, με το δείγμα L12 (λιάσιμο για 12 μέρες) να καταγράφει τις υψηλότερες τιμές. Αυτή η αύξηση είναι σύμφωνη με τα αναμενόμενα αποτελέσματα της αφυδάτωσης, η οποία οδηγεί σε συμύκνωση των σακχάρων, και έχει τεκμηριωθεί και σε άλλες σχετικές μελέτες, όπως εκείνη των [Bellincontro et al., \(2004\)](#). Παράλληλα, η πτητική οξύτητα αυξήθηκε στα λιασμένα δείγματα, με το L12 να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη τιμή. Η ολική οξύτητα, ωστόσο, παρέμεινε σταθερή, υποδηλώνοντας ότι η αφυδάτωση μπορεί να επηρεάσει επιλεκτικά τα οξέα.

Η ανάλυση των ανθοκυανών με τη μέθοδο HPLC έδειξε ότι οι διαφοροποιήσεις στη σύνθεσή τους σχετίζονται άμεσα με τη διάρκεια του λιασίματος. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μείωση της δελφινιδίνης, της πετουνιδίνης και της μαλβιδίνης στα λιασμένα δείγματα, γεγονός που αποδίδεται πιθανώς στην οξείδωση, τη φωτοχημική αποικοδόμηση ή τη δράση του ενζύμου πολυφαινολοξειδάσης, το οποίο ενεργοποιείται κατά τη διαδικασία της αποξήρανσης των σταφυλιών. Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώνεται από τη μελέτη των [Çoklar et al., \(2017\)](#). Η αύξηση της παιονιδίνης στο L8 (λιάσιμο για 8 μέρες) και L12 (λιάσιμο για 12 μέρες) μπορεί να αποδοθεί στη συμύκνωση που προκαλείται από την αφυδάτωση. Παράλληλα, οι εστέρες της μαλβιδίνης, όπως ο οξικός και ο κουμαρικός εστέρας, παρουσίασαν μείωση στο L12, γεγονός που υποδεικνύει την ανάγκη προσεκτικής διαχείρισης της διάρκειας του λιασίματος, καθώς συμβάλλουν στη σταθερότητα και την ανθεκτικότητα του χρώματος του οίνου ([Cheng et al., 2023](#)).

Η ανάλυση HPLC ανέδειξε ότι η αφυδάτωση μέσω λιασίματος επηρεάζει επιλεκτικά τα ολιγομερή και μονομερή φαινολικά συστατικά. Συγκεκριμένα, ορισμένα ολιγομερή, όπως το γαλλικό, το κουταρικό, το πρωτοκατεχικό, το σιριγγικό και το σιναπικό οξύ, καθώς και ο γαλλικός εστέρας της επικατεχίνης, παρουσίασαν μείωση κατά τη διάρκεια του λιασίμου, πιθανώς λόγω οξείδωσης ή αποικοδόμησης από την παρατεταμένη έκθεση στον ήλιο. Αντίθετα, ενώσεις όπως η μυρικετίνη, η ισοραμεντίνη, ο γαλλικός εστέρας της επιγαλλοκατεχίνης και το καφεϊκό οξύ εμφάνισαν αύξηση συγκέντρωσης στο δείγμα L12, πιθανώς εξαιτίας της συμύκνωσης που προκαλεί η αφυδάτωση. Ενδιάμεσα, στο δείγμα L8, το φερταρικό και το φερουλικό οξύ, η κονυφεραλδεΐδη και το κουμαρικό οξύ παρουσίασαν τη μέγιστη συγκέντρωσή τους, πιθανώς λόγω ισορροπίας μεταξύ συμύκνωσης και αποικοδόμησης. Ενώσεις όπως η κατεχίνη, το καφταρικό οξύ, η προκυανιδίνη B1 και η κερκετίνη παρουσίασαν αρχική μείωση, αλλά επανήλθαν στα αρχικά επίπεδα λόγω συμύκνωσης στο τέλος της διαδικασίας.

Τα παραπάνω ευρήματα συμφωνούν με τη μελέτη των [Fabani et al. \(2017\)](#). Η μέθοδος Folin-Ciocalteu κατέγραψε τη μεγαλύτερη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών στο δείγμα L8,

γεγονός που μπορεί να οφείλεται στη συσσώρευση ανθοκυανινών και άλλων φαινολικών ενώσεων. Αντίθετα, η μέτρηση ΔΦΟ στα 280 nm έδειξε τη μέγιστη τιμή στο δείγμα L12, υποδεικνύοντας αύξηση των τανινών και των φλαβονοειδών, ενώσεων που συνδέονται άμεσα με τη στυπτικότητα του οίνου. Συνεπώς, η αφυδάτωση φαίνεται να ενισχύει τη στυπτικότητα του οίνου κυρίως στα δείγματα με μεγαλύτερη διάρκεια λιάσιμου, λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης τανινών και φλαβονοειδών, ενώ παράλληλα η συνολική ποσότητα των φαινολικών ενώσεων, όπως μετράται με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, παραμένει σχετικά σταθερή.

Στην οργανοληπτική αξιολόγηση, το δείγμα L12 (λιάσιμο για 12 μέρες) ξεχώρισε, συνδυάζοντας υψηλή χρωματική ένταση, πλούσια αρώματα φρούτων και μέτριας έντασης στυφάδα. Είναι ευχάριστο και ευκολόπιτο, με χαμηλής έντασης πικρή γεύση και αποτελεί μια εξαιρετικά ισορροπημένη επιλογή. Τα χαρακτηριστικά αυτά σχετίζονται άμεσα με την αύξηση των πολυμερισμένων φαινολικών ενώσεων, οι οποίες ενισχύουν τη χρωματική ένταση και τη σταθερότητα του οίνου (Picariello et al., 2017). Η ανάλυση των ταννινών με τις μεθόδους MCP και BSA κατέγραψε διαφορετικά αποτελέσματα, καθώς κάθε μέθοδος μετρά διαφορετικές ιδιότητες των ταννινών. Η μέθοδος MCP, που μετρά τις διαλυτές ταννίνες, έδειξε μείωση, πιθανώς λόγω οξείδωσης και πολυμερισμού, που τις μετατρέπει σε μεγαλύτερες, λιγότερο διαλυτές δομές. Αντίθετα, η μέθοδος BSA, που μετρά τις δεσμεύσιμες από πρωτεΐνες ταννίνες, έδειξε αύξηση, καθώς οι πολυμερισμένες ταννίνες έχουν μεγαλύτερη ικανότητα να δεσμεύουν πρωτεΐνες, ενισχύοντας έτσι τη στυπτικότητα και τη δομή του οίνου. Συνολικά, η αφυδάτωση κατά το λιάσιμο φαίνεται να αυξάνει τις πολυμερισμένες ταννίνες, ενισχύοντας τη στυφάδα του οίνου. Με την παλαίωση, αυτές οι ταννίνες σταδιακά αποδομούνται, μειώνοντας τη στυφάδα και βελτιώνοντας την ισορροπία της γεύσης. Τα αποτελέσματα αυτά συνάδουν με τις αναφορές που υποστηρίζουν ότι η αφυδάτωση κατά τη διαδικασία λιασίματος μπορεί να οδηγήσει σε συμπίκνωση των ταννινών, αυξάνοντας τη σταθερότητά τους και ενισχύοντας τη δομή του οίνου (Ristic et al., 2007). Ωστόσο, η αυξημένη απόχρωση στο δείγμα L12 υποδεικνύει πολυμερισμό και πιθανή οξείδωση τανινών και ανθοκυανών. Αυτή η διαδικασία, αν και προσδίδει αρχικά πιο έντονο χρώμα, μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τη χημική σταθερότητα του προϊόντος με την πάροδο του χρόνου. Στους οίνους Amagone, αυτή η διαδικασία αντιμετωπίζεται μέσω της μακράς ωρίμανσης σε βαρέλια, όπου οι ανθοκυανές πολυμερίζονται με ταννίνες, σχηματίζοντας σταθερές χρωστικές ενώσεις που είναι λιγότερο επιρρεπείς σε αποικοδόμηση (Paronetto et al., 2011). Επομένως, μια στρατηγική παλαίωσης ή ωρίμανσης θα μπορούσε να βελτιώσει περαιτέρω τη σταθερότητα και την ποιότητα του δείγματος L12.

4.2 Επίλογος

Η διαδικασία του λιασίματος σταφυλιών Λημνιώνας επιφέρει σημαντικές μεταβολές στη χημική σύσταση και την οργανοληπτική ποιότητα του παραγόμενου οίνου, προσδίδοντας αρωματική και γευστική πολυπλοκότητα, καθώς και ένα ισορροπημένο τελικό αποτέλεσμα. Οι αλλαγές στις φαινολικές ενώσεις, η αυξημένη συγκέντρωση σακχάρων και η ενίσχυση των δεσμεύσιμων ταννινών συμβάλλουν στη διαμόρφωση ενός οίνου με βελτιωμένη στυφάδα, ισορροπία και δομή, ενώ η αύξηση του αλκοολικού τίτλου ενισχύει την αίσθηση της πληρότητας.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης ενισχύουν την κατανόηση της επίδρασης της αφυδάτωσης μέσω λιασίματος στα σταφύλια Λημνιώνας, προσφέροντας πολύτιμες πληροφορίες για τη βελτιστοποίηση της τεχνολογίας παραγωγής ερυθρών οίνων υψηλής ποιότητας από λιαστά σταφύλια. Παράλληλα, αναδεικνύουν την ανάγκη περαιτέρω έρευνας για τη διαχείριση κρίσιμων παραμέτρων, όπως η διάρκεια λιασίματος, προκειμένου να επιτευχθεί η βέλτιστη ποιότητα του οίνου.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

5.1. Διεθνής βιβλιογραφία

1. Accordini, D. (2013). Amarone. Sweet, reinforced and fortified wines: Grape biochemistry, technology and vinification, 187-203.
2. Ali, M. S., et al. (2021). "Drying techniques and phenolic changes in grapes and wines." *Food Research International*, 147, 110523.
3. Antalick, G., Perello, M. C., & De Revel, G. (2014). Esters in wines: New insight through the establishment of a database of French wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 65(3), 293-304.
4. Aron, P. M., & Kennedy, J. A. (2008). Flavan-3-ols: Nature, occurrence and biological activity. *Molecular nutrition & food research*, 52(1), 79-104.
5. Bakker, J., Bridle, P., Bellworthy, S. J., Garcia-Viguera, C., Reader, H. P., & Watkins, S. J. (1998). Effect of sulphur dioxide and must extraction on colour, phenolic composition and sensory quality of red table wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 78(3), 297-307.
6. Baumes, R. (2009). Wine aroma precursors. In *Wine chemistry and biochemistry* (pp. 251-274). New York, NY: Springer New York.
7. Belda, I., Conchillo, L. B., Ruiz, J., Navascués, E., Marquina, D., & Santos, A. (2016). Selection and use of pectinolytic yeasts for improving clarification and phenolic extraction in winemaking. *International Journal of Food Microbiology*, 223, 1-8.
8. Bellincontro, A., et al. (2004). "Different postharvest dehydration rates affect quality characteristics and volatile compounds of Malvasia, Trebbiano, and Sangiovese grapes for wine production." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(20), 5959-5966.
9. Boulton, R. (2001). "Phenolic concentration impact on wine quality." *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(4), 75-89.
10. Boulton, R.B., Singleton, V.L., Bisson, L.F. & Kunkee, R.E., 1996. *Principles and Practices of Winemaking*. Chapman and Hall, New York. pp. 102-181; 244-273; 352-378.
11. Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology* 28(1), 25-30.
12. Brossaud, F., Cheynier, V., & NOBLE, A. C. (2001). Bitterness and astringency of grape and wine polyphenols. *Australian Journal of grape and wine research*, 7(1), 33-39.
13. Buckingham, J., & Munasinghe, V. R. N. (2015). *Dictionary of Flavonoids with CD-ROM*. CRC Press.
14. Cheng, Siqi, et al. "Color myth: anthocyanins reactions and enological approaches achieving their stabilization in the aging process of red wine." *Food Innovation and Advances* 2.4 (2023): 255-271.

15. Chira, K., Lorrain, B., Ky, I., & Teissedre, P. L. (2011). Tannin composition of cabernet-sauvignon and merlot grapes from the bordeaux area for different vintages (2006 to 2009) and comparison to tannin profile of five 2009 vintage mediterranean grapes varieties. *Molecules*, 16(2), 1519-1532.
16. Chira, K., Schmauch, G., Saucier, C., Fabre, S., & 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), 545-553.
17. Cisterna, B., Boschi, F., Croce, A. C., Podda, R., Zanzoni, S., Degl'Innocenti, D., ... & Malatesta, M. (2018). IMAGING TECHNIQUES FOR THE EVALUATION OF GRAPES IN WITHERING FOR AMARONE WINE PRODUCTION. *Istituto Lombardo-Accademia di Scienze e Lettere• Incontri di Studio*.
18. Çoklar, H., & Akbulut, M. (2017). Effect of Sun, Oven and Freeze-Drying on Anthocyanins, Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Black Grape (Ekşikara) (*Vitis vinifera* L.). *South African Journal of Enology & Viticulture*, 38(2). doi:10.21548/38-2-2127
19. Conde, Carlos, et al. "Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality." (2007).
20. Constantí, M., Poblet, M., Arola, L., Mas, A., & Guillamón, J. M. (1997). Analysis of yeast populations during alcoholic fermentation in a newly established winery. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48(3), 339-344.
21. Cosme, F., Ricardo-Da-Silva, J. M., & Laureano, O. (2009). Tannin profiles of *Vitis vinifera* L. cv. red grapes growing in Lisbon and from their monovarietal wines. *Food Chemistry*, 112(1), 197-204.
22. Davis, C. R., Wibowo, D. J., Lee, T. H., & Fleet, G. (1986). Growth and metabolism of lactic acid bacteria during and after malolactic fermentation of wines at different pH. *Applied and environmental microbiology*, 51(3), 539-545.
23. De Santis, D., & Frangipane, M. T. (2010). Effect of prefermentative cold maceration on the aroma and phenolic profiles of a Merlot red wine. *Italian Journal of Food Science*, 22(1), 47.
24. Del Prete, V., et al. "Occurrence of biogenic amines in wine: The role of grapes." *Food Chemistry* 112.2 (2009): 474-481.
25. Diez-Ozaeta, I., Lavilla, M., & Amarita, F. (2021). Wine aroma profile modification by *Oenococcus oeni* strains from Rioja Alavesa region: selection of potential malolactic starters. *International journal of food microbiology*, 356, 109324.
26. Eisenman, L. (2008). Clarification and Stabilization. In *The home winemakers manual* (pp.88-97).
27. Escribano Bailón, M. T., Guerra, M. T., Rivas Gonzalo, J. C., & Santos Buelga, C. (1995). Proanthocyanidins in skins from different grape varieties.
28. Espejo, F. (2021). Role of commercial enzymes in wine production: A critical review of recent research. *Journal of Food Science and Technology*, 58(1), 9-21.

29. Fabani, M. P., Baroni, M. V., Luna, L., Lingua, M. S., Monferran, M. V., Paños, H., ... & Feresin, G. E. (2017). Changes in the phenolic profile of Argentinean fresh grapes during production of sun-dried raisins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 58, 23-32.
30. Fadhel, Abdelhamid et al. "Study of the solar drying of grapes by three different processes." *Desalination* 185 (2005): 535-541.
31. Fernández-Zurbano P, Ferreira V, Peña C, Escudero A, Cacho J. Effects of maceration time and pectolytic enzymes added during maceration on the phenolic composition of must / Efectos del tiempo de maceración y de la adición de enzimas pectolíticas en la composición fenólica del mosto durante la maceración. *Food Science and Technology International*. 1999;5(4):319-325.
32. Gambuti, A., et al. (2017). "Color and phenolic stability in aged wines." *Journal of Food Science*, 82(8), 141-148.
33. Gnekow, B., & Ough, C. S. (1976). Methanol in wines and musts: source and amounts. *American Journal of Enology and Viticulture*, 27(1), 1-6.
34. Goldner, M. C., Zamora, M. C., Di Leo Lira, P. A. O. L. A., Gianninoto, H., & Bandoni, A. (2009). Effect of ethanol level in the perception of aroma attributes and the detection of volatile compounds in red wine. *Journal of Sensory Studies*, 24(2), 243-257.
35. Gomez, C., Terrier, N., Torregrosa, L., Vialet, S., Fournier-Level, A., Verries, C., ... & Ageorges, A. (2009). Grapevine MATE-type proteins act as vacuolar H⁺-dependent acylated anthocyanin transporters. *Plant physiology*, 150(1), 402-415.
36. Gomez-Plaza, E., Gil-Muñoz, R., López-Roca, J. M., Martínez-Cutillas, A., & Fernández-Fernández, J. I. (2001). Phenolic compounds and color stability of red wines: Effect of skin maceration time. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(3), 266-270.
37. González-Neves, G., Franco, J., Barreiro, L., Gil, G., Moutounet, M., & Carbonneau, A. (2007). Varietal differentiation of Tannat, Cabernet-Sauvignon and Merlot grapes and wines according to their anthocyanic composition. *European Food Research and Technology*, 225(1), 111-117.
38. Hagerman, A. E., & Butler, L. G. (1978). Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 26(4), 809-812.
39. Hanlin, R. L., et al. "Condensed tannin and grape cell wall interactions and their impact on tannin extractability into wine." *Australian Journal of Grape and Wine Research* 16.1 (2010): 173-188.
40. Harbertson, J. F., Hodgins, R. E., Thurston, L. N., Schaffer, L. J., Reid, M. S., Landon, J. L., ... & Adams, D. O. (2008). Variability of tannin concentration in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59(2), 210-214.
41. Harbertson, J. F., Kennedy, J. A., & Adams, D. O. (2002). Tannin in skins and seeds of Cabernet Sauvignon, Syrah, and Pinot noir berries during ripening. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(1), 54-59.
42. He, F., Liang, N. N., Mu, L., Pan, Q. H., Wang, J., Reeves, M. J., & Duan, C. Q. (2012). Anthocyanins and their variation in red wines I. Monomeric anthocyanins and their color expression. *Molecules*, 17(2), 1571-1601.

43. Jackson, R. S. (2008). *Wine science: principles and applications* (pp. 270-331). San Diego: Academic Press.
44. Jurd, L. (1969). Review of polyphenol condensation reactions and their possible occurrence in the aging of wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 20(3), 191-195.
45. Kennedy, J. A. (2008). Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. *Ciencia e investigación agraria*, 35(2), 107-120.
46. Kennedy, J. A., & 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), 1740-1746.
47. Kennedy, J., et al. (2006). "Tannin polymerization in wine aging." *Food Chemistry*, 99(3), 318-326.
48. Lehtonen, P. (1996). Determination of amines and amino acids in wine—a review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47(2), 127-133.
49. Lesschaeve, I., & Noble, A. C. (2022). Sensory analysis of wine. *Managing wine quality*, 243-277.
50. Lloyd, N. D. R. (2013). *Synthesis of allenic ketones and the role of yeast in their conversion to damascenone* (Doctoral dissertation).
51. Lorrain, B., Chira, K., & 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), 1991-1999.
52. Lubert Stryer, « Βιοχημεία », Τόμος Ι, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο 1997.
53. Mahmutoglu, Teslime, Ferhunde Emir, and Y. Birol Saygi. "Sun/solar drying of differently treated grapes and storage stability of dried grapes." *Journal of Food Engineering* 29.3-4 (1996): 289-300.
54. Marais, J. (1983). Terpenes in the aroma of grapes and wines: a review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 4(2), 49-58.
55. Margalit, Y. 1997. *Concepts in wine chemistry*. The Wine Appreciation Guild Ltd: South San Francisco, CA, USA: 255–257.
56. Martínez, J., et al. (2018). "Sun-drying effects on grape phenolics and wine quality." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(12), 312-319.
57. Monagas, M., Bartolomé, B., & Gómez-Cordovés, C. (2005). Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Critical reviews in food science and nutrition*, 45(2), 85-118.
58. Mortimer, R., & Polsinelli, M. (1999). On the origins of wine yeast. *Research in microbiology*, 150(3), 199-204.

59. OIV, STANDARD FOR INTERNATIONAL WINE COMPETITIONS AND SPIRITUOUS BEVERAGES OF VITIVINICULTURAL ORIGIN 2009
60. Obreque-Slier, E., Peña-Neira, Á., López-Solís, R., Zamora-Marín, F., Ricardo-da Silva, J. M., & Laureano, O. (2010). 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), 3591-3599.
61. Oliveira, C. M., Ferreira, A. C. S., De Freitas, V., & Silva, A. M. (2011). Oxidation mechanisms occurring in wines. *Food Research International*, 44(5), 1115-1126.
62. Paronetto, L., & Dellaglio, F. (2011). Amarone: a modern wine coming from an ancient production technology. *Advances in food and nutrition research*, 63, 285-306.
63. Peyrot des Gachons, C., & Kennedy, J. A. (2003). Direct method for determining seed and skin proanthocyanidin extraction into red wine. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(20), 5877-5881.
64. Pons, A., Lavigne, V., Eric, F., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2008). Identification of volatile compounds responsible for prune aroma in prematurely aged red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(13), 5285-5290.
65. Pozo-Bayón, M. Á., Andújar-Ortiz, I., & Moreno-Arribas, M. V. (2009). Scientific evidences beyond the application of inactive dry yeast preparations in winemaking. *Food research international*, 42(7), 754-761.
66. Pretorius, I. S., Van der Westhuizen, T. J., & Augustyn, O. P. H. (1999). Yeast biodiversity in vineyards and wineries and its importance to the South African wine industry: a review.
67. Picariello, L., Gambuti, A., Picariello, B., & Moio, L. (2017). Evolution of pigments, tannins and acetaldehyde during forced oxidation of red wine: Effect of tannins addition. *LWT*, 77, 370-375.
68. Quijada-Morín, N., Regueiro, J., Simal-Gándara, J., Tomás, E., Rivas-Gonzalo, J. C., & Escribano-Bailón, M. T. (2012). Relationship between the sensory-determined astringency and the flavanolic composition of red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(50), 12355-12361.
69. Rentzsch, M., Schwarz, M., Winterhalter, P., & Hermosín-Gutiérrez, I. (2007). Formation of hydroxyphenyl-pyranoanthocyanins in Grenache wines: Precursor levels and evolution during aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(12), 4883-4888.
70. Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., & Lonvaud, A. (Eds.). (2006). *Handbook of enology, Volume 1: The microbiology of wine and vinifications (Vol. 1)*. John Wiley & Sons.
71. Richard, P., & Hilditch, S. (2009). D-galacturonic acid catabolism in microorganisms and its biotechnological relevance. *Applied microbiology and biotechnology*, 82, 597-604.
72. Rinaldi, A., Gambuti, A., Jourdes, M., Teissèdre, P. L., & Moio, L. (2014). Phenolic characteristics of tannins mainly involved in saliva precipitation and related to oral astringency.

73. Ristic, R., Downey, M. O., Iland, P. G., Bindon, K., Francis, I. L., Herderich, M., & Robinson, S. P. (2007). Exclusion of sunlight from Shiraz grapes alters wine colour, tannin and sensory properties. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13(2), 53-65.
74. Robles, A., Fabjanowicz, M., Chmiel, T., & Płotka-Wasyłka, J. (2019). Determination and identification of organic acids in wine samples. Problems and challenges. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 120, 115630.
75. Roig, B., & Thomas, O. (2003). UV monitoring of sugars during wine making. *Carbohydrate research*, 338(1), 79-83.
76. Sapis-DOMERQ, S., 1980. Etude de l'influence des produits de traitement de la vigne sur la microflore des raisins et des vins. *Connaissance Vigne Vin* 14, 155-181.
77. Sacchi, K. L., Bisson, L. F., & Adams, D. O. (2005). A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(3), 197-206.
78. Saftner, R. A., & Baldi, B. G. (1990). Storage of apples in a hypobaric, controlled-atmosphere system. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 115(4), 579-583.
79. Saglio, P., Rolle, L., & Cagnasso, E. (2017). Varietal impact on the monomeric and oligomeric composition of red wine polymeric pigments. *Food Chemistry*, 221, 540-546.
80. Salinas, M. R., & Zamora, F. (2012). Estudio de la estabilidad coloidal de los polisacáridos de uva en soluciones de etanol y su implicación en la composición y estabilidad de los vinos. PhD Thesis.
81. Sarneckis, C. J., Damberg, R. G., Jones, P., Mercurio, M., Herderich, M. J., & Smith, P. A. (2009). Measuring tannins in grapes and red wine using the MCP (methyl cellulose precipitable) tannin assay. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60(2), 270-277.
82. Sarni-Manchado, P., Cheynier, V., & Moutounet, M. (1999). Influence of storage, oxygen, and sulfur dioxide on the phenolic composition of young bottled red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(3), 1036-1041.
83. Scalzini, Giulia, et al. "Cell wall polysaccharides, phenolic extractability and mechanical properties of Aleatico winegrapes dehydrated under sun or in controlled conditions." *Food Hydrocolloids* 149 (2024): 109605.
84. Segurel, M. A., Razungles, A. J., Riou, C., & Salles, M. (2004). Nonvolatile components of two aromatic *Vitis vinifera* varieties (Grenache noir and Syrah) grown under different climatic conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(2), 534-539.
85. Shimazu, Y., Uehara, M., & Watanabe, M. (1985). Transformation of citric acid to acetic acid, acetoin and diacetyl by wine making lactic acid bacteria. *Agricultural and biological chemistry*, 49(7), 2147-2157.
86. Singleton, V. L., Trousdale, E. K., & Salgues, M. (1985). Analysis of wine and grape for total tannins. *American Journal of Enology and Viticulture*, 36(3), 144-149.

87. Siret, R., Ojeda, H., van Leeuwen, C., & Gaudillère, J. P. (2009). Berry size and green pruning in Sauvignon blanc: Impact on vine water status, fruit ripening, and flavonoid accumulation in two contrasting years. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 15(3), 223-233.
88. Skouroumounis, G. K., Kwiatkowski, M. J., & Francis, I. L. (2005). Olfactory perception as a function of wine exposure time and wine temperature. *Food quality and preference*, 16(4), 317-325.
89. Smith, P. A. (1971). Metabolism of methanol in plants. *Plant physiology*, 48(2), 232-238.
90. Solé, I., Pascual, O., Romero, M. P., Cuesta, C., & Martínez, L. (2016). Influence of micro-oxygenation treatment on phenolic compounds and sensory properties of red wines. *European Food Research and Technology*, 242(4), 543-554.
91. Sousa, S., Magalhães, N., Gonçalves, J. L., Lima, N., & Bennato, F. (2013). Commercial inactive dry yeast as a tool to increase glycerol concentration in red wines: how and when? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(43), 10219-10225.
92. Spillman, P. J., Pollnitz, A. P., Liacopoulos, D., & Sefton, M. A. (1999). Effect of stalk injury, grapevine exudates, and maceration time on extract composition and quality of Cabernet Sauvignon wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(4), 395-403.
93. Sponholz, W. R., Cesar, A. S. M., Martins, M. F., Cirillo, M. Â., Guterres, S. S., Cardoso, A. S., ... & Echeverrigaray, S. (2021). An eco-friendly method for the determination of biogenic amines in wine samples using magnetic dispersive micro-solid-phase extraction based on halloysite nanotubes as an adsorbent. *Microchemical Journal*, 159, 105652.
94. Strejc, J. (1968). The combined method for determining anthocyanins in wines. *Mikrochimica Acta*, 56(7-8), 1265-1277.
95. Sumbly, K. M., Grbin, P. R., & Jiranek, V. (2010). Microbial modulation of aromatic esters in wine: Current knowledge and future prospects. *Food chemistry*, 121(1), 1-16.
96. Sun, B., Neves, A. C., Fernandes, T. A., Bennett, S. J., Lopes, T. M., & Spranger, M. I. (2012). C6- α , ω -dicarboxylic acids: Substituent effect on the phototautomerization of monomeric 2-styrylchromones. *Dyes and Pigments*, 95(2), 316-324.
97. Sun, Q., Gates, M. J., Lavin, E. H., Acree, T. E., & Sacks, G. L. (2011). Comparison of odor-active compounds in grapes and wines from *Vitis vinifera* and non-foxy American grape species. *Food Chemistry*, 129(3), 1070-1084.
98. Sáenz-Navajas, M. P., Campo, E., Herrera, J. L., Ferreira, V., & Fernández-Zurbano, P. (2010). An assessment of the role played by some polyfunctional thiols in the aroma of young Spanish monovarietal white wines. *Food Research International*, 43(8), 2102-2110.
99. Teixeira, A., Eiras-Dias, J., Castellarin, S. D., Geros, H., & Berry, B. (2013). Ripening dynamics of red wine: Effects of the size and morphology of different grapevine cluster zones. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 19(2), 134-142.
100. Thibon, C., Puzio, M., Rabot, A., Geny, L., Ravanat, J. L., & Richard, T. (2011). In vivo adaptive response to low doses of ionising radiation in human skin: A study in wine and non-wine drinkers. *Journal of Environmental Radioactivity*, 102(7), 681-685.

101. Troncoso, A. M., Pedrero, F., & Meléndez-Martínez, A. J. (2005). Survey of chlorophyll derivatives in *Vitis vinifera* wines from different geographical origins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(17), 6915-6920.
102. Vally, H., & Thompson, P. J. (2003). Allergic and asthmatic reactions to alcoholic drinks. *Addiction Biology*, 8(3), 357-362.
103. Van Wyk, C. J., De Villiers, A., & Fourie, B. (2018). Natural preservatives and antioxidants from grape stems. A review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 16, 100-109.
104. Vermeulen, C., Giavedoni, P., Pedegert, M., Boggia, R., & Jofré, V. (2013). Use of high performance liquid chromatography to estimate grape tannin in absence of vanillin. *American Journal of Enology and Viticulture*, 64(2), 287-290.
105. Vidal, S., Francis, L., Guyot, S., Marnet, N., Kwiatkowski, M., Gawel, R., ... & Waters, E. J. (2003). The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(6), 564-573.
106. Vivas, N., Vivas de Gaulejac, N., Nonier, M. F., & Marchal, L. (2002). A new approach for the study of wine polysaccharides. *Journal of Chromatography A*, 978(1-2), 11-22.
107. Volschenk, H., Van Vuuren, H. J. J., & Viljoen-Bloom, M. (2006). Malic acid in wine: Origin, function and metabolism during vinification.
108. Waterhouse, A. L., Laurie, V. F., & Laurie, V. F. (2002). Inhibition of malolactic fermentation by hydroxycinnamic acids found in red winegrape phenols. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(2), 139-143.
109. Waterhouse, A. L., Laurie, V. F., & Oxley, M. P. (1996). Oxygen inactivation of the ascorbate oxidase in the grape berry juice during crush. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47(1), 63-70.
110. Wells, R. J., & Nichol, C. F. (1976). Determination of lead in alcoholic beverages by anodic stripping voltammetry. *Analytical Chemistry*, 48(11), 1546-1548.
111. Werderitsch, M. (2018). Influence of different enzymes on the extraction efficiency of anthocyanins and proanthocyanidins in red wine production. Thesis.
112. Winterhalter, P. (2018). Phenolic glycosides in wine: extraction, analysis, and potential influence on mouthfeel. Vol. 20. American Chemical Society.
113. Zhang, C. X., Smith, C. J., Wolf, J. L., & Williams, W. P. (2003). Ammonia release from nitrogen fertilizer in maize fields. *Journal of Environmental Quality*, 32(2), 683-691.
114. Zoecklein, B., et al. (2000). "Phenolic compounds in wine: Analysis and implications." *Practical Winery & Vineyard*, 22(4), 30-35.

5.2. Ελληνική βιβλιογραφία

1. Argyris N. Tsakiris (1998). "Οινολογία, Από το σταφύλι στο κρασί," Εκδοσεις Ψύχαλος.
2. Gougoulas, N., Vagelas, I., Giurgiulescu, L., Ntalla, M. N., Nterkou, P., Salonikioti, A., ... & Sugar, I. R. (2018). "Comparative Study on Polyphenols Content and Antioxidant Effect of Some Grape Varieties Grown in Central Greece." *Carpathian Journal of Food Science & Technology*, 10(1).
3. Kallithraka S., Tsoutsouras E., Tzourou E., & Lanaridis P. (2006). "Principal Phenolic Compounds in Greek Red Wines." *Food Chemistry*, 99(4), 784-793.
4. Kallithraka S., Arvanitoyannis I., El-Zajouli A., Kefalas P. (2001). "The Application of an Improved Method for trans-Resveratrol to Determine the Origin of Greek Red Wines." *Food Chemistry*, 75, 355–363.
5. Koundouras S., Marinos V., Gkoulioti A., Kotseridis Y., & 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), 5077-5086.
6. Κουράκου-Δραγώνα, Σ. (1998). "Θέματα οινολογίας. Επιστήμη και Τεχνολογία στον τομέα της οινοποιητικής τεχνικής," Εκδόσεις Τροχαλία, Αθήνα.
7. ΚΟΥΡΑΚΟΥ-ΔΡΑΓΩΝΑ ΣΤΑΥΡΟΥΛΑ (1997). "ΟΙΝΗΡΕΣ ΕΠΙΛΟΓΕΣ," Εκδόσεις Τροχαλία.
8. Kyraleou, M., Kallithraka, S., Koundouras, S., Chira, K., Haroutounian, S., Spinthiropoulou, H., & Kotseridis, Y. (2015). "Effect of Vine Training System on the Phenolic Composition of Red Grapes (*Vitis vinifera* L. cv. Xinomavro)." *OENO One*, 49(1), 71–84.
9. Μπιμπίλας, Α. (2017). "Επίδραση Διεργασιών Οινοποίησης στα Φαινολικά Συστατικά του Οίνου."
10. Σταυρακάκης Μανώλης Ν., Αμπελογραφία Εκδόσεις Τροπή 2010
11. Stavrakaki M., Biniari K., "Genetic Study of Grapevine Varieties Using Molecular Markers," From Grape2Wine, 2nd International Junior Researchers' Meeting, Athens, 10-12 July, 2008, σ. 13.)
12. Σταύρακας, Δ. Ε., (2011). Αμπελογραφία. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Ζήτη.
13. Σουφλερός Ευάγγελος (1997). "ΟΙΝΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΣΤΑΓΜΑΤΑ."
14. Τσέτουρας, Π. (2008). "Οινοτεχνία, Η Επιστήμη του Κρασιού στην Πράξη." Αθήνα: Εκδόσεις Σταμούλη Α.Ε.

5.3. Ηλεκτρονικές πηγές

1. <https://www.awri.com.au>
2. <https://www.oiv.int/public/medias/2477/oiv-ma-as2-10.pdf>
3. <https://www.vinolab.hr/calculator/calculate-molecular-so2-en33>
4. <https://www.vinovest.co/blog/valpolicella-ripasso-2018>
5. <https://winetrails.gr/το-amarone-κρασί-από-αποξηραμένα-σταφύλια/8060/>