



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

Σχολή Χημικών Μηχανικών

Τομέας IV: Σύνθεσης και Ανάπτυξης
Βιομηχανικών Διαδικασιών

Εργαστήριο Χημείας & Τεχνολογίας Τροφίμων



Φιλίππου Αικατερίνη- Νικολέτα

Διπλωματική Εργασία :

Συγκριτική μελέτη πειραματικών και
βιβλιογραφικών δεδομένων της
οινοποιητικής ποικιλίας Ξινόμαυρο

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:
Βασιλική Ωραιοπούλου

Αθήνα, 2020

Αφιερωμένο σε όσους μοχθούν με την επιστήμη
του οίνου ώστε να μπορούν οι δοκιμαστές να
αντιλαμβάνονται το κρασί σαν αποτέλεσμα τέχνης.

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	6
Abstract.....	8
Εισαγωγή.....	10
Θεωρητικό Υπόβαθρο.....	11
1. Αμπέλι- Σταφύλι.....	11
1.1. Αμπέλι.....	11
1.1.1. Ιστορική πορεία του αμπελιού προς την εφαρμογή αμπελουργίας ακριβείας.....	11
1.1.2. Απαιτήσεις της αμπέλου σε εδαφοκλιματικό περιβάλλον και παράγοντες που επιδρούν στο παραγόμενο προϊόν.....	14
1.1.2.1. Έδαφος.....	14
1.1.2.2. Κλίμα.....	16
1.1.2.3. Θερμοκρασία.....	17
1.1.2.4. Ηλιοφάνεια.....	17
1.1.2.5. Υγρασία.....	18
1.1.2.6. Αμπελουργικές τεχνικές.....	18
1.1.3. Η αμπελουργική ζώνη της Νάουσας.....	19
1.1.3.1. Ιστορικά και γεωγραφικά στοιχεία.....	19
1.1.3.2. Ο αμπελώνας της Νάουσας σήμερα.....	20
1.2. Σταφύλι.....	21
1.2.1. Τα μέρη της ράγας και η χημική τους σύσταση.....	21
1.2.1.1. Τα μέρη της Ράγας.....	21
-Η Σάρκα.....	21
-Ο Φλοιός.....	21
-Τα Γιγάρτα.....	22
-Η Εκατοστιαία Σύνθεση της Ράγας.....	22
1.2.1.2. Χημική Σύσταση.....	22
-Χημική Σύσταση της Σάρκας.....	22
-Χημική Σύσταση του Φλοιού.....	23
-Χημική Σύσταση των Γιγάρτων.....	23
1.2.2. Φαινολικά συστατικά.....	24
-Φαινολικά συστατικά του σταφυλιού και του κρασιού.....	24
-Φλαβονόλες.....	26
-Φλαβαν-3-όλες (κατεχίνες) και προκυανιδίνες.....	26
-Ανθοκυάνες.....	27
-Τανίνες.....	29

-Εξέλιξη των φαινολικών συστατικών	31
1.2.3. Παράγοντες που επιδρούν στη σύνθεση και συσσώρευση των φαινολικών ουσιών στο σταφύλι	32
1.3. Ξινόμαυρο	34
1.3.1. Η ποικιλία Ξινόμαυρο	34
1.3.2. Χαρακτηρισμός σταφυλιών και οίνων της ποικιλίας Ξινόμαυρο	35
1.3.3. Φαινολικά συστατικά οίνων της ποικιλίας Ξινόμαυρο	37
1.3.4. Επίδραση του συστήματος διαμόρφωσης αμπέλου στον οργανοληπτικό χαρακτήρα του Ξινόμαυρου.....	37
1.3.5. Επίδραση της ύδρευσης στα φαινολικά συστατικά του Ξινόμαυρου	38
2. Οινοποίηση	39
2.1. Ερυθρή οινοποίηση	39
2.1.1. Προζυμωτική κρυσταλλοποίηση	39
2.1.2. Κλασική μέθοδος ερυθρής οινοποίησης.....	40
-Πηκτινολυτικά Ένζυμα	41
-Οινοποιητές	41
-Διαχωρισμός κρασιού και στεμφύλων.....	43
2.2. Τεχνικές οινοποίησης για την βελτίωση της ποιότητας του Ξινόμαυρου	43
2.2.1. Επίδραση της αφαίμαξης χυμού στην εκχύλιση των φαινολικών	44
2.2.2. Επίδραση ανακυκλώσεων και θερμοκρασίας στην εκχύλιση των φαινολικών.....	45
2.2.3. Επίδραση της μεταζυμωτικής εκχύλισης.....	46
2.2.4. Επίδραση του ξύλου κατά την παλαίωση και την αποζύμωση σε βαρέλι	47
Πειραματικό μέρος	48
1. Στόχος και πειραματικός σχεδιασμός.....	48
2. Πρώτες ύλες.....	49
3. Αντιδραστήρια	52
4. Συσκευές- όργανα.....	52
5. Τεχνικές.....	53
5.1. Παραλαβή συστατικών από τα τμήματα του σταφυλιού	53
5.1.1. Διαχωρισμός μερών της ράγας.....	53
5.1.2. Εκχύλιση φαινολικών από τους φλοιούς	54
5.1.3. Εκχύλιση φαινολικών από τη σάρκα	55
5.1.4. Απομάκρυνση λιπιδίων, εκχύλιση φαινολικών και καταβύθιση τανινών από τα γίγαρτα .	56
5.1.4.1. Απομάκρυνση λιπιδίων.....	56
5.1.4.2. Εκχύλιση φαινολικών.....	57
5.1.4.3. Καταβύθιση τανινών.....	57

5.2.	Προσδιορισμός ξηρού βάρους φλοιών, σάρκας και εκχυλισμάτων αυτών.....	57
5.3.	Μέθοδος Folin Ciocalteu - Μέτρηση ολικού φαινολικού φορτίου (TP).....	58
5.4.	Ποσοτικός προσδιορισμός επιμέρους ομάδων φαινολικών συστατικών με φασματοφωτομετρική μέθοδο	59
5.5.	Ανάλυση φαινολικών συστατικών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC).....	60
5.6.	Προσδιορισμός της Χρωματικής Έντασης (E) και της Χρωματικής Απόχρωσης (A) των οίνων	62
	Αποτελέσματα – Σχολιασμός.....	63
1.	Σταφύλι	63
1.1.	Προκατεργασία.....	63
1.2.	Αναλύσεις εκχυλισμάτων φλοιού.....	64
	-Ποσοτικός προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου των φλοιών με την μέθοδο Folin-Ciocalteu	64
	-Φωτομετρικός προσδιορισμός των επί μέρους φαινολικών ενώσεων	65
	-HPLC.....	66
	β)Φλαβόνες–Φλαβονόλες.....	69
1.3.	Αναλύσεις εκχυλισμάτων Σάρκας.....	71
	-Ποσοτικός προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου της σάρκας με την μέθοδο Folin-Ciocalteu	71
	-Φωτομετρικός προσδιορισμός των επί μέρους φαινολικών ενώσεων	72
1.4.	Αναλύσεις εκχυλισμάτων Γιγάρτων.....	73
	-Ποσοτικός προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου των γιγάρτων με την μέθοδο Folin-Ciocalteu & προσδιορισμός της συγκέντρωσης των τανινών με χρήση BSA	73
1.5.	Σταφύλι.....	75
2.	Μούστος	79
	-Ποσοτικός προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου των μούστων με την μέθοδο Folin-Ciocalteu Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την εφαρμογή της μεθόδου στα δείγματα μούστου παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 25.	80
	-HPLC, Ανθοκυάνες	80
3.	Οίνος.....	83
	-Φωτομετρικός προσδιορισμός των επί μέρους φαινολικών ενώσεων του οίνου	84
	-HPLC, Ανθοκυάνες	85
	-Χρωματομετρήσεις.....	87
4.	Εξελικτικά στοιχεία	89
	Συμπεράσματα.....	91
	Βιβλιογραφία	93
	Παράρτημα	99

Περίληψη

Η ποικιλία Ξινόμαυρο αποτελεί μία από τις δύο σημαντικότερες ελληνικές ερυθρές οινοποιήσιμες ποικιλίες σταφυλιού και μία από τις τέσσερις ποικιλίες- πρεσβευτές, όπως αποκαλούνται, της Ελλάδας στο εξωτερικό. Έχει τεράστια σημασία για τους οινοπαραγωγούς της χώρας και πολύ μακρά ιστορική πορεία. Η νέα, σύγχρονη εποχή καλλιέργειας του Ξινόμαυρου αρχίζει στην περιοχή της Νάουσας κατά τη δεκαετία του 1960, με εναρκτήριο λάκτισμα την προσπάθεια αναβίωσης και διατήρησης της ποικιλίας από την εταιρεία “Μπουτάρη Οινοποιητική”. Στη βάση της προσπάθειας βελτιστοποίησης της πρώτης ύλης με στόχο τη βελτιστοποίηση του τελικού προϊόντος και με τη λογική της εφαρμογής στην καλλιέργεια τεχνικών αμπελουργίας ακριβείας, διενεργείται και η παρούσα μελέτη. Μελετήθηκε η σύσταση των σταφυλιών και των παραγόμενων προϊόντων, τα οποία παραχωρήθηκαν από την εταιρεία Μπουτάρη, από αμπελώνες της οινοποιητικής ζώνης της Νάουσας. Στόχος ήταν να εξαχθούν συμπεράσματα που θα υποδεικνύουν σχέσεις αιτίου-αποτελέσματος μεταξύ των χαρακτηριστικών του αμπελώνα και του παραγόμενου προϊόντος.

Για τον σκοπό αυτό, έγινε ανάλυση του ολικού φαινολικού περιεχομένου και των επί μέρους φαινολικών συστατικών σε δείγματα τμημάτων σταφυλιού, γλεύκους, φρέσκου και παλιωμένου οίνου. Οι πρώτες ύλες ήταν εσοδείας του έτους 2017 και προέρχονταν από τρία αμπελοτόπια που ανήκουν στην αμπελουργική ζώνη της Νάουσας. Η διαχείριση των συγκεκριμένων αμπελώνων είναι σε γενικές γραμμές πανομοιότυπη και οι διαφορές στις οποίες εστιάζουμε είναι τοπογραφικής φύσης, συγκεκριμένα το υψόμετρο και ο προσανατολισμός τους. Ο αμπελώνας (Α) είναι αυτός που διαφοροποιείται λόγω υψηλότερου υψομέτρου (180 m) από τους άλλους δύο (123 m και 140 m) και ο αμπελώνας (Β) διαφοροποιείται λόγω προσανατολισμού (βορειοανατολικός) από τους άλλους δύο (νοτιοανατολικός). Μία διαφορά του (Γ) είναι η ημερομηνία του τρύγου του, η οποία καθυστέρησε κατά μία ημέρα συγκριτικά με τους άλλους δύο αμπελώνες.

Για να προσδιοριστούν τα φαινολικά προφίλ των δειγμάτων, τα τμήματα σταφυλιού διαχωρίστηκαν (φλοιός- σάρκα- γίγαρτα) και έγινε εκχύλιση των φαινολικών συστατικών τους, στη συνέχεια έγινε ποσοτικός προσδιορισμός σε καθένα από τα εκχυλίσματα αυτά των ολικών φαινολών, των ανθοκυανών, των φλαβονών και των τρυγικών εστέρων. Ακόμη, στα εκχυλίσματα των γιγάρτων μετρήθηκε και η περιεκτικότητά τους σε τανίνες. Επίσης, έγινε ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των κύριων φαινολικών συστατικών, όπως των ανθοκυανών και των φλαβονών, με τη χρήση της μεθόδου HPLC-DAD. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι τα σταφύλια του Ξινόμαυρου ήταν ιδιαίτερα πλούσια σε φαινόλες με μέση συγκέντρωση στα εξεταζόμενα δείγματα τα 1742 ppm επί σταφυλής. Την υψηλότερη συγκέντρωση σε ολικές φαινόλες έχουν τα σταφύλια (Γ) (πιο όψιμος τρύγος). Υψηλότερη συγκέντρωση σε ανθοκυάνες έχουν τα σταφύλια που προέρχονται από το αμπελοτόπι (Β) (βορειοανατολικός), αλλά και οι φλοιοί (Β) υπερτερούν σε περιεκτικότητα ανθοκυανών έναντι των (Α), (Γ).

Τα φαινολικά συστατικά μεταφέρονται από τους φλοιούς και τα γίγαρτα στο ζυμούμενο γλεύκος κατά τη διάρκεια παραμονής των στεμφύλων μέσα σε αυτό, παράλληλα με την αλκοολική ζύμωση. Τα σταφύλια των τριών αμπελοτοπίων οινοποιήθηκαν ξεχωριστά στο οινοποιείο της εταιρείας Μπουτάρη με πανομοιότυπο πρωτόκολλο ερυθρής οινοποίησης σε

ανοιχτές δεξαμενές. Από κάθε δεξαμενή έγινε παραλαβή δειγμάτων γλεύκους κατά τις πρώτες ώρες της οινοποίησης, μετά την προσθήκη στο αρχικό γλεύκος ενός διαλύματος θειϊκού αμμωνίου και πηκτινολυτικών ενζύμων. Ακόμη, έγινε παραλαβή δείγματος γλεύκους από τα σταφύλια του αμπελοτοπίου (B) προ της προσθήκης του διαλύματος πηκτινολυτικών. Τα δείγματα γλεύκους αναλύθηκαν με τις ίδιες μεθόδους όπως αυτές που χρησιμοποιήθηκαν στα εκχυλίσματα των τμημάτων σταφυλιού. Τα αποτελέσματα της σύγκρισης των γλευκών που βρίσκονταν στο ίδιο στάδιο της οινοποιητικής διαδικασίας κατέδειξαν την υπεροχή των δειγμάτων (Γ) (πιο όψιμος τρύγος) σε ολικές φαινόλες αλλά και ανθοκυάνες, γεγονός το οποίο οφείλεται στην εκχύλισή τους από τους φλοιούς του ίδιου αμπελοτοπίου που βρέθηκαν οι πλουσιότεροι σε ολικές φαινόλες. Σημαντική, όμως ήταν και η παρατήρηση της έντονα αυξημένης συγκέντρωσης των ολικών φαινολών στα δείγματα (B) μετά τη χρήση των πηκτινολυτικών σε σύγκριση με τα αντίστοιχα πριν την προσθήκη. Το τελευταίο συμπέρασμα υποδεικνύει και τη χρησιμότητα του συγκεκριμένου βήματος στην ερυθρή οινοποίηση, δηλαδή, της χρήσης πηκτινολυτικών ενζύμων για την κατάλυση της εκχύλισης φαινολικών συστατικών από τα τμήματα του σταφυλιού στο γλεύκος, αφού στα συγκεκριμένα δείγματα παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης των ολικών φαινολών κατά 1125%.

Όσον αφορά τους παραγόμενους οίνους, έγιναν αναλύσεις στα προϊόντα που προέκυψαν από τις οινοποιήσεις αφού αυτά εμφιαλώθηκαν σε γυάλινες φιάλες με τοποθέτηση φελλού (όμοια με την κλασική εμφιάλωση για εμπορική χρήση των προϊόντων). Η εμφιάλωση έγινε μετά το πέρας τριάντα ημερών από την αρχή της οινοποίησης και η ανάλυση μετά από διάστημα επτά μηνών διατήρησης των φιαλών σε ιδανικές συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και ακτινοβολίας. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων έδειξαν ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις ολικών φαινολών στους οίνους του Ξινόμαυρου, 1905-2028 ppm με την υψηλότερη να ανήκει στον οίνο (Γ) (οψιμότερος τρύγος), όπως συνέβη και στα αντίστοιχα δείγματα γλεύκους. Εκτός της υπεροχής τους σε φαινόλες, οι οίνοι (Γ) συγκέντρωσαν και την υψηλότερη βαθμολογία στην αξιολόγηση της οργανοληπτικής τυπικότητάς τους ως προς τον χαρακτήρα της ποικιλίας, η οποία έγινε από το αρμόδιο προσωπικό της εταιρείας Μπουτάρη. Ακόμη, ποσοτικοποιήθηκαν και ταυτοποιήθηκαν οι ανθοκυάνες των οίνων. Οι συγκεντρώσεις τους εμφανίστηκαν συντριπτικά χαμηλότερες από τις αντίστοιχες των γλευκών κάτι που οφείλεται στις πολύπλοκες αντιδράσεις πολυμερισμού που συμβαίνουν στο γλεύκος μεταξύ ανθοκυανών και προκυανιδινών. Παράλληλα, οι ίδιες αναλύσεις έγιναν και σε οίνους παλαιωμένους κατά ένα έτος σε δρύινα βαρέλια, εσοδείας 2016. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν τη σαφή υπεροχή του φαινολικού περιεχομένου του οίνου μετά την παλαιώσή του (της τάξης του 50%). Αν και δεν μπορούν να συγκριθούν άμεσα τα αποτελέσματα μεταξύ των νέων και παλαιωμένων οίνων επειδή πρόκειται για διαφορετικές εσοδείες, η αυξημένη περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες των οίνων που έχουν παλαιώσει σε δρύινα βαρέλια έναντι των αντίστοιχων οίνων δεξαμενής είναι ενδεικτική για τους ερυθρούς οίνους και για την ποικιλία του Ξινόμαυρου.

Abstract

Wine grape variety "Xinomavro" (ksi-no-mah-vro) is one of the two most important Greek red wine producing grape varieties and one of the four varieties- ambassadors, as they are called, of Greece internationally. It is of great importance for the native wine producers and it has a really long historical course. The new, modern era of Xinomavro cultivation starts in the area of Naousa (Nah-ou-sah) during the 1960s, by a kick start from an effort of reviving and preservation of the variety by "Boutari Wines" company. On the basis of the effort for optimization the raw material aiming to optimize the wine product and based on the thinking of implementing technics of precision viticulture, we proceeded with this study. We studied the composition of grapes and wines, which were provided by Boutari Wines, produced by vineyards of the wine region of Naousa. The goal is to come to conclusions that will indicate casual relationships between the characteristics of the vineyard and the produced fruits.

For these purposes, the total phenolic content and the individual phenolic components in the grape parts of Xinomavro were analyzed. The raw materials that were used were a product of three vineyards belonging in the wine region of Naousa, vintage of 2017. The management of these vineyards is generally identical and the differences that we are going to focus on are of topographic nature, specifically their altitude and orientation. Vineyard (A) is the one that has different altitude (180 m), while the other two are lower (123 m and 140 m) and vineyard (B) has different orientation (northeast), while the other two are southeast. One difference of the (C) products is that the grapes were harvested one day later than the other two.

To define the phenolic profiles of the samples, after the grape parts were separated (skins, pulp, seeds) and the phenolic components were extracted, each of the total phenolics, anthocyanins, flavonols and tartaric esters were quantified. Furthermore, the content in tannins in the seeds' extract was measured. Then the main phenolic components, such as anthocyanins and flavonols were identified and quantified using the HPLC- DAD method. The results indicate that the Xinomavro grapes were extremely rich in total phenols with an average concentration of 1742 ppm over raw grape. The largest concentration of total phenolics was found in the (C) (latest harvest). The largest concentration in anthocyanins was in (B) grapes (northeast), like the (B) skins which were also found with higher anthocyanin concentration compared with (A) and (C) skins.

The phenolic components are transferred from the parts of the grape into the fermenting grape must as it remains containing the grape marc during alcoholic fermentation. The grapes of the three vineyards were vinified separately by Boutari Winery with identical red wine making protocol in open vats. Samples of grape must from each vat were selected during the first hours of the wine making process after the addition of a mixture containing sulfites and pectolytic enzymes to the initial must. Moreover, must sample produced by grapes from vineyard (B) was selected before the addition of the pectolytic enzymes mixture. The samples were analyzed with the same methods used for the grape parts' extracts. Results of the comparison between the grape must samples that were selected at the same stage of the

wine making process showed the predominance of the (C) samples (latest harvest) in total phenolics as well as anthocyanins which was caused by their extraction from the skins of the same vineyards' grapes which were also richer in total phenols. Another observation of big importance was also the one of the highly increased concentration of total phenolics in (B) samples after the use of pectolytic enzymes in comparison with the respective ones before the addition. The last conclusion indicates the importance of that particular step in red wine making, i.e. the use of pectolytic enzymes to catalyze the extraction of phenolic compounds from grape parts to the must, since in the analyzed samples there was a rise of total phenols by 1125%.

Regarding the produced wines, analyses were conducted to the products of the resulting vinifications after they were bottled in glass bottles with cork placement (like the typical bottling for commercial use of the products). Bottling took place thirty days after the beginning of the vinification and the analyses after a span of seven months that the bottles were kept under ideal conditions of temperature, humidity and radiation. The results of the analyses showed notably high total phenolic concentrations in the Xinomavro wines, 1.905-2.028 ppm with the highest belonging to wines (C), (latest harvest), exactly like the corresponding musts. Apart from their superiority in total phenols, the (C) wines were also given the highest grade on the organoleptic test of typicality that was conducted by the authorized personnel of Boutari Wines. Furthermore, the anthocyanins of the wines were identified and quantified. Their concentrations were overwhelmingly lower than those from the grape musts, something that is a result of the polymerization between the anthocyanins and the procyanidins. Alongside, the same analyses were conducted in wines which had aged for a year in oak barrels, vintage 2016. The results demonstrated the clear dominance of the phenolic content of the wine (in the era of 50%) after its aging. Even though the results between fresh and aged wines cannot be straightly compared as they refer to different vintages, the increased content in total phenolics is indicative for red wines and the Xinomavro variety.

Εισαγωγή

Η αμπελουργική ζώνη της Νάουσας αποτελεί την πατρίδα μίας από τις τέσσερις οινοποιήσιμες ποικιλίες σταφυλιού – πρεσβευτές της Ελλάδας, το Ξινόμαυρο. Τα κρασιά που παράγονται από την ποικιλία χαρακτηρίζονται από γευστική και αρωματική πολυπλοκότητα και έχουν δυνατότητες παλαίωσης και εξέλιξης έως και κάποιες δεκαετίες, αριθμός που διαρκώς μεγαλώνει με την εφαρμογή των σύγχρονων τεχνικών οινοποίησης. Η ζώνη της Νάουσας είναι χωρισμένη σε υποπεριοχές με βάση ασαφή στοιχεία. Η απουσία δεδομένων το 1971, όταν και ορίστηκε η περιοχή ως ζώνη παραγωγής οίνων Ο.Π.Α.Π., σχετικών με το έδαφος και το μικροκλίμα της κάθε περιοχής οδήγησε στον καθορισμό της ζώνης με βάση τα κοινοτικά όρια και όχι τη δυναμικότητα της κάθε περιοχής. Έκτοτε, γίνεται διαρκής προσπάθεια από τους οινοπαραγωγούς και τους αμπελουργούς της περιοχής για έρευνα των παραγόντων που επιδρούν στα ποιοτικά χαρακτηριστικά της πρώτης ύλης και των παραγόμενων οίνων. Στο πέρας της τελευταίας δεκαετίας (2010-2020), έγινε επαναπροσδιορισμός των νομοθετικών πλαισίων σχετικά με τις ονομασίες προέλευσης των γεωργικών προϊόντων. Έκτοτε, η ονομασία Ο.Π.Α.Π. υπάγεται σε μία νέα κατηγορία με το όνομα Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης (Π.Ο.Π.). Στη συνέχεια της παρούσης εργασίας, αν και χρησιμοποιούνται και οι δύο όροι, δηλώνεται η ορθότητα του πλέον σύγχρονου και θεωρούνται αμφότεροι αποδεκτοί. Στόχος, πλέον, είναι ο επαναπροσδιορισμός της ζώνης ώστε να παράγονται υψίστης ποιότητας προϊόντα. Με τη συμβολή της επιστήμης και της τεχνολογίας σε δύο βασικούς άξονες: την ανάλυση των παραγόμενων προϊόντων και τις τεχνικές αμπελουργίας ακριβείας, το όραμα για την βελτιστοποίηση των προϊόντων του Ξινόμαυρου γίνεται πλέον απτή πραγματικότητα.

Στην αρχή της δεκαετίας του 1970 και αφότου ο αμπελώνας της Νάουσας, όπως και του μεγαλύτερου τμήματος της κεντρικής Ευρώπης, είχαν πληγεί από την φυλλοξήρα, η ανασύσταση των αμπελώνων της περιοχής ξεκίνησε αποκλειστικά και συστηματικά από πρωτοβουλία της εταιρείας Μπουτάρη. Έκτοτε, μέχρι και σήμερα συνεχίζεται η διαρκής προσπάθεια ανάδειξης των δυνατοτήτων του Ξινόμαυρου Νάουσας. Βασικό παράγοντα αποτελεί ο συνεχής πειραματισμός με νέες αμπελουργικές και οινοποιητικές τεχνικές και η παραγωγή πειραματικών οίνων με καινοτόμες μεθόδους.

Σε συνεργασία με την εταιρεία Μπουτάρη και με στόχο τη συνεισφορά στις παραπάνω προσπάθειες, εκπονήθηκε και η παρούσα μελέτη. Αντικείμενο είναι η ανάλυση του φαινολικού περιεχομένου των σταφυλιών και των παραγόμενων οίνων Ξινόμαυρου που παράγονται σε τρία διαφορετικά αμπελοτόπια της ζώνης της Νάουσας. Γνωρίζοντας τα αμπελουργικά χαρακτηριστικά των αντίστοιχων αμπελώνων και συνδυάζοντάς τα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων, μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα για τον τρόπο που επηρεάζεται το παραγόμενο σταφύλι, και κατ'έπекταση το κρασί από τη θέση και τα χαρακτηριστικά του αμπελιού. Σε συνδυασμό με βιβλιογραφικά δεδομένα από μελέτες που έχουν γίνει στο παρελθόν για τα σταφύλια και τους οίνους του Ξινόμαυρου Νάουσας, παρουσιάζονται γενικότερες πληροφορίες για τη σχέση των χαρακτηριστικών του αμπελιού με τον χαρακτήρα του σταφυλιού της ποικιλίας στη συγκεκριμένη περιοχή.

Θεωρητικό Υπόβαθρο

1. Αμπέλι- Σταφύλι

1.1. Αμπέλι

1.1.1. Ιστορική πορεία του αμπελιού προς την εφαρμογή αμπελουργίας ακριβείας

Η ιστορία του αμπελιού σαν φυτό είναι πολύ μακρά σε βάθος χρόνου. Η εμφάνιση των Αμπελιδών στη γη, σύμφωνα με παλαιοντολογικά ευρήματα, έγινε κατά την ανώτερη κρητιδική υποπερίοδο του μεσοζωικού αιώνα, δηλαδή πριν από εκατό εκατομμύρια και πλέον έτη (Σταύρακας, 2015).

Τα σταφύλια που ανήκουν στο γένος *Vitis*, ένα από τα 11 γένη της οικογένειας των αμπελοειδών (*Vitaceae*). Το *Vitis* περιλαμβάνει σχεδόν 60 άγρια είδη τα οποία έχουν περιγραφεί, κυρίως περιορισμένα στη βόρεια θερμοκρασιακή ζώνη. Η παγκόσμια βιομηχανία κρασιού, παρόλα αυτά στηρίζεται μόνο στο είδος *Vitis Vinifera L.*, το οποίο είναι γηγενές μόνο στην Μικρά Ασία κοντά στην Κασπία και στην Μαύρη θάλασσα και γενικά ονομάζεται Ευρωπαϊκό σταφύλι. Υπολείμματα του *Vitis Vinifera L.* βρέθηκαν για πρώτη φορά στην Ευρώπη (Γαλλία και Ολλανδία), σε διαστρώσεις των υποπεριόδων μειοκαίνου και πλειοκαίνου, πριν από 25 έως 2 εκατομμύρια χρόνια (Σταύρακας, 2015). Η γεωλογική σειρά προέλευσης του *Vitis vinifera* δεν είναι γνωστή. Άλλα είδη σταφυλιού έχουν χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς για την παραγωγή κρασιού ή για την παραγωγή υβριδίων με το *Vitis vinifera*, αλλά παρόλο το τοπικό ενδιαφέρον ή αναγκαιότητα, τα πλέον διάδεδομένα παραγόμενα κρασιά προέρχονται από το *Vitis vinifera*. Οι απόγονοι που προέρχονται και από άλλα είδη συνήθως απαιτούν ειδικούς χειρισμούς στον αμπελώνα και στην οινοποίηση, συνεπώς καθίσταται δυσκολότερη η διαχείρισή τους. Λαμβάνοντας τα ανωτέρω υπόψη, όταν γίνεται αναφορά στο αμπέλι, εκτός αν σημειώνεται διαφορετικά, αφορά το είδος *Vitis vinifera*. Η καλλιέργεια αυτού του είδους ξεκίνησε πολύ νωρίς. Στην πορεία προσαρμογής του στην γεωργία πιθανώς το αμπέλι να είναι το φυτό που έχει τροποποιηθεί περισσότερο από κάθε άλλο από τον άνθρωπο. Η αμπελουργία ήταν η αιτία, όχι μόνο το αποτέλεσμα, της ύπαρξης των αρχαίων πολιτισμών στις Περσικές, Μεσοποτάμιες, Καυκάσιες και Μεσόγειες περιοχές από όπου προέρχονται οι δυτικοευρωπαϊκοί πολιτισμοί. Κατά την αρχή της Χριστιανικής εποχής, όπου ήδη η αμπελουργία εξασκούταν για χιλιάδες χρόνια, ο Pliny είναι ο γηραιότερος που περιέγραψε λεπτομερώς 90 ποικιλίες σταφυλιού που χρησιμοποιούσαν οι Ρωμαίοι. Πιθανώς περισσότερες από 5000 ποικιλίες του *Vitis vinifera* και τα αντίστοιχα υβρίδια του με άλλα *Vitis* είδη έχουν αναγνωρισθεί σήμερα. Με τη συνεχή επιλογή κλώνων και τη διασταύρωση τους, οι ποικιλίες μπορούν να συνεχίζουν να αυξάνονται χωρίς όριο. Όλα τα αξιοσημείωτα κρασιά του κόσμου οφείλουν τα σημαντικά χαρακτηριστικά τους στην ποικιλία ή στις ποικιλίες των σταφυλιών από τις οποίες παράχθηκαν. Σε κάποιες περιοχές μάλιστα, υπάρχουν ποικιλίες με Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης (Π.Ο.Π.) ώστε να διατηρηθούν τα χαρακτηριστικά αυτά τα οποία καθιστούν σημαντικά αυτά τα κρασιά. Τέτοια ποικιλία αποτελεί και το Ξινόμαυρο Νάουσας, το οποίο μελετάται στην παρούσα εργασία.

Οι λεπτές διαφορές που μπορεί να διαφοροποιούν τα κρασιά ανά αμπελώνα, κλίμα και χρονιά είναι σημαντικές, αλλά μικρότερης βαρύτητας συγκρινόμενα με τις διαφορές ανά ποικιλία σταφυλιού. Είναι προφανές ότι η επιλογή της ποικιλίας είναι ιδιαίτερως κρίσιμη (Boulton et al., 1996).

Στη σύγχρονη αμπελουργία, η ανάγκη για βαθύτερη γνώση των χαρακτηριστικών των ποικιλιών, καθώς και η ανάπτυξη μεθόδων επιλογής και πολλαπλασιασμού συγκεκριμένων πρέμνων για κάθε ποικιλία, με στόχο τη βελτίωση του τελικού προϊόντος, κρίνεται επιτακτική. Για την κάλυψη της ανάγκης αυτής, πέραν της επιλογής ποικιλίας, οι καλλιεργητές επενδύουν ιδιαίτερα στην κατάλληλη επιλογή κλώνου της ποικιλίας που θα χρησιμοποιήσουν, ώστε να επιτύχουν τον βέλτιστο συνδυασμό κλώνου – περιβάλλοντος καλλιέργειας. Η κλωνική επιλογή στην άμπελο, εκμεταλλεύεται και προσθέτει αξία στην υπάρχουσα ενδοποικιλιακή παραλλακτικότητα (Τσανγκαράτος, 2020). Ως κλώνος αναφέρεται μια ομοιόμορφη ομάδα ατόμων (αμπελιών) που προέρχονται από ένα μεμονωμένο άτομο (αμπέλι) από αγενή πολλαπλασιασμό (Hartmann et al., 1990). Όλες οι ποικιλίες σταφυλιών πολλαπλασιάζονται με αγενή τρόπο ώστε να διατηρήσουν τα μοναδικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας. Αλλά μικρές γενετικές διαφοροποιήσεις συχνά συμβαίνουν ανάμεσα σε εκατομμύρια κυττάρων που απαρτίζουν το αμπέλι. Εάν ένα νέο αμπέλι πολλαπλασιαστεί από μόσχευμα που έχει τέτοιους διαφοροποιημένους ιστούς, μπορεί να αναπτύξει κάποιου είδους διαφορετικά χαρακτηριστικά από το προηγούμενο αμπέλι. Εάν αυτή η διαφορά είναι επιθυμητή, το συγκεκριμένο αμπέλι μπορεί να πολλαπλασιαστεί περαιτέρω για να διατηρηθούν τα νέα χαρακτηριστικά (φυσική επιλογή). Με αυτόν τον τρόπο δημιουργείται ένας νέος κλώνος και του δίνεται ένα νούμερο ή συγκεκριμένο όνομα για να ξεχωρίζει από τους υπολοίπους κλώνους. Σημειώνεται ότι οι διαφορές μεταξύ των κλώνων είναι μικρότερες από αυτές μεταξύ των ποικιλιών. Ο φαινότυπος των διαφόρων κλώνων, όπως είναι φυσικό, διαφέρει. Τα χαρακτηριστικά που δημιουργούν αυτή τη διαφοροποίηση είναι ο χρόνος ωρίμανσης, η αρχιτεκτονική του σταφυλιού, η απόδοση παραγωγής, η ποιότητα των καρπών ή άλλα χαρακτηριστικά (Μυλωνά, 2011). Γίνεται, λοιπόν, εμφανές πως με την συνεχή αύξηση διαθεσιμότητας μητρικού φυτικού υλικού, οι αμπελοκαλλιεργητές καλούνται κατά τη φύτευση ενός νέου αμπελώνα να εξετάζουν ενδελεχώς όχι μόνο την καταλληλότητα της ποικιλίας που επιθυμούν να καλλιεργήσουν (σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά και τις συνθήκες που επικρατούν στην περιοχή καλλιέργειας) αλλά και την επιλογή κατάλληλου κλώνου (Τσανγκαράτος, 2020).

Ακόμη μεγαλύτερη εξειδίκευση από την επιλογή συγκεκριμένου κλώνου μίας ποικιλίας, δημιουργεί και η επιλογή συγκεκριμένου υποκειμένου. Η χρήση υποκειμένων είναι τόσο ευρέως διαδεδομένη που έχει γίνει πάγια τακτική στην αμπελοκαλλιέργεια. Για να παραχθεί ένα υποκείμενο είναι απαραίτητος ο εμβολιασμός. Εμβολιασμός είναι η τεχνολογία του συνδυασμού τμημάτων φυτών με τέτοιο τρόπο ώστε να ολοκληρωθούν μόνιμα σε ένα ολοκληρωμένο και αυτοτελές φυτό ικανό να αυξάνεται και να καρποφορεί από μόνο του (Τζίκος, 2010). Αν και ο όρος υποκείμενο περιγράφει στην κυριολεξία το ριζικό τμήμα το οποίο δέχεται εμβολιασμό, πρακτικά χρησιμοποιείται για να περιγράψει την ένωση ριζικού συστήματος – υπέργειας ανάπτυξης (εμβόλιο). Εμβολιασμένο υποκείμενο της ποικιλίας Ξινόμαυρο είναι και αυτό που μελετάται στην παρούσα εργασία. Συγκεκριμένα, πρόκειται για το υποκείμενο 110 R.

Πέραν της επιλογής του ιδανικού είδους σταφυλιού, ποικιλίας, κλώνου και υποκειμένου, σημαντικότερη είναι και η επιλογή του χώρου στον οποίο θα πραγματοποιηθεί η καλλιέργεια αλλά και του τρόπου διαχείρισής της σε όλα τα στάδια παραγωγής. Η διαχείριση των αμπελώνων παραγωγής οινοποιήσιμων σταφυλιών, όπου η προστιθέμενη αξία των παραγόμενων προϊόντων μπορεί να είναι μεγάλη, πρέπει να είναι τέτοια ώστε να επιτυγχάνεται η οικονομική και περιβαλλοντική βιωσιμότητά τους. Όμως, η εξασφάλιση της βιωσιμότητας και της κερδοφορίας εξαρτάται από τον ρυθμό επιστροφής του επενδυμένου κεφαλαίου, την πληρότητα της αξιοποίησης των διαθέσιμων πόρων και τη συμμόρφωση με υποχρεώσεις που αφορούν την προστασία του περιβάλλοντος και τη διατήρηση των φυσικών πόρων (Clingeffer et al., 1999). Ιδιαίτερα, η διαχείριση των διαθέσιμων φυσικών πόρων και των εισροών, όπως του νερού και των θρεπτικών στοιχείων είναι σημαντική γιατί τόσο η άρδευση όσο και η λίπανση επιδρούν στην αύξηση, την παραγωγή σταφυλιών και τη σύσταση της ράγας και επομένως εν δυνάμει και στην ποιότητα του παραγόμενου οίνου (Keller, 2005). Τα τελευταία χρόνια γίνεται αποδεκτό ότι η αποτελεσματική διαχείριση των αμπελώνων πρέπει να λάβει υπόψη τη μεγάλη διακύμανση της παραγωγής και της σύστασης των σταφυλιών που υπάρχει μέσα στους αμπελώνες. Η διακύμανση της παραγωγικότητας των φυτών και της ποιότητας της παραγωγής μέσα στον ίδιο τον αμπελώνα μπορεί να έχει σημαντικές επιπτώσεις στην ποιότητα των παραγόμενων οίνων (Bramley, 2010; Hamilton, 2007; Hall et al., 2008).

Κινούμενοι προς την κατεύθυνση της εξειδίκευσης των τεχνικών, οι αμπελοκαλλιεργητές στρέφονται στη χρήση τεχνικών αμπελουργίας ακριβείας. Η αμπελουργία ακριβείας είναι ένα σύστημα λήψης αποφάσεων και διαχείρισης των αμπελώνων με το οποίο επιδιώκεται ο αποτελεσματικότερος έλεγχος της διαδικασίας παραγωγής, ώστε να επιτυγχάνεται η βελτιστοποίηση των εισροών και των μεθόδων καλλιέργειας και τελικά η παραγωγή προϊόντων ποιότητας με το μικρότερο κόστος. Για την επίτευξη αυτών των στόχων, ως βάση για τη λήψη αποφάσεων διαχείρισης των αμπελώνων χρησιμοποιείται η γνώση της διακύμανσης εγγενών χαρακτηριστικών των αμπελώνων, όπως οι ιδιότητες του εδάφους και τα τοπογραφικά χαρακτηριστικά, καθώς και η ζωνρότητα και απόδοση των φυτών σε κλίμακα μεγαλύτερη του ενός φυτού (Bramley, 2010). Επειδή οι τεχνολογίες της πληροφορίας χρησιμοποιούνται εντατικά πλέον για τη βελτιστοποίηση των αποτελεσμάτων σε στρατηγικές διαχείρισης που βασίζονται στην αμπελουργία ακριβείας, η σύγχρονη αμπελουργία τείνει να ταυτιστεί με την αμπελουργία ακριβείας (Matese et al., 2009; Bramley, 2010). Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της αμπελουργίας ακριβείας είναι ο έλεγχος και η καταγραφή της διακύμανσης που εμφανίζουν στους αμπελώνες οι φυσικοί, χημικοί και βιολογικοί παράγοντες που επηρεάζουν τις επιδόσεις των φυτών της αμπέλου (Hall et al., 2002). Επιπρόσθετα αν η συλλογή δεδομένων είναι διαχρονική, καθίσταται δυνατή η δημιουργία βάσης γεωχωρικών πληροφοριών με σημαντική αξία για τη διαχείριση του τρύγου κάθε έτους (Μπατζιανούλης, 2015).

Παρατηρείται, λοιπόν, κατά την πάροδο του χρόνου, αύξηση στην τάση των ανθρώπων να επηρεάσουν τα χαρακτηριστικά του παραγόμενου καρπού του αμπελιού. Ο τρόπος να επιτύχουν το ιδανικό αποτέλεσμα είναι η κατάλληλη επιλογή και διαχείριση του φυτού αλλά και του χώρου στον οποίο καλλιεργείται. Για τον σκοπό αυτό είναι απαραίτητος ο διαρκής

πειραματισμός με διαφορετικούς συνδυασμούς παραγόντων και η μελέτη της σχέσης αιτίου- αποτελέσματος όπως αυτή θα προκύψει.

1.1.2. Απαιτήσεις της αμπέλου σε εδαφοκλιματικό περιβάλλον και παράγοντες που επιδρούν στο παραγόμενο προϊόν

Η σημασία της επίδρασης που ασκεί το οικολογικό περιβάλλον, δηλαδή το έδαφος και το κλίμα μιας αμπελουργικής περιοχής, στην ποιότητα των σταφυλιών μιας καλλιεργούμενης ποικιλίας αμπέλου, μπορεί να εκτιμηθεί αν γίνει αντιληπτό ότι τα τεχνολογικά χαρακτηριστικά των σταφυλιών έχουν χαμηλό συντελεστή κληρονομικής ικανότητας (H²), πράγμα που σημαίνει ότι η εκδήλωση των χαρακτηριστικών αυτών επηρεάζεται σε σημαντικό βαθμό από το περιβάλλον (Ρούμπος, 1996). Συγκεκριμένα, η απόδοση του αμπελιού έχει H² που κυμαίνεται από 0,25 έως 0,35, δηλαδή ο γενότυπος της ποικιλίας επιδρά μόνο κατά 25% έως 35%, ενώ το περιβάλλον καλλιέργειας στο σύνολο του κατά 65% έως 75% στην ποσότητα και ποιότητα παραγωγής. Φαίνεται, λοιπόν, πως μια ποικιλία που φέρει στο γενότυπο της κάποια ιδιαίτερα χαρακτηριστικά ποιότητας για να μπορέσει να εκφράσει στον μέγιστο βαθμό αυτά τα χαρακτηριστικά, θα πρέπει να καλλιεργηθεί στο κατάλληλο εδαφοκλιματικό περιβάλλον (Μπατζιανούλης, 2015).

1.1.2.1. Έδαφος

Από τους πιο σημαντικούς παράγοντες του περιβάλλοντος καλλιέργειας της αμπέλου που επηρεάζουν την ποιότητα και την ποσότητα του παραγόμενου προϊόντος, είναι το έδαφος. Η επίδραση του εδάφους στην ποσότητα και την ποιότητα της παραγωγής σταφυλιών είναι ιδιαίτερα σημαντική. Οι φυσικές και χημικές ιδιότητες του εδάφους, η γονιμότητά του και η υγρασιακή του κατάσταση παίζουν σημαντικό ρόλο στην καλλιέργεια της αμπέλου. Συγκεκριμένα, από τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά που καθορίζουν την καταλληλότητα ενός εδάφους για την εγκατάσταση ενός αμπελώνα και τη σωστή ανάπτυξη του ριζικού συστήματος των πρέμων, που καθορίζει και την παραγωγικότητά τους, είναι η διαθεσιμότητα νερού στο φυτό από το έδαφος και ο καλός αερισμός του εδάφους. Οι Rowe (1993) και Wang et al. (2001) υποστήριξαν ότι στις περιπτώσεις που το νερό και η διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος δεν αποτελούν περιοριστικούς παράγοντες ανάπτυξης της αμπέλου, το ριζικό σύστημα του φυτού έχει καλή ανάπτυξη που επιδρά θετικά στη λειτουργία του, στην παραγωγικότητά του και στην ποιότητα των προϊόντων του. Όσον αφορά τη σύσταση, τα αμμοχαλικώδη εδάφη ελαφράς σύστασης και μέτριας γονιμότητας είναι αυτά τα οποία προσφέρονται για ποιοτική αμπελουργία. Στα εδάφη αυτά εξασφαλίζεται καλή στράγγιση, οπότε πρέπει να γίνεται καλός εφοδιασμός τους με επαρκή ποσότητα νερού για την κάλυψη των υδατικών αναγκών των φυτών και έχουν μεγαλύτερη ικανότητα συγκράτησης θερμότητας, εξασφαλίζοντας έτσι γρήγορη ανάπτυξη του ριζικού συστήματος και πρωίμηση της ωρίμανσης της παραγωγής. Τα μέσης σύστασης

εδάφη, στα οποία κυριαρχεί ο πηλός και η άμμος, ενώ η περιεκτικότητα σε άργιλο βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα, προσφέρονται επίσης για ποιοτική αμπελουργία. Τα εδάφη βαρείας σύστασης στα οποία κυριαρχεί η άργιλος είναι συνήθως πιο γόνιμα, συγκρατούν υπερβολική υγρασία, κατεργάζονται δυσκολότερα, είναι όμως πιο ψυχρά με αποτέλεσμα να καθυστερεί η ανάπτυξη του ριζικού συστήματος. Δίνουν ευρωστία στη βλάστηση, οψιμίζουν την ωρίμανση της παραγωγής, αυξάνουν τις αποδόσεις, αλλά υποβαθμίζουν σημαντικά την ποιότητα των σταφυλιών. Τα εδάφη αυτά δεν προσφέρονται για ποιοτική αμπελουργία και πρέπει να αποκλείονται για την εγκατάσταση νέου αμπελώνα. Το pH του εδάφους που θεωρείται κατάλληλο για την καλλιέργεια της αμπέλου κυμαίνεται από 6,5-7,5. Όμως, η καλλιέργεια της αμπέλου αναπτύσσεται ικανοποιητικά και σε εδάφη που έχουν pH εκτός των παραπάνω ορίων. Σ' αυτό το σημείο θα πρέπει να επισημανθεί και πάλι η μεγάλη επίδραση που ασκεί το υποκείμενο που θα χρησιμοποιηθεί σε κάθε εδαφικό τύπο για την παραγωγή σταφυλιών από μια καλλιεργούμενη ποικιλία αμπέλου (Ρούμπος, 1996). Σε εδάφη με υψηλό pH η διαλυτότητα των περισσότερων θρεπτικών στοιχείων μειώνεται σημαντικά με αποτέλεσμα αυτά να μην είναι διαθέσιμα για το φυτό. Ιδιαίτερα σημαντική είναι η μείωση που παρατηρείται στην ικανότητα πρόσληψης από το φυτό μαγνησίου, γεγονός που μειώνει την φωτοσυνθετική ικανότητα του φυτού και την παραγωγή σακχάρων, υποβαθμίζοντας έτσι και την ποιότητα του κρασιού που θα παραχθεί. Από την άλλη, σε εδάφη με pH χαμηλότερα του 5, η ανάπτυξη του ριζικού συστήματος δεν είναι κανονική με αποτέλεσμα τη μειωμένη πρόσληψη νερού και θρεπτικών συστατικών. Δυο άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν άμεσα την παραγωγικότητα και την ποιότητα των καρπών της αμπέλου είναι η συνεκτικότητα και η πυκνότητα του εδάφους. Σε εδάφη που πραγματοποιούνται εργασίες με βαριά μηχανήματα το έδαφος γίνεται συνεκτικό με αποτέλεσμα την μείωση του πορώδους και της αναπνοής του ριζικού συστήματος. Αυτό οδηγεί σε μειωμένη ανάπτυξη του ριζικού συστήματος και σε μείωση της απορρόφησης θρεπτικών στοιχείων από το φυτό. Επίσης η αύξηση της αλατότητας του εδάφους του αμπελώνα σύμφωνα με τους Walker et al. (1996) προκαλεί τοξικά προβλήματα και προβλήματα λόγω της αυξημένης όσμωσης, που οδηγούν σε μείωση της παραγωγής, σε μειωμένη ανάπτυξη των πρέμων και σε αύξηση της συγκέντρωσης οξέων και ιόντων χλωρίου και νατρίου στους καρπούς. Οι παραπάνω εδαφικοί παράγοντες μαζί με ένα πλήθος ακόμη παραγόντων όπως η μηχανική σύσταση του εδάφους, το χρώμα του, η περιεχόμενη οργανική ουσία κ.α. επηρεάζουν άμεσα την παραγωγικότητα αλλά και την ποιότητα των προϊόντων της αμπέλου. Ο παραγωγός αποσκοπώντας σε αύξηση της παραγωγής και βελτίωση της ποιότητας πρέπει να εφαρμόζει καλλιεργητικές τεχνικές και επεμβάσεις, λαμβάνοντας πάντοτε υπόψη τις κλιματικές συνθήκες της εποχής, μειώνοντας τις αρνητικές επιπτώσεις αυτών των παραγόντων στην αμπελοκαλλιέργεια (Στουγιάννης, 2009).

1.1.2.2. Κλίμα

Μία από τις σημαντικότερες, αν όχι η σημαντικότερη, διαφοροποιήσεις στην έκφραση του χαρακτήρα κάθε ποικιλίας, δημιουργείται από την καλλιέργειά της σε διαφορετικά κλίματα. Οι κλιματικές συνθήκες που επικρατούν σε κάθε αμπελουργική περιοχή επηρεάζουν σημαντικά την παραγωγή των αμπελουργικών προϊόντων. Ποικιλίες που σε ένα δεδομένο κλιματικό περιβάλλον δίνουν άριστη ποιότητα σταφυλιών, καλλιεργούμενες σε διαφορετικό κλίμα και σε όμοιο τύπο εδάφους δεν δίνουν την ίδια ποιότητα. Αντίστροφα, συγκεκριμένα κλιματικά περιβάλλοντα έχουν τη δυνατότητα να εκφράσουν στο βέλτιστο τον χαρακτήρα ορισμένων ποικιλιών ενώ υπονομεύουν την ποιοτική έκφραση άλλων. Η θερμοκρασία, η ηλιοφάνεια, οι βροχοπτώσεις και οι άλλες συνιστώσες του κλίματος κάθε περιοχής είναι παράγοντες που ασκούν σημαντική επίδραση στην καλλιέργεια της αμπέλου (Μπατζιανούλης, 2015).

Εκτός του γενικότερου κλίματος μίας περιοχής, που είναι μία ευρεία και σχετικά απροσδιόριστη έννοια ως προς το μέγεθος της περιοχής που καλύπτει, υπάρχουν και πιο συγκεκριμένες περιγραφές των κλιματικών συνθηκών σε μικρότερα εύρη. Το μεσοκλίμα μιας περιοχής είναι ο μετασχηματισμός του μακροκλίματος, εξαιτίας τοπικών ιδιαιτεροτήτων, όπως είναι το ανάγλυφο του εδάφους, η ύπαρξη μεγάλων υδάτινων όγκων νερού, η έκθεση και η βλάστηση. Το μεσοκλίμα είναι παράγοντας που επηρεάζει τα ποιοτικά χαρακτηριστικά κάθε παραγωγής, τόσο κατά τη διάρκεια της βλαστικής περιόδου όσο και κατά τα διάφορα έτη (εσοδείες). Μία ακόμη πιο εξειδικευμένη περιγραφή είναι αυτή των παραγόντων του μικροκλίματος. Μικροκλίμα ονομάζεται το κλίμα το οποίο είναι κοντά και εντός του φυλλώματος. Επηρεάζεται από τις καλλιεργητικές πρακτικές που χρησιμοποιούνται (κλάδεμα, διευθέτηση κόμης, άρδευση κτλ.) και από τις καιρικές συνθήκες που επικρατούν (ηλιοφάνεια, ταχύτητα αέρα κτλ.). Το μικροκλίμα παίζει σημαντικό ρόλο στην ποιότητα των σταφυλιών. Η μεταβολή του μικροκλίματος οδηγεί σε μεταβολή της ποσότητας του φωτός πάνω στα σταφύλια καθώς και της ποσότητας του φωτός που απορροφάται από την επιφάνεια πάνω στην οποία πραγματοποιείται η φωτοσύνθεση (Smart et al., 1985), πράγμα που οδηγεί σε μεταβολές στη πορεία της ωρίμανσης και στον μεταβολισμό του φυτού, κατ' επέκτασιν και στην τελική σύσταση των παραγόμενων σταφυλιών. Γενικά οι περιβαλλοντικοί παράγοντες που επιδρούν στο τελικό προϊόν της αμπέλου αποτελούν πληθώρα και συνήθως αναφέρονται με τον γαλλικό όρο "terroir". Οι παράγοντες αυτοί επεμβαίνουν καθοριστικά στη γενικότερη σύσταση των σταφυλιών, επηρεάζοντας άμεσα ή έμμεσα και τη βιοσύνθεση φαινολικών συστατικών (Koundouras et al., 2006).

1.1.2.3. Θερμοκρασία

Οι θερμοκρασίες που επικρατούν στην περιοχή καλλιέργειας σε όλη τη διάρκεια του ετήσιου κύκλου του αμπελώνα επιδρούν αποτελεσματικά στις φυσιολογικές λειτουργίες της αμπέλου, από την έναρξη της βλάστησης μέχρι τη φυλλόπτωση. Η έναρξη της βλάστησης που συμπίπτει με την έκπτυξη των οφθαλμών απαιτεί τιμή θερμοκρασίας που παραλλάσει ανάλογα με την ποικιλία, τη χρονιά, τον χρόνο κλαδέματος, τη θρεπτική κατάσταση των πρέμων, τη γονιμότητα και την υγρασκοπική κατάσταση του εδάφους. Η τιμή αυτή της θερμοκρασίας ονομάζεται 'μηδέν βλάστησης' και ως τέτοια θεωρείται η θερμοκρασία των 10 °C για όλες τις ποικιλίες και για όλες τις περιοχές. Μεγάλη επίδραση για την ευδοκίμηση της αμπέλου έχουν οι θερμοκρασίες που είναι ίσες ή ανώτερες από την τιμή των 10 °C. Κατά την περίοδο ωρίμανσης, η θερμοκρασία επηρεάζει τις διεργασίες του πρωτογενούς αλλά και του δευτερογενούς μεταβολισμού της ράγας. Οι ήπιες γενικά θερμοκρασίες κατά την περίοδο ωρίμανσης ευνοούν την παραγωγή οίνων με έντονο ποικιλιακό χαρακτήρα - τα σάκχαρα παρουσιάζουν μέγιστη συσσώρευση σε θερμοκρασία χαμηλότερη των 30°C, ενώ όταν το θερμοκρασιακό εύρος είναι μεταξύ των 20°C -25°C δρα ευνοϊκά στη σύνθεση των ανθοκυανών και όταν είναι ανάμεσα στους 18°C-21°C των αρωματικών ουσιών. Βάσει των αναγκών τους σε θερμοκρασία οι ποικιλίες διαχωρίζονται. Έχει παρατηρηθεί πως υπάρχουν ποικιλίες που έχουν απαιτήσεις υψηλών τιμών θερμοκρασίας, είναι δηλαδή όψιμης ωρίμανσης ποικιλίες, κατά συνέπεια θα πρέπει να καλλιεργηθούν σε περιβάλλον του οποίου το ενεργό θερμικό άθροισμα να καλύπτει τις απαιτήσεις της ποικιλίας αυτής. Υπάρχουν ποικιλίες χαμηλών θερμικών απαιτήσεων δηλαδή πρώιμης ωρίμανσης, οι οποίες μπορούν να καλλιεργηθούν και σε περιβάλλοντα με χαμηλό ενεργό θερμικό άθροισμα (Ρούμπος, 1996).

1.1.2.4. Ηλιοφάνεια

Ο παράγοντας της ηλιοφάνειας πρέπει να διαχωριστεί από τον παράγοντα της θερμοκρασίας. Η διάρκεια και η ένταση της ηλιοφάνειας κατά τη διάρκεια της 'ευνοϊκής περιόδου βλάστησης' της αμπέλου, επηρεάζει σημαντικά την ευδοκίμηση της. Ο ρυθμός της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας των φύλλων εξαρτάται από την έκθεσή τους στο ηλιακό φως. Η ποσότητα των υδατανθράκων που συντίθεται στα φύλλα επηρεάζει την ανάπτυξη και τη ζωηρότητα της βλάστησης καθώς και την πορεία ωρίμανσης των σταφυλιών. Το ήμισυ περίπου της ποσότητας των υδατανθράκων αξιοποιείται για την ανάπτυξη του πρέμνου και το άλλο ήμισυ για την ανάπτυξη και ωρίμανση των σταφυλιών (Ρούμπος, 1996).

1.1.2.5. Υγρασία

Όπως κάθε είδος φυτού, έτσι και κάθε ποικιλία αμπέλου, έχουν συγκεκριμένες υδατικές ανάγκες προκειμένου να βελτιστοποιήσουν την παραγόμενη ποσότητα και ποιότητα των καρπών τους. Η εξασφάλιση επαρκούς εδαφικής υγρασίας για την κάλυψη των αναγκών των φυτών καθ' όλη τη διάρκεια της βλαστικής περιόδου είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την πραγματοποίηση όλων των φυσιολογικών τους λειτουργιών. Στη σύγχρονη αμπελοκαλλιέργεια οι παραγωγοί αναζητούν την εφαρμογή τεχνικών οι οποίες, εκτός της βελτιστοποίησης της παραγωγής, στοχεύουν στο χαμηλότερο κόστος και στο ελάχιστο περιβαλλοντικό αποτύπωμα της καλλιέργειάς τους. Συνεπώς, η λήψη αποφάσεων ώστε να βρεθεί η ιδανική ισορροπία, λαμβάνοντας υπόψιν και την επίδραση των βροχοπτώσεων στην υγρασία, πρόκειται για ιδιαίτερα περίπλοκη διαδικασία. Η άμπελος κατά τη διάρκεια της βλαστικής της περιόδου έχει ανάγκη από περίπου 150-250 mm διαθέσιμου νερού. Η ακριβέστερη ποσότητα εξαρτάται από το γεωγραφικό πλάτος, το ηλιοθερμικό δυναμικό κάθε περιοχής, τις εδαφικές ιδιότητες, την ποικιλία της αμπέλου, το σχήμα διαμόρφωσης και άλλα. Συμπερασματικά, μπορούμε να πούμε ότι οι αμπελουργικές περιοχές της Ελλάδας διαθέτουν ικανοποιητικές έως υψηλές τιμές ηλιοθερμικού δυναμικού συνεπώς ευνοούν τη γρηγορότερη ωρίμανση των πρώιμων ποικιλιών αμπέλου και καλύπτουν τις ηλιοθερμικές απαιτήσεις των όψιμων, μεγάλης περιόδου βλάστησης ποικιλιών αμπέλου (Ρούμπος, 1996).

1.1.2.6. Αμπελουργικές τεχνικές

Οι αμπελουργικές τεχνικές επηρεάζουν άμεσα αλλά και έμμεσα την ποιότητα των σταφυλιών και των οίνων. Οι περισσότερες αμπελουργικές πρακτικές που εφαρμόζονται όπως η άρδευση, η λίπανση, τα συστήματα διαμόρφωσης και η διαχείριση του φυλλώματος επιδρούν στην αναλογία βλάστησης-παραγωγής. Σε ορισμένες περιπτώσεις η διαφορετική αυτή διαχείριση μπορεί να έχει θετική και σε άλλες αρνητική επίδραση στην ποιότητα των σταφυλιών και κατ' επέκταση των παραγόμενων οίνων.

Η περιεκτικότητα των ραγών σε φαινολικά και αρωματικά συστατικά εξαρτάται από ένα πλήθος περιβαλλοντικών και αμπελουργικών παραγόντων. Επιπλέον, η ποικιλία θεωρείται καθοριστική για τη σύσταση των ραγών σε φαινολικές και πτητικές ενώσεις και κατά συνέπεια των οίνων που παράγονται (Κυραλέου, 2016).

Κάποιοι βασικοί αμπελουργικοί παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα των παραγόμενων σταφυλιών είναι και αυτοί που έχουν ληφθεί υπόψιν στους αμπελώνες των οποίων τα προϊόντα μελετώνται στην παρούσα εργασία. Οι παράγοντες αυτοί παρουσιάζονται ανά κατηγορία:

- a. Σχεδίαση αμπελώνα :
 - i) Ηλικία των φυτών
 - ii) Αποστάσεις φύτευσης
 - iii) Υποκείμενο

- iv) Διεύθυνση των γραμμών
- v) Σύστημα διαμόρφωσης
- b. Τοπογραφία αμπελώνα :
 - i) Υψόμετρο
 - ii) Κλίση
 - iii) Προσανατολισμός
- c. Διαχείριση αμπελώνα :
 - i) Καλλιέργεια
 - ii) Λίπανση
 - iii) Ενσωμάτωση κλιματίδων
 - iv) Κλάδεμα
 - v) Άρδευση
 - vi) Υποστήλωση
- d. Έδαφος αμπελώνα :
 - i) Μηχανική σύσταση
 - ii) Άζωτο
 - iii) pH
 - iv) Ανθρακικό ασβέστιο
 - v) Οργανικές ουσίες
 - vi) Βάθος ριζικού συστήματος

(Τζίκος, 2010; Κυραλέου, 2016; Τάσκος, 2012; Σαρηγιαννίδη, 2008).

1.1.3. Η αμπελουργική ζώνη της Νάουσας

1.1.3.1. Ιστορικά και γεωγραφικά στοιχεία

Ένας από τους βασικότερους Ελληνικούς δρόμους κρασιού, όπως ονομάζονται οι περιοχές αμπελοκαλλιέργειας, είναι αυτός της Βορείου Ελλάδας. Σε αυτόν περιέχεται η ζώνη Ονομασίας Προέλευσης Ανωτέρας Ποιότητας (Ο.Π.Α.Π.) της Νάουσας, στην οποία βασική καλλιεργήσιμη ποικιλία είναι το Ξινόμαυρο. Οι οίνοι που παράγονται από σταφύλια της ποικιλίας Ξινόμαυρο αναγνωρίστηκαν το 1971 ως Ο.Π.Α.Π. και την ίδια περίοδο καθορίστηκαν τα όρια και τα γεωγραφικά τμήματα μέσα στα οποία θα πραγματοποιείται η καλλιέργειά τους και θα παράγονται οι οίνοι Ο.Π.Α.Π.. Ένα από τα τμήματα αυτά ήταν και η περιοχή της Νάουσας, όμως όχι το μοναδικό. Η αμπελουργική ζώνη παραγωγής οίνων Ο.Π.Α.Π. «Νάουσα» καταλαμβάνει έκταση περίπου 7000 στρεμμάτων. Βρίσκεται στους πρόποδες του όρους Βερμίου, απέχει περίπου 90 km δυτικά της Θεσσαλονίκης και εκτείνεται σε υψόμετρο 100 – 400 m. Οι αμπελώνες είναι ηλιόλουστοι και προφυλαγμένοι από τους βόρειους ανέμους και το έδαφος είναι αργιλοπηλώδες και ασβεστόχο (Βαλιάντζα, 2018). Περιλαμβάνει τους αμπελώνες της Γάστρας (τοποθεσία που βρίσκεται στα όρια του δήμου

της Νάουσας) και τους αμπελώνες των κοινοτήτων Μαρίνας, Γιαννακοχωρίου, Λευκαδίων, Ν. Στενημάχου, Τριλόφου και Φυτειάς (Γκουλιώτη, 2000).

Η αμπελοκαλλιέργεια στη Νάουσα και ο παραγόμενος οίνος της περιοχής έχουν μακρά ιστορική παράδοση. Με βάση ανέκδοτα κατάστιχα που βρίσκονται στην Εθνική Βιβλιοθήκη της Βουλγαρίας και αναφέρονται στις καλλιεργούμενες εκτάσεις της Οθωμανικής Αυτοκρατορίας στην κεντρική και δυτική Μακεδονία, το 1528, η περιοχή της Νάουσας (Άγουστος) εμφανίζεται ως αμπελότοπος του καζά (επαρχία, στα Οθωμανικά) της Βέροιας. Οι πρώτες αξιολογικές γραπτές μαρτυρίες σχετικά με την ποιότητα του παραγόμενου στην περιοχή οίνου αναφέρονται στην περίοδο από το 1700 έως και τα τέλη του 1800.

Στις αρχές του εικοστού αιώνα έγινε η αρχή για διαχωρισμό των αμπελώνων με βάση το ποιοτικό τους δυναμικό. Η επίδραση της φυλλοξήρας αλλά και τα νέα δεδομένα λόγω των δύο παγκόσμιων πολέμων οδήγησαν στην καταστροφή του αμπελώνα της Νάουσας, ο οποίος ανασυστάθηκε μόλις στις αρχές της δεκαετίας του 1970 χάρη στην πρωτοβουλία της εταιρείας Μπουτάρη (Βογιατζής, 2005).

1.1.3.2. Ο αμπελώνας της Νάουσας σήμερα

Ο αμπελώνας του εικοστού πρώτου αιώνα στην έκταση των 7000 περίπου στρεμμάτων καλλιεργημένων με την ποικιλία Ξινόμαυρο αποτελείται κυρίως από υποκείμενα 110R και 41B. Η πλειονότητα των αμπελώνων περιλαμβάνει φυτά διαμορφωμένα σε γραμμικό αμφίπλευρο σύστημα (Rowat) με 4-7 κεφαλές των δύο οφθαλμών. Οι αποστάσεις φύτευσης κυμαίνονται από 1,8-2,5 X 1,2-1,5 m, το οποίο πρακτικά μεταφράζεται σε 266-400 φυτά ανά στρέμμα. Το ύψος διαμόρφωσης ποικίλει από 30 ως 60 cm, ενώ το ύψος της φυλλικής επιφάνειας από 60 ως 120 cm. Η απουσία το 1971 δεδομένων σχετικών με το έδαφος και το μικροκλίμα της κάθε περιοχής οδήγησε στον καθορισμό της ζώνης παραγωγής Οίνων Ο.Π.Α.Π. «Νάουσα», με βάση κοινοτικά όρια και όχι τη δυναμικότητα της κάθε περιοχής. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα να φυτευτεί το Ξινόμαυρο ακόμη και σε περιοχές ακατάλληλες για την καλλιέργειά του, αλλά και με υποκείμενα που δεν ήταν τα πλέον ενδεικνυόμενα. Την ίδια περίοδο οι αμπελουργοί, απουσία πλαισίου κανονισμών, ακολούθησαν διαφορετικές αμπελουργικές τεχνικές στους αμπελώνες τους με αποτέλεσμα να δημιουργηθεί σημαντική διαφοροποίηση ως προς τις αποστάσεις φύτευσης, το ύψος διαμόρφωσης, τη φυλλική επιφάνεια, τη διαχείριση του εδάφους, την άρδευση, τη λιπαντική τακτική και τις αποδόσεις. Με την πάροδο του χρόνου προέκυψε η πρόταση για καλλιέργεια εντός της ζώνης διαφορετικών ερυθρών αλλά και λευκών ποικιλιών σε μία προσπάθεια για βελτίωση του οινικού δυναμικού της και για παραγωγή νέων κρασιών που θα πλατύνουν το εύρος των προϊόντων που παράγονται σε αυτή. Αλλά και πριν την αναγνώριση του Ο.Π.Α.Π. «Νάουσα», στη ζώνη καλλιεργούνταν και άλλες ποικιλίες (Νεγκόσκα, Πρεκνιάρικο, Cinsaut κ.α.). Παράλληλα με την προσπάθεια διεύρυνσης των καλλιεργούμενων ποικιλιών, η επιστημονική έρευνα, επιβεβαιώνοντας την παραλλακτικότητα του Ξινόμαυρου ανέδειξε αξιολογικούς οινικά κλώνους, οι οποίοι μπορούν να συμβάλλουν σημαντικά στη βελτίωση της

ποιότητας των κρασιών, αλλά και ισχυρές ενδείξεις διαφορετικής αμπελουργικής και οινικής συμπεριφοράς της ποικιλίας στα διαφορετικά οικοσυστήματα της ζώνης (Βογιατζής, 2005).

1.2. Σταφύλι

1.2.1. Τα μέρη της ράγας και η χημική τους σύσταση

1.2.1.1. Τα μέρη της Ράγας

-Η Σάρκα

Το μεγαλύτερο ποσοστό της μάζας της ράγας αποτελεί η σάρκα. Η σάρκα αποτελείται από 20-25 ή και περισσότερες στιβάδες πενταγωνικών ή εξαγωνικών κυττάρων με πολύ λεπτές μεμβράνες. Διακρίνονται τρεις ζώνες κυττάρων χωρίς σαφή διαχωριστικά όρια· η εξωτερική και μεσαία ζώνη που αποτελούν το μεσοκάρπιο και η εσωτερική ζώνη που συνιστά το ενδοκάρπιο.

Τα κύτταρα της σάρκας αυξάνουν τη διάμετρό τους κατά τον χρόνο ανάπτυξης της ράγας 3-8 φορές. Τα κύτταρα αυτά έχουν την τυπική υφή των ανεπτυγμένων φυτικών κυττάρων. Δηλαδή, κάτω από τη λεπτή κυτταρική μεμβράνη βρίσκεται ένα λεπτό στρώμα κυτοπλάσματος με τον πυρήνα προς την άκρη, ενώ ολόκληρο το εσωτερικό καταλαμβάνεται από ένα μεγάλο χυμοτόπιο που περιέχει τον κυτταρικό χυμό και είναι αυτό που δίνει το γλεύκος. Οι μεμβράνες των συνεχόμενων κυττάρων δεν είναι ενωμένες μεταξύ τους σε όλη την περιφέρεια τους, αλλά αφήνουν στις γωνίες μικρούς μεσοκυττάριους χώρους που επικοινωνούν μεταξύ τους και μέσω των οποίων επέρχονται εναλλαγές αερίων με το εξωτερικό περιβάλλον. Η ράγα τροφοδοτείται από το φυτό χάρη σε ένα δίκτυο από βιβλαγγειώδεις δέσμες που διασχίζουν τον μίσχο, τον βόστρυχο, τους ποδίσκους και εισέρχονται στη ράγα από το κέντρο της κολλύρας. Το αγγειακό αυτό σύστημα βρίσκεται σε επικοινωνία με τα φύλλα και τις ρίζες μέσω ανάλογων αγγειακών δεσμίδων, με τις οποίες η ράγα προσλαμβάνει ειδικότερα τα σάκχαρα από τα φύλλα και τις ανόργανες ουσίες από τις ρίζες (Μυλωνά, 2011).

-Ο Φλοιός

Ο φλοιός είναι το εξωτερικό περίβλημα της ράγας και αποτελείται από την επιδερμίδα και την υποδερμίδα, που απαρτίζουν το μεμβρανώδες και ελαστικό περικάρπιό της. Η επιδερμίδα αποτελείται από μία-δύο στιβάδες λεπτών πεπλατυσμένων κυττάρων με μεμβράνες μάλλον παχιές και ανθεκτικές ενώ βαθύτερα υπάρχουν 6-10 στιβάδες κυττάρων μεγαλύτερων διαστάσεων από εκείνα της επιδερμίδας, τα οποία αποτελούν την υποδερμίδα (Μυλωνά, 2011).

-Τα Γίγαρτα

Τα γίγαρτα, κοινώς κουκούτσια, είναι ο σπόρος της αμπέλου. Συνήθως, υπάρχουν 1-3 και σπανιότερα 4 γίγαρτα ανά ράγα, ενώ υπάρχουν και ράγες που δεν περιέχουν κανένα. Όμως, ο αριθμός των γιγάρτων ανά ράγα επηρεάζεται από την ποικιλία και τις κλιματολογικές συνθήκες κατά την ανθοφορία και για αυτό μπορεί να διαφέρει από έτος σε έτος, ειδικότερα σε περιοχές που επικρατούν πολλές φορές δυσμενείς συνθήκες κατά την περίοδο της ανθοφορίας. Στην εγκάρσια τομή ενός γιγάρτου διαπιστώνεται ότι αυτό αποτελείται από τη σάρκα ή λευκωματώδη ιστό που προστατεύεται εξωτερικά από το κέλυφος ή επισπέρμιο και εμπεριέχει το έμβρυο.

Η σάρκα του γιγάρτου (λευκωματώδης ιστός) είναι πλούσια σε αποθησαυριστικές ουσίες που εξασφαλίζουν την αύξηση του εμβρύου κατά τη βλάστηση του γιγάρτου. Το έμβρυο αποτελείται από κύτταρα πλούσια σε αλατούχες ουσίες, ενώ το κέλυφος αποτελείται από τρεις χιτώνες που κατά τη διάρκεια της περιόδου ωρίμανσης εμπλουτίζονται σε φαινολικά παράγωγα (Μυλωνά, 2011).

-Η Εκατοστιαία Σύνθεση της Ράγας

Προκειμένου να δοθεί μία γενική εικόνα ως προς τις αναλογίες των επιμέρους συστατικών της ράγας (την εκατοστιαία σύνθεσή της) και τις διαφορές που μπορεί να παρουσιάζονται από ποικιλία σε ποικιλία, παρατίθενται τα στοιχεία που έχουν καταγραφεί για έντεκα ελληνικές και έξι ξένες ερυθρές ποικιλίες που καλλιεργούνταν στον αμπελώνα του Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης (Κουράκου-Δραγωνά, 1998). Όπως προκύπτει από τα στοιχεία αυτά: Το ποσοστό των φλοιών επί του βάρους της ράγας είναι κατά μέσο όρο 6,3% για τις ελληνικές ποικιλίες και 7,9% για τις ξένες ποικιλίες. Πίσω όμως από αυτές τις μέσες τιμές κρύβονται διαφορές πολύ σημαντικές για την οινολογική πρακτική (π.χ. 2,0% για το Φιλέρι και 13,5% για το Ξινόμαυρο, 3,8% για το Cinsault και 12% για το Cabernet Sauvignon). Το μέσο ποσοστό των γιγάρτων επί του βάρους της ράγας είναι 2,5% και 4,6% για τις ελληνικές και τις ξένες ποικιλίες αντίστοιχα, αλλά και πάλι οι διαφορές που εμφανίστηκαν είναι μεγάλες.

Όσο για τη σάρκα, που προκύπτει όταν από το ολικό βάρος αφαιρεθούν τα βάρη του φλοιού και των γιγάρτων, αυτή αντιπροσωπεύει ποσοστό μεταξύ του 79% και του 96,8% κατά βάρος, αναλόγως την ποικιλία (Μυλωνά, 2011).

1.2.1.2. Χημική Σύσταση

-Χημική Σύσταση της Σάρκας

Το γλέυκος στο αρχικό του στάδιο, προ των χημικών μεταβολών εξαιτίας της ζύμωσης και της εκχύλισης, έχει ουσιαστικά την ίδια σύσταση με τη σάρκα της ράγας, δεδομένου ότι ο χυμός των κυττάρων αποτελεί το 99,5% και οι κυτταρικές μεμβράνες το 0,5%. Πρόκειται για αραιό υδατικό διάλυμα πολύ σύνθετο, που η σύστασή του ποικίλει ανάλογα με την ποικιλία

της αμπέλου, την περιοχή καλλιέργειάς της, τον βαθμό ωριμότητας των σταφυλιών και την υγιεινή κατάστασή τους. Συνήθως η σύστασή του είναι νερό 75-80%, ζυμώσιμα σάκχαρα 17-25%, οργανικά οξέα, αζωτούχες ενώσεις, ανόργανα άλατα, πηκτινικές ουσίες, καθώς και ελάχιστες τανίνες, ανθοκυάνες και αρωματικές ουσίες, όμως πολύ λιγότερες από τον φλοιό ή τα γιγάρτα. Η σάρκα είναι φτωχή σε φαινολικά συστατικά και ως εκ τούτου και σε ανθοκυάνες (Κουράκου-Δραγωνά, 1998, Garrido et al., 2011). Τα κύρια συστατικά της σάρκας είναι τα ζυμώσιμα σάκχαρα και τα οργανικά οξέα. Οι ουσίες αυτές, παρόλο που δεν προσδίδουν ιδιαιτερότητες που διαχωρίζουν τους οίνους σε ευγενείς και κοινές ποικιλίες αμπέλου, όπως συμβαίνει με τις ουσίες του φλοιού, του εξασφαλίζουν την υδροαλκοολική δομή του και τον πρωταρχικό χαρακτήρα ποιότητας (Μυλωνά, 2011).

-Χημική Σύσταση του Φλοιού

Αν και ο φλοιός αποτελεί μικρό ποσοστό επί του συνολικού βάρους της ράγας, είναι το τμήμα του σταφυλιού όπου εμπεριέχονται οι οργανικές ουσίες που προσδίδουν τον χαρακτήρα στις ποικιλίες αμπέλου και κατ'επέκτασιν διαμορφώνουν τους οργανοληπτικούς χαρακτήρες των κρασιών που παράγονται από αυτές. Πρόκειται για τις χρωστικές, τις αρωματικές ουσίες και τις ουσίες εκείνες που χαρακτηρίζονται ως πρόδρομοι των αρωματικών ουσιών του οίνου. Ο φλοιός περιέχει περισσότερες πολυφαινόλες από τον βόστρυχο, ενώ είναι δύο φορές πιο πλούσιος στις ερυθρές ποικιλίες συγκριτικά με τις λευκές. Συγκεκριμένα, στον φλοιό των ερυθρών σταφυλιών βρίσκονται όλες οι ανθοκυάνες (Garrido et al., 2011) οι οποίες καταλαμβάνουν συνήθως 3-4 σειρές κυττάρων κάτω από την επιδερμίδα. Εξαιρεση αποτελούν κάποιες σπάνιες ποικιλίες, "βαφικές", όπως η Alicante-Bouschet, όπου η σάρκα τους είναι έγχρωμη καθώς υπάρχουν ανθοκυάνες και στα χυμοτόπια του ενδοκαρπίου. Η αντιπροσωπευτική ανθοκυανιδίνη γενικώς των *Vitis Vinifera* ποικιλιών σταφυλιού είναι η μαλβιδίνη (Castillo-Muñoz et al., 2009). Συγκεκριμένα, οι γλυκοζίτες της μαλβιδίνης Malvidin 3-O- β -D-glucopyranoside και Malvidin 3-O-glucoside είναι αυτοί που εμφανίζονται συνηθέστερα στους φλοιούς των σταφυλιών (Castillo-Muñoz et al., 2009). Οι άλλες χρωστικές (χλωροφύλλη, ξανθοφύλλη, καροτένια κ.λπ.) που υπάρχουν σε αξιόλογη ποσότητα όταν τα σταφύλια είναι πράσινα, παραμένουν μόνο σε πολύ μικρές ποσότητες όταν η ράγα φτάσει σε ωρίμανση. Οι τανίνες στους φλοιούς βρίσκονται σε μηδενική περιεκτικότητα (Kennedy, 2008). Όσο για τις αρωματικές ουσίες, ο φλοιός παρέχει στον οίνο περισσότερο από το ήμισυ των αρωματικών συστατικών που αποτελούν το πρωτογενές άρωμά του. Εκτός από τα εξειδικευμένα αυτά συστατικά, ο φλοιός είναι πλούσιος σε κυτταρίνη, περίπου 20-25% κατά βάρους ξηρού φλοιού, περιέχει αδιάλυτες πηκτίνες σε ποσοστό περίπου 10-15% κατά βάρους ξηρού προϊόντος, μικρές ποσότητες σακχάρων και οξέων (τρυγικό, σχεδόν καθόλου μηλικό στην ωριμότητα, επικρατέστερο το κιτρικό), τα οποία βρίσκονται κυρίως εξουδετερωμένα, για αυτό και το pH του χυμού των φλοιών είναι γενικώς υψηλό και τέλος, περιέχει πολλά ανόργανα συστατικά, κυρίως κάλιο (Κουράκου-Δραγωνά, 1998; Μυλωνά, 2011).

-Χημική Σύσταση των Γιγάρτων

Η χημική σύσταση των γιγάρτων σε μορφή ποσοστού κατά βάρος, είναι νερό 25-45%, σάκχαρα και πολυσακχαρίτες 34-36%, ελαιούχες ουσίες και λιπαρά οξέα 13-20%, φαινολικά

παράγωγα 4-6%, αζωτούχες ενώσεις 4-6,5%, ανόργανα συστατικά 2-4% (Κουράκου-Δραγωνά, 1998). Στο επίπεδο φυσιολογικής ωριμότητας των σταφυλιών, τα γίγαρτα αρχίζουν να χάνουν το άζωτο προς όφελος της σάρκας της ράγας, μπορεί να προσδώσουν υπό μορφή αμμωνιακού αζώτου μέχρι και το 25% του αζώτου που αρχικά περιείχαν. Από τα συστατικά των γιγάρτων, ορισμένα εκχυλίζονται μερικώς στο ζυμούμενο γλεύκος κατά την οينوποίηση παρουσία στεμφύλων, όπως είναι τα φαινολικά παράγωγα, οι αζωτούχες ενώσεις και οι ανόργανες ουσίες. Για αυτό ποικιλίες των οποίων οι ράγες περιέχουν μεγάλο αριθμό γιγάρτων, όπως είναι το Ξινόμαυρο, δίνουν γλεύκη πολύ πλούσια σε αζωτούχες ουσίες και αμμωνιακό άζωτο, ενώ οι οίνοι που παράγονται από αυτές έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε τανίνες όπως συμβαίνει με τους οίνους της Νάουσας που παράγονται από την ποικιλία Ξινόμαυρο. Τα γίγαρτα έχουν μηδενική περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Garrido et al., 2011). Αντίθετα, άλλες ουσίες, ιδιαίτερα οι ελαιώδεις ουσίες που υπάρχουν στα κύτταρα του λευκωματώδους ιστού, δεν διαχέονται, κάτι το οποίο θα ήταν ανεπιθύμητο αν συνέβαινε. Για να περάσουν στο γλεύκος πρέπει να σπάσει ο κερατοειδής χιτώνας κάτι που συνέβαινε μόνο την εποχή που χρησιμοποιούνταν κακής ποιότητας γλευκοποιητικά μηχανήματα. Εάν από κακή τεχνική έκθλιψης και πίεσης των στεμφύλων σπάσει μέρος των γιγάρτων, τότε οι ελαιώδεις ουσίες, λιπαρά οξέα και "κακής ποιότητας" τανίνες, περνούν στο γλεύκος και αλλοιώνουν τον οργανοληπτικό χαρακτήρα του παραγόμενου οίνου. Όπως φαίνεται από τη βιβλιογραφία, το ποσοστό της μέσης μάζας ελαίου ως προς τη μάζα των γιγάρτων είναι 8-15% (Gomez et al., 1996; Rice, 1976; Sonova et al., 1994). Το γιγαρτέλαιο περιέχει μεγάλη ποσότητα λινολεϊκού οξέος (60-70%) και γενικά είναι πλούσιο σε ακόρεστα λιπαρά οξέα (85%), ιδιότητα που του προσδίδει υψηλό αντιχοληστερινικό δυναμικό. Εξάλλου, λόγω περιεκτικότητας σε λινολεϊκό οξύ, το γιγαρτέλαιο είναι προικισμένο με μεγάλη αντοχή στις οξειδώσεις, γεγονός που συνηγορεί για την ανάμιξη του με άλλα έλαια πιο ευοξειδωτά. Αν και στην οينوπαραγωγή τα ελαιούχα συστατικά των γιγάρτων είναι ανεπιθύμητα, η ζήτηση γιγαρτέλαιου συνεχώς αυξάνεται τα τελευταία χρόνια, η δε παραγωγή του είναι γενικευμένη στην Ιταλία. Αλλά και στη Γαλλία, ορισμένα αποσταγματοποιεία διαχωρίζουν και ξηραίνουν τα γίγαρτα, τα οποία τα στέλνουν σε ειδικευμένα ελαιουργεία (Μυλωνά, 2011).

1.2.2. Φαινολικά συστατικά

-Φαινολικά συστατικά του σταφυλιού και του κρασιού

Τα φαινολικά συστατικά περιλαμβάνουν ένα ευρύ πλήθος χημικών ενώσεων, διαφορετικών δομών και λειτουργιών και αποτελούν μια από τις βασικές κατηγορίες των δευτερογενών μεταβολιτών. Απλές φαινόλες ονομάζονται οι χημικές ενώσεις που περιλαμβάνουν έναν αρωματικό δακτύλιο με ένα ή περισσότερα υδροξύλια ως υποκαταστάτες ενώ πολυφαινόλες ονομάζονται οι ενώσεις που περιλαμβάνουν πολλαπλούς φαινολικούς δακτυλίους στη δομή τους. Εντούτοις, ο ορισμός αυτός δεν είναι εντελώς ικανοποιητικός. Για το λόγο αυτό, προτιμάται συνήθως ένας ορισμός με βάση τη μεταβολική προέλευσή τους. Έτσι, ως φυτικά

φαινολικά συστατικά χαρακτηρίζονται οι ενώσεις που παράγονται από το σικιμικό μεταβολικό μονοπάτι και τον φαινυλοπροπανοειδή μεταβολισμό.

Λόγω της πολυπλοκότητας και του μεγάλου εύρους δομών που περιλαμβάνουν, τα φαινολικά συστατικά επιτελούν ένα πλήθος σημαντικών και διαφορετικών λειτουργιών στο κρασί και επηρεάζουν σημαντικά την ποιότητα του. Οργανοληπτικά είναι υπεύθυνα τόσο για το χρώμα και την στυφότητα των κόκκινων κρασιών, όσο και για την κιτρινωπή απόχρωση των λευκών κρασιών. Λειτουργούν ως φυσικά συντηρητικά του κρασιού λόγω της αντιοξειδωτικής και αντιμικροβιακής τους δράσης και παίζουν σημαντικό ρόλο κατά την παλαίωση του κρασιού. Ευθύνονται, όμως, για τον σχηματισμό ιζημάτων και θολότητας, καθώς και για άλλα τεχνικά προβλήματα (συσσώρευση στην επιφάνεια των φίλτρων και ρόφηση στην επιφάνεια της δεξαμενής).

Τα φαινολικά συστατικά του κρασιού προέρχονται κατά κύριο λόγο από το σταφύλι και πιο συγκεκριμένα από τα στερεά του μέρη, τον φλοιό και τα γίγαρτα. Έτσι βρίσκονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα ερυθρά κρασιά, στα οποία εκχυλίζεται το μεγαλύτερο μέρος τους, 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.

Τα κύρια φαινολικά του κρασιού μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο βασικές κατηγορίες. Στα διφαινυλοπροπανοειδή γνωστά και ως φλαβονοειδή που περιλαμβάνουν τις φλαβονόλες, τις φλαβαν-3-όλες και τις ανθοκυάνες, και στα φαινυλοπροπανοειδή ή μη φλαβονοειδή που περιλαμβάνουν υδροξυ-βενζοϊκά και υδροξυ-κιναμωμικά οξέα (φαινολικά οξέα).

Η κατηγορία των φλαβονοειδών, στη μελέτη των οποίων επικεντρώνεται η παρούσα εργασία, είναι μία μεγάλη ομάδα φυσικών μεταβολικών προϊόντων, πολύ διαδεδομένα στα ανώτερα φυτά αλλά και στα βρύα. Επιτελούν ένα πλήθος βιολογικών λειτουργιών στα φυτά όπως προστασία από την UV ακτινοβολία, ενζυμική διαμόρφωση και προστασία από μολυντικούς παράγοντες ενώ ως μέρος της ανθρώπινης διατροφής συνεισφέρουν θετικά στην υγεία κυρίως λόγω της αντιοξειδωτικής δράσης και της δέσμευσης ελευθέρων ριζών.

Δομικά, αποτελούνται από έναν C6-C3-C6 σκελετό αποτελούμενο από δύο φαινολικούς δακτυλίους (A και B) που ενώνονται με έναν οξυγονωμένο ετερόκυκλο δακτύλιο (δακτύλιος πυρανίου). Ανάλογα με το αν ο ετερόκυκλος είναι κορεσμένος ή όχι τα φλαβονοειδή μπορούν να ταξινομηθούν σε φλαβανόνες και φλαβάνες, όταν είναι κορεσμένος, και σε ανθοκυάνες, φλαβόνες και φλαβονόλες, όταν είναι ακόρεστος.

Σε κάθε επιμέρους κατηγορία φλαβονοειδών υπάρχει μεγάλη πολυμορφία ενώσεων που οφείλεται στις διάφορες τροποποιήσεις που μπορεί να υποστεί ο κεντρικός σκελετός και μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται:

- 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 στη φύση εμφανίζονται ως μονομερή, διμερή, ολιγομερή και πολυμερή μόρια. Τα περισσότερα διφλαβονοειδή ενώνονται με ένα δεσμό άνθρακα δύο όμοιων μονομερών, αλλά έχουν βρεθεί και διμερή διαφορετικών ενώσεων (φλαβονολο-φλαβανόνες). Τα υψηλότερου μοριακού βάρους φλαβονοειδή αποτελούν τα ολιγομερή και πολυμερή των προανθοκυανιδινών, οι οποίες προέρχονται από τις φλαβαν-3-όλες. Συνήθως, τα περισσότερα φλαβονοειδή εμφανίζονται ενωμένα με σάκχαρα σε εστερική μορφή ως μονογλυκοζίτες, διγλυκοζίτες και λοιπά, ενώ ακετυλιωμένοι Ο-γλυκοζίτες προκύπτουν από την ένωση φλαβονοειδών με φαινολικά οξέα.

Τα φλαβονοειδή του σταφυλιού εμφανίζουν υδροξύλια (-OH) στους C5 και C7 άνθρακες του Α-δακτυλίου και στη θέση 4' του Β-δακτυλίου. Μπορούν ακόμα να έχουν υδροξύλια (-OH) στις θέσεις 3' ή 3' και 5' και να υποκαταστήσουν το υδροξύλιο της θέσης 3 από κάποιον γλυκοζίτη ή μια ακυλομάδα. Στο κρασί, τα πιο κοινά φλαβονοειδή αποτελούν οι φλαβονόλες, οι φλαβαν-3-όλες και οι ανθοκυάνες, ενώ σε μικρότερες ποσότητες υπάρχουν φλαβαν-3,4-διόλες (λευκοανθοκυάνες) (Τσέλεπος, 2015).

-Φλαβονόλες

Οι φλαβόνες είναι μια υποκατηγορία των πολυ-υδροξυ-φλαβονοειδών που βασίζονται στη δομή της φλαβόνης (2-φαιnyλο-χρωμόνης). Οι φλαβονόλες είναι φλαβόνες με έναν 3-υδροξυ-υποκαταστάτη.

Αποτελούν κίτρινες χρωστικές, οι οποίες στο σταφύλι εντοπίζονται στο φλοιό είτε ως 3-γλυκοζίτες της κερκετίνης, της καιμπφερόλης, της μυρισετίνης και της ισοραμνετίνης είτε ως τα αντίστοιχα αγλυκονικά παράγωγα, σε μικρότερες ποσότητες, που παράγονται ύστερα από υδρόλυση κατά την αλκοολική ζύμωση. Και οι 4 παραπάνω φλαβόνες έχουν εντοπιστεί στα ερυθρά κρασιά ενώ στα λευκά έχουν ανιχνευτεί μόνο η κερκετίνη και η καιμπφερόλη. Στο κρασί μπορούν να σχηματίζουν σύμπλοκα ("copigments") με τις ανθοκυάνες. Η βασική λειτουργία τους είναι να προστατεύουν την σάρκα από την UV ακτινοβολία όπως έχει προαναφερθεί.

Από τα φλαβονοειδή του κρασιού, οι φλαβονόλες βρίσκονται στη μικρότερη συγκέντρωση, σε ποσοστό που ποικίλει από 1-10% του συνολικού φαινολικού περιεχομένου και εξαρτάται από τις συνθήκες καλλιέργειας. Οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις τους στα κρασιά είναι της τάξης των 100 mg/L στα ερυθρά και 1-3 mg/L στα λευκά απουσία εκχύλισης (Τσέλεπος, 2015).

-Φλαβαν-3-όλες (κατεχίνες) και προκυανιδίνες

Οι φλαβαν-3-όλες αποτελούν ενδιάμεσο παράγωγο κατά την αποσύνθεση φλαβανονών προς φλαβάνες. Προκύπτουν με υδρογόνωση του κεντρικού ετερόκυλου δακτυλίου της φλαβονόλης. Η πιο ευρέως διαδεδομένη φλαβαν-3-όλη είναι η κατεχίνη, από το όνομα της οποίας έχει επικρατήσει να χαρακτηρίζονται και όλες οι φλαβαν-3-όλες ως κατεχίνες. Στο

κρασί εμφανίζονται ως μονομερή, ολιγομερή και πολυμερή. Στο σταφύλι εντοπίζονται κυρίως στους φλοιούς και στα γίγαρτα, ενώ σε ίχνη έχουν εντοπιστεί και στη σάρκα. Τα βασικά μονομερή των φλαβαν-3-ολών αποτελούν η (+)-κατεχίνη, η (-)-επικατεχίνη και ο (-)-3-γαλλικός εστέρας της επικατεχίνης (epicatechin-3-gallate). Επιπλέον, έχει ανιχνευτεί γαλλο-κατεχίνη σε σταφύλια *Vitis Vinifera* καθώς και άλλα μονομερή σε σταφύλια που δεν προέρχονται από το γένος *Vinifera*.

Οι προανθοκυανιδίνες είναι μια ομάδα ολιγομερών φλαβαν-3-ολών που προέρχονται από τον πολυμερισμό των έντονα ευοξειδωτων κατεχινών. Η ονομασία τους οφείλεται στο ότι κατά τη θέρμανση τους και υπό την παρουσία ανόργανων οξέων, αποσυντίθενται παράγοντας έγχρωμες ανθοκυανιδίνες. Επιπλέον, έχουν την ιδιότητα να προσδέονται στις πρωτεΐνες. Η πιο γνωστή ομάδα προανθοκυανιδινών είναι οι προκυανιδίνες, που αποτελούνται από μονομερή κατεχίνης και επικατεχίνης και με τη σειρά τους διασπώνται παράγοντας κυανιδίνη κατά τη θέρμανση τους υπό την παρουσία ανόργανων οξέων. Αντίστοιχα, οι προδελφινιδίνες υπό τις ίδιες συνθήκες παράγουν δελφινιδίνη.

Στο σταφύλι έχουν ανιχνευτεί μέχρι τετραμερείς προκυανιδίνες ενώ στο κρασί συνήθως εμφανίζονται διμερή. Οι προανθοκυανιδίνες που περιέχονται στο κρασί είναι, κατά κύριο λόγο, διμερή που ενώνονται συνήθως με έναν ομοιοπολικό δεσμό άνθρακα-άνθρακα στην θέση 8 του ενός μονομερούς με τον άνθρακα της θέσης 4 ενός γειτονικού μονομερούς (τύπου B1-B4). Εκτός αυτών, έχουν ταυτοποιηθεί και τριμερή καθώς και διμερή που προέρχονται τόσο από προκυανιδινικά όσο και από προδελφινιδινικά μονομερή.

Κατά την αποθήκευση και παλαίωση των κρασιών οι προκυανιδίνες ενώνονται μεταξύ τους και σχηματίζουν πολυμερή που αποτελούνται από 3-10 μονομερή φλαβανολών, μοριακού βάρους 2.000-3.000 που είναι γνωστά και ως συμπυκνωμένες τανίνες. Οι συμπυκνωμένες τανίνες δεν θα πρέπει να συγχέονται με τις υδρολύσιμες τανίνες που ανήκουν στα μη φλαβονοειδή (Τσέλεπος, 2015).

-Ανθοκυάνες

Οι ανθοκυάνες αποτελούν μία από τις πιο βασικές ομάδες φλαβονοειδών υπεύθυνες, στο μεγαλύτερο ποσοστό, για το ερυθρό χρώμα των κρασιών. Εντοπίζονται κυρίως στον φλοιό των σταφυλιών και σε περιορισμένες περιπτώσεις, κυρίως σε κάποιες ερυθρές ποικιλίες και στη σάρκα τους για αυτό και η μελέτη τους επικεντρώνεται στα ερυθρά κρασιά στα οποία εκχυλίζονται από τα στέμφυλα.

Στη φύση, οι ανθοκυάνες βρίσκονται υπό μορφή ετεροζιτών. Τα μόρια αυτά υδρολύονται εύκολα σε ένα άγλυκο τμήμα και ένα η περισσότερα μόρια σακχάρων. Το άγλυκο μέρος που προκύπτει είναι μια ανθοκυανιδίνη με σκελετό C6-C3-C6 ενώ τα σάκχαρα είναι αλδόζες, κυρίως γλυκόζη υπό την ετεροκυκλική μορφή του πυρανίου. Οι ανθοκυανιδίνες έχουν τη βασική δομή του φλαβυλίου. Το μόριο τους αποτελείται από δύο βενζολικούς δακτύλιους (A και B) και ενδιάμεσα παρεμβάλεται ένας πυριλικός δακτύλιος. Ο δακτύλιος A φέρει πάντα δύο φαινολικά υδροξύλια στις θέσεις -5' και -7' και ο δακτύλιος B ένα φαινολικό υδροξύλιο στη θέση -4'.

Στα φρέσκα κρασιά, οι ανθοκυάνες βρίσκονται σε μία δυναμική ισορροπία μεταξύ 5 μοριακών μορφών, μίας δεσμευμένης με το διοξείδιο του θείου και τεσσάρων ελεύθερων, της μορφής του φλαβυλίου (flavylium cation), μίας άχρωμης ψευδοβάσης υπό τη μορφή καρβινόλης ή αλλιώς σε ημικεταλική μορφή (carnibol pseudobase), μίας άνυδρης βάσης υπό τη μορφή κιννόνης (quinoidal base) και της χαλκόνης (D) (chalcone). Το κατιόν του φλαβυλίου βρίσκεται στο κέντρο της ισορροπίας και συμμετέχει σε αντιδράσεις οξέος-βάσης και ενυδάτωσης. Η μετατροπή της μορφής του φλαβυλίου στη μορφή της άνυδρης βάσης της κιννόνης γίνεται γρήγορα, με την μεταφορά ενός πρωτονίου, καθώς και η μετατροπή στην ημικεταλική μορφή (ψευδοβάση υπό τη μορφή καρβινόλης) με την ενυδάτωση και την επακόλουθη μεταφορά ενός πρωτονίου. Το άνοιγμα του ετεροδακτυλίου και η αναδόμηση του μορίου της ημικεταλικής μορφής για τον σχηματισμό χαλκόνης όπως και η ισορροπία μεταξύ cis- και trans-χαλκόνης επέρχεται αργά και είναι δύσκολο να μεταβληθεί.

Τα μόρια είναι πιο σταθερά στη γλυκοζυλιωμένη μορφή των ανθοκυανών σε σχέση με την αγλυκονική μορφή των ανθοκυανιδινών. Σε σταφύλια *Vitis Vinifera* έχουν ταυτοποιηθεί μόνο μονογλυκοζυλιωμένες και ακετυλιωμένες μορφές των ανθοκυανών. Στις τελευταίες, η ακετυλίωση λαμβάνει χώρα με p-κουμαρικό, καφεϊκό ή οξικό οξύ. Η κατάταξη των ανθοκυανών γίνεται με βάση τη θέση των υδροξυλίων και των μεθυλίων στο Β δακτύλιο των ανθοκυανιδινών. Από τις εννέα (9) ανθοκυανιδίνες που είναι γνωστές οι πέντε (5) από αυτές αποτελούν δομικά στοιχεία των ανθοκυανών που βρίσκονται στο σταφύλι και το κρασί.

Από τις ανθοκυανιδίνες των σταφυλιών η κυανιδίνη είναι αυτή που βρίσκεται σε μεγαλύτερη αναλογία μετά τον περκασμό των σταφυλιών, με τη συγκέντρωσή της να αυξάνεται για περίπου δύο βδομάδες κατά την ωρίμανση. Επειδή όμως σε συνδυασμό με την δελφινιδίνη αποτελούν τις πιο ασταθείς από τις προκυανιδίνες στη συνέχεια μετασχηματίζονται και τελικά επικρατεί σε συντριπτικό ποσοστό η μαλβιδίνη, η οποία αποτελεί τη βασική ανθοκυανιδίνη σχεδόν όλων των σταφυλιών και κρασιών. Σε ορισμένες ποικιλίες φτάνει να αντιπροσωπεύει το 90% των περιεχόμενων προκυανιδινών (π.χ. Grenache).

Στις ελληνικές ερυθρές ποικιλίες συνήθως απαντάται ο μονογλυκοζύτης-3 της μαλβιδίνης, ακυλιωμένος είτε με οξικό είτε με π-κουμαρικό οξύ (Κουράκου, 1998). Η σύσταση και η συγκέντρωση σε προκυανιδίνες ποικίλει ανάλογα με την ποικιλία, την ωρίμανση των σταφυλιών, τις κλιματικές συνθήκες, την εντοπιότητα, τη στρεμματική απόδοση και τις συνθήκες καλλιέργειας. Παράλληλα εξαρτάται και από τις συνθήκες εκχύλισης και οινοποίησης. Κατά την επαφή των στεμφύλων με το γλεύκος, πραγματοποιείται η εκχύλιση των ανθοκυανών και των λοιπών φαινολικών. Η εκχύλιση αυτή μπορεί να λάβει χώρα προζυμωτικά ή κατά την αλκοολική ζύμωση είτε με θρυμματισμένα σταφύλια (κλασσική οινοποίηση) είτε με ολόκληρα σταφύλια (carbonic maceration). Αφού φτάσει σε ένα μέγιστο, η συγκέντρωση των ανθοκυανών αρχίζει να μειώνεται σαν αποτέλεσμα της ρόφησης τους στα κυτταρικά τοιχώματα των ζυμών, της ιζηματοποίησης τους σε μορφή κolloειδών μαζί με τρυγικά άλατα καθώς και της διαδικασίας σταθεροποίησης και φιλτραρίσματος. Επιπλέον, αντιδράσεις υδρόλυσης καθώς και αντιδράσεις συμπύκνωσης με άλλα φαινολικά συστατικά κατά την οινοποίηση διαφοροποιούν την ανθοκυανική σύσταση.

Το ανθοκυανικό προφίλ του σταφυλιού σε αντίθεση με το ολικό φαινολικό περιεχόμενο μπορεί να αποτελέσει κριτήριο για την χημική ταξινόμηση των ποικιλιών. Σχέσεις μεταξύ

μεμονομένων ή και ολικής συγκέντρωσης των επιμέρους ανθοκυανιδινών έχουν προταθεί για τον ποικιλιακό χαρακτηρισμό. Οι σχέσεις αυτές έχουν να κάνουν με την ενζυμική δραστηριότητα των φλαβονοειδών-3-υδροξυλασών και Ο-δι-υδροξυφαινολο-Ο-μεθυλοτρανσφερασών. Ένας άλλος τρόπος ταξινόμησης βασίζεται στην παρουσία και σχετική ποσοτικοποίηση ακετυλωμένων ανθοκυανών με αιθυλικό και π-κουμαρικό οξύ, που σχετίζονται με τη δραστηριότητα των αιθυλο- και κινάμωμικών τρανσφερασών. Η παραγωγή των παραπάνω ενζύμων καθορίζεται αυστηρά από την ποικιλία αφού αποτελούν άμεση έκφραση του γονιδιώματος. Παρά τις μεταβολές στο ανθοκυανικό προφίλ κατά την οινοποίηση των κρασιών, το ανθοκυανικό προφίλ του κρασιού χρησιμοποιείται επίσης ως ταξινομικό κριτήριο για τη διάκριση διαφορών μεταξύ ποικιλιών, εντοπιότητας, απόδοσης, χρονολογίας και οινοποιητικών τεχνικών (Τσέλεπος, 2015).

-Τανίνες

Οι τανίνες αποτελούν μια κατηγορία φυσικών φαινολικών συστατικών υψηλού μοριακού βάρους, για τις οποίες δεν υπάρχει ένας αυστηρός ορισμός, που αποτελούνται τόσο από φλαβονοειδή όσο και από μη φλαβονοειδή μονομερή. Η κοινή ιδιότητα των τανινών είναι η ικανότητα τους να ενώνονται με πρωτεΐνες και άλλα πολυμερή όπως οι πολυσακχαρίτες. Η ένωση αυτή πραγματοποιείται είτε με υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις είτε μέσω δεσμών υδρογόνου. Σε ορισμένες περιπτώσεις δημιουργούνται και ιοντικοί ή ομοιοπολικοί δεσμοί (Κουράκου, 1998).

Η δομή και ο όγκος των τανινών επηρεάζει σε σημαντικό βαθμό τη δραστηριότητα τους με τις πρωτεΐνες. Πρέπει, από τη μία, να είναι αρκετά ογκώδεις ώστε να σχηματίζουν σταθερές ενώσεις με τις πρωτεΐνες ενώ, από την άλλη, ο όγκος τους δεν θα πρέπει να τις αποτρέπει από το να πλησιάζουν στα σημεία σύνδεσης με τις πρωτεΐνες. Τα μοριακά βάρη των ενεργών τανινών εκτείνονται περίπου στο εύρος 600-3.500.

Γενικά οι τανίνες θα μπορούσαν να ταξινομηθούν σε τρεις βασικές κατηγορίες:

- Τις «συμπυκνωμένες τανίνες» (condensed tannins)
- Τις υδρολύσιμες τανίνες
- Τις «πολύπλοκες ή μικτές τανίνες» (complex or mixed tannins)

❖ Συμπυκνωμένες τανίνες

Οι συμπυκνωμένες τανίνες, γενικά, αποτελούν πολυμερή των κατεχινών. Στο σταφύλι υπάρχουν διαφορετικά είδη τανινών στους βόστρυχους, τα γίγαρτα και τους φλοιούς. Οι τανίνες των φλοιών, με τη σειρά τους, μπορούν να χωριστούν σε τρεις υποκατηγορίες:

- Τις τανίνες που βρίσκονται στα χυμοτόπια, οι οποίες σχηματίζουν πυκνά συμπλέγματα στα κύτταρα που βρίσκονται κοντά στην επιδερμίδα. Η συγκέντρωση σε τανίνες αυξάνεται ακτινικά προς τα εξωτερικά στρώματα του φλοιού.
- Τις τανίνες που είναι ισχυρά ενωμένες με την πρωτεϊνο-φωσφολιπιδική μεμβράνη (τονοπλάστης) και είναι ευαίσθητες στους υπερήχους.

- Τις τανίνες που είναι ενωμένες με το κυτταρικό τοίχωμα κυτταρίνης πηκτίνης.

Οι τανίνες του σταφυλιού διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τον βαθμό πολυμερισμού. Οι τανίνες των γιγάρτων είναι προκυανιδίνες με σχετικά μικρό βαθμό πολυμερισμού ενώ οι τανίνες των φλοιών έχουν πιο πολύπλοκες δομές και δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερη διαφοροποίηση ως προς το βαθμό πολυμερισμού τους. Ο φλοιός του σταφυλιού είναι πλούσιος σε επιγαλλοκατεχίνες σε αντίθεση με τα γίγαρτα τα οποία έχουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις γαλλικού εστέρα της επικατεχίνης.

Στο κρασί οι μονομοριακές προκυανιδίνες οξειδώνονται παράγοντας ολιγομερή σχετικά μικρού μοριακού βάρους 1.000-2.000 που μπορούν να χαρακτηριστούν ως τανίνες. Όταν υπόκεινται όμως σε μη οξειδωτική συμπύκνωση σχηματίζονται συμπυκνωμένες τανίνες που έχουν βαθμό συμπύκνωσης περίπου 10 και μοριακό βάρος 2.000-3.000, μέγεθος που αντιστοιχεί στο μέγιστο τανικό χαρακτήρα. Οι συμπυκνωμένες αυτές τανίνες αντιπροσωπεύουν το 30-60% των ολικών φαινολικών παραγώγων και το ποσοστό τους αυξάνεται με την ηλικία του κρασιού (Κουράκου, 1998). Κατά την παλαίωση, οι προκυανιδίνες πολυμερίζονται περαιτέρω προς τανίνες μοριακού βάρους από 2.000 ως πάνω από 5.000, πάνω στις οποίες συνδέονται και άλλα μόρια με αποτέλεσμα να χάνουν σταδιακά τη δραστηριότητα τους επί των πρωτεϊνών.

Η ανάλυση όλων των διαφορετικών μορίων συμπυκνωμένων τανινών είναι ιδιαίτερα δύσκολη λόγω του μεγάλου εύρους δομών τους που οφείλεται στο πλήθος των υποκατεστημένων υδροξυλίων, τη θέση τους στο δακτύλιο, τη στερεοχημεία των ασύμμετρων ανθράκων στον δακτύλιο του πυρανίου καθώς και στον αριθμό και είδος των δεσμών των βασικών ομάδων. Η ποικιλομορφία αυτή μπορεί να εξηγήσει την ύπαρξη τανινών με διαφορετικά χαρακτηριστικά και ειδικά όσον αφορά στα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά.

❖ Υδρολύσιμες τανίνες

Οι υδρολύσιμες τανίνες προέρχονται από τα μη φλαβονοειδή. Αποτελούνται από ένα μόριο σακχάρου, κυρίως γλυκόζης ή ένα μόριο πολυσακχαρίτη του οποίου πολλά υδροξύλια είναι εστεροποιημένα με διάφορα φαινολικά οξέα, όπως το γαλλικό (γαλλοτανίνες), το διγαλλικό και το ελλαγικό (ελλαγιτανίνες). Παίζουν σημαντικό ρόλο κατά την παλαίωση λευκών και κόκκινων κρασιών λόγω της ικανότητά τους να οξειδώνονται και λόγω των γευστικών χαρακτηριστικών τους.

Οι τανίνες αυτές δεν βρίσκονται στο σταφύλι αλλά απαντώνται στο ξύλο ορισμένων δέντρων όπως της δρυός. Για το λόγο αυτό στα κρασιά απαντώνται μόνο τα υδρολυμένα παράγωγά τους, κυρίως το ελλαγικό και γαλλικό οξύ. Οι υδρολυόμενες τανίνες, όμως αποτελούν τις βασικές εμπορικές τανίνες που επιτρέπονται ως πρόσθετα του οίνου και μπορούν να υπάρχουν σε μικρές συγκεντρώσεις στο κρασί, αν το τελευταίο έχει υποστεί κολλάρισμα με προσθήκη οινολογικής τανίνης.

Τα δύο κύρια ισομερή της ελλαγιτανίνης της δρυός είναι η βεσκαλαγίνη και η κασταλαγίνη με μοριακό βάρος 934, ενώ δευτερεύουσας σημασίας είναι η γραντανίνη και η ρομπουρίνη.

Η μερική υδρόλυση της κασταλαγίνης και της βεσκαλαγίνης με απώλεια εξα-υδροξυδιφενικού οξέος παράγει βεσκαλίνη και κασταλίνη. Τα διάφορα αυτά μόρια είναι υδατοδιαλυτά αλλά διαλύονται επίσης γρήγορα και σε αραιά αλκοολικά διαλύματα όπως είναι το κρασί. Η σύσταση των ελλαγιτανικών εκχυλισμάτων εξαρτάται από το είδος της δρυός. Τέσσερα μονομερή και τέσσερα διμερή ελλαγιτανινών περιέχονται στα ευρωπαϊκά είδη, ενώ τα αμερικανικά είδη δρυός δεν περιλαμβάνουν διμερή ελλαγιτανινών.

Οι μη φλαβονοειδείς υδρολύσιμες τανίνες διασπώνται εύκολα στα μονομερή τους υπό όξινες συνθήκες. Το χαμηλό pH αποδυναμώνει το δεσμό ανάμεσα στα άτομα υδρογόνου και οξυγόνου του μακρομορίου. Αντίθετα, οι συμπυκνωμένες τανίνες, που προέρχονται από τα φλαβονοειδή, είναι πιο σταθερές σε όξινες συνθήκες αφού σε αυτές συμμετέχουν ομοιοπολικοί δεσμοί.

❖ Μικτές τανίνες

Ο όρος μικτές ή πολύπλοκες τανίνες χρησιμοποιείται για να περιγράψει την κατηγορία των πολυφαινολών στις οποίες ένα μονομερές κατεχίνης, δομικό συστατικό των συμπυκνωμένων τανινών συνδέεται με μια υδρολυόμενη γαλλο- ή ελλαγιτανίνη μέσω ενός δεσμού άνθρακα-άνθρακα. Ένας σημαντικός αριθμός των ουσιών αυτών έχει αναφερθεί ύστερα από την πρώτη τους εμφάνιση (Ferreira et al., 2006). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η Α ακουτισιμίνη (Acutissimin A) που απομονώθηκε από το ξυλώδες μέρος του φυτού *Castanea sativa* και είναι ένα ομοιοπολικό σύμπλοκο της κατεχίνης με την κασταλαγίνη ή την βεσκαλαγίνη. Τέτοιου είδους ενώσεις σε συνδυασμό με σύμπλοκα κασταλαγίνης-μαλβιδίνης είναι παρόντα σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις σε κρασιά που έχουν παλαιώσει σε ξύλινα βαρέλια. Οι οργανοληπτικές τους ιδιότητες δεν έχουν αναλυθεί ακόμα (Τσέλεπος, 2015).

-Εξέλιξη των φαινολικών συστατικών

Οι ανθοκυάνες σχηματίζονται στη ράγα. Εμφανίζονται κατά την περίοδο αλλαγής χρώματος. Στη φλούδα έχουμε κανονική αύξηση κατά την περίοδο ωρίμανσης, με μέγιστο 8 μέρες πριν από την ωρίμανση των σταφυλιών. Η περιεκτικότητα του φλοιού σε τανίνες είναι σταθερή κατά την περίοδο αλλαγής χρώματος και κατά την ωρίμανση, με αυξομειώσεις που οφείλονται στις μεταβολές της θερμοκρασίας και στην ηλιοφάνεια. Οι τανίνες των γιγάρτων περνούν από ένα μέγιστο στα μισά της περιόδου αλλαγής χρώματος και κατόπιν ελαττώνονται γρήγορα. Είναι σε σταθερή περιεκτικότητα κατά την περίοδο της ωρίμανσης (Τσακίρης, 1988).

1.2.3. Παράγοντες που επιδρούν στη σύνθεση και συσσώρευση των φαινολικών ουσιών στο σταφύλι

Πέρα από τους γενετικούς παράγοντες, μοναδικούς για κάθε ποικιλία, που εμπλέκονται στα μονοπάτια βιοσύνθεσης των φαινολικών ουσιών, η τελική συγκέντρωσή τους στο φυτό επηρεάζεται και από μία πληθώρα εδαφοκλιματικών και καλλιεργητικών συνθηκών.

Από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες, το έδαφος και η σύστασή του σχετίζονται άμεσα με την απόδοση των πρέμνων και την ποιότητα των παραγόμενων οίνων. Οι ποικιλίες *Vitis vinifera* αν και θεωρούνται ιδιαίτερα προσαρμοστικές σε διαφορετικούς τύπους εδαφών, έχει παρατηρηθεί ότι σε αργιλώδη και συνεκτικά εδάφη παράγουν ράγες που υστερούν ποιότητας. Συγκεκριμένα η συγκέντρωση των σακχάρων είναι χαμηλή ενώ των οργανικών οξέων και των φαινολικών συστατικών υψηλή. Το έδαφος μπορεί και επηρεάζει την ποιότητα των αμπελουργικών προϊόντων μέσω της σύστασής του, του ανάγλυφου του, της έκθεσής του και της ικανότητάς του να συγκρατεί την υγρασία. Επιπλέον η φυσιολογική ανάπτυξη των πρέμνων καθορίζεται από τα μητρικά πετρώματα και την ηλικία τους, αφού προσδιορίζουν τη συγκέντρωση των θρεπτικών αποθεμάτων.

Το υψόμετρο επηρεάζει τις κλιματικές συνθήκες, όπως υγρασία, θερμοκρασία ιδιαίτερα στο στάδιο ωρίμανσης των ραγών. Το χαμηλό υψόμετρο ευνοεί τη βιοσύνθεση των μονομερών της (+) κατεχίνης, (-) επικατεχίνης και του γαλλικού εστέρα της (-) επικατεχίνης στους φλοιούς των ραγών. Υπερβολική ή ανεπαρκής υγρασία έχει αρνητικές επιπτώσεις στην ωρίμανση των σταφυλιών. Οι υψηλές βροχοπτώσεις δεν είναι επιθυμητές καθώς καθυστερούν την πορεία της ωρίμανσης και ευνοούν την ανάπτυξη ασθενειών.

Η θερμοκρασία και η ένταση του φωτός στο ύψος της ζώνης καρποφορίας των πρέμνων, επηρεάζουν ποιοτικά και ποσοτικά τη σύνθεση των φαινολικών ουσιών. Η άριστη θερμοκρασία αέρα για την δραστηριότητα των ενζύμων που εμπλέκονται στα μονοπάτια βιοσύνθεσης των φαινολικών είναι μεταξύ 22-25 °C, εφόσον δεν δρουν περιοριστικά άλλοι παράγοντες. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται κυρίως στον φλοιό των ραγών με τα σάκχαρα να παίζουν απαραίτητο ρόλο ως δομικές μονάδες. Οι υψηλές θερμοκρασίες έχουν την ιδιότητα να διεγείρουν τις μεταβολικές αντιδράσεις, ενώ σε πολύ χαμηλές τα ένζυμα αδρανοποιούνται πλήρως ή καταστρέφονται. Ωστόσο σε θερμοκρασίες πολύ υψηλότερες από τη βέλτιστη, η φαινολική ωριμότητα δεν επιτυγχάνεται, καθώς ο υψηλός ρυθμός διαπνοής περιορίζει την διαθεσιμότητα των σακχάρων. Συνεπώς η μέγιστη τιμή του φαινολικού και αρωματικού χαρακτήρα επιτυγχάνεται σε συνθήκες με υψηλή συγκέντρωση σακχάρων και μέτριας θερμοκρασίας.

Η ανάπτυξη του χρώματος επηρεάζεται και αυτή αρνητικά από τις υψηλές θερμοκρασίες, καθώς οι ράγες παραμένουν πράσινες ή χρωματίζονται ελάχιστα. Η ανάπτυξη του χρώματος και η συσσώρευση των ανθοκυανών ακολουθούν αντίθετη πορεία ως προς τη συγκέντρωση των αρωματικών ουσιών λόγω ανταγωνισμού στην αξιοποίηση των σακχάρων. Για τον λόγο αυτό επεμβάσεις για τη βελτίωση της φαινολικής ωριμότητας θα πρέπει να γίνονται με προσοχή ώστε να μην επιδράσουν αρνητικά στον αρωματικό χαρακτήρα της ποικιλίας.

Το ηλιακό φως δίνει το ερέθισμα στο φυτό για την ενεργοποίηση μιας σειράς ενζυμικών αντιδράσεων προς το σχηματισμό φαινολικών ουσιών. Η σύνθεση των ανθοκυανών ενεργοποιείται από το ορατό φάσμα, ενώ οι φλαβονόλες από την υπεριώδη ακτινοβολία (UVB). Άριστες συνθήκες φωτοσύνθεσης κυμαίνονται περίπου στα 700 E/m²/s σε τιμές ηλιακής ακτινοβολίας. Βέβαια, η υπερβολική έκθεση των σταφυλιών στην ηλιακή ακτινοβολία επιδρά αρνητικά, προκαλώντας την οξειδωτική καταπόνηση των ανθοκυανών και τη διάσπαση τους. Σε πρέμνα μεγάλης ζωηρότητας, όπου επικρατούν συνθήκες σκίασης στη σταφυλική ζώνη, ο ρυθμός σχηματισμού των ανθοκυανών είναι αργός και οι φλοιοί είναι φτωχοί σε χρωστικές. Από τις ανθοκυάνες, λιγότερο ευαίσθητη στη έλλειψη φωτός είναι η μαλβιδίνη.

Έχει αποδειχθεί ότι η θερμοκρασία του σταφυλιού, πολλές φορές, έχει μεγαλύτερη επιρροή από την ηλιακή ακτινοβολία στην συγκέντρωση των ανθοκυανών και ποικίλει αναλόγως το αναπτυξιακό στάδιο. Η αυξημένη έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία αυξάνει τη θερμοκρασία της ράγας και μπορεί να εντοπιστούν διαφορές μέχρι και 11 °C στο ίδιο πρέμνο, μεταξύ σκιαζόμενων και μη σταφυλιών. Πρέμνα μέτριας ή μικρής ζωηρότητας, με αραιή βλάστηση επιτρέπουν την καλύτερη έκθεση των σταφυλιών στον ήλιο και για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Αυτό έχει ως συνέπεια οι ράγες να παρουσιάζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις σε προανθοκυανιδίνες, επιγαλοκατεχίνες και προανθοκυάνες. Επιπλέον, ο φλοιός των ραγών εμφανίζει μεγαλύτερη συγκέντρωση τανινών.

Η εκάστοτε καλλιεργούμενη ποικιλία και ειδικότερα ο κάθε καλλιεργούμενος κλώνος χαρακτηρίζεται από ένα ξεχωριστό πολυφαινολικό δυναμικό, το οποίο αποτελεί και αμπελογραφικό χαρακτηριστικό. Οι διαφορές αυτές στο ανθοκυανικό προφίλ οφείλονται στην περιπλοκότητα και στις διάφορες παραλλαγές του μονοπατιού βιοσύνθεσης που παρατηρούνται μεταξύ των ποικιλιών. Από τις ενδογενείς ιδιότητες της ποικιλίας, η ζωηρότητα σχετίζεται άμεσα με την παραγωγή φαινολικών ουσιών. Οι προανθοκυανιδίνες του φλοιού βρίσκονται σε μεγαλύτερες ποσότητες σε πρέμνα χαμηλής ζωηρότητας, ενώ ταυτόχρονα παρατηρείται αύξηση της αναλογίας των επιγαλοκατεχινών εντός των πολυμερών των προανθοκυανιδινών αλλά και αύξηση του μεγέθους των πολυμερών. Σταφύλια προερχόμενα από πρέμνα μεγαλύτερης ηλικίας θεωρούνται πιο ποιοτικά με καλύτερα τεχνολογικά χαρακτηριστικά. Είναι γνωστό ότι η ηλικία του φυτού επηρεάζει τα παραγόμενα προϊόντα, αφού τα φυτά είναι πιο προσαρμοσμένα στη δεδομένη περιοχή καλλιέργειας τους, σε σύγκριση με νεότερα τα οποία αξιοποιούν όλους τους διαθέσιμους πόρους για την ανάπτυξη των οργάνων τους.

Μία εξίσου σημαντική παράμετρος είναι η επιλογή του κατάλληλου υποκειμένου. Η ζωηρότητα του υποκειμένου μεταδίδεται στην ποικιλία διαμορφώνοντας τις φυσιολογικές ιδιότητες του πρέμνου και την ποιότητα των σταφυλιών. Το ριζικό σύστημα και η βλάστηση εξαρτώνται από την αλληλεπίδραση του γονότυπου του υποκειμένου με το έδαφος (pH, διαθεσιμότητα νερού, αλάτων και θρεπτικών, δομή). Παραδείγματος χάρη, ζυηρά υποκείμενα μπορεί να επιμηκύνουν την περίοδο βλάστησης μια ποικιλίας καθυστερώντας την ωρίμανση.

Μέσα από τις διάφορες καλλιεργητικές τεχνικές, οι αμπελουργοί προσπαθούν να επιτύχουν ισορροπία μεταξύ της ζωηρότητας του φυτού και της ποιότητας των τελικών προϊόντων. Η

εφαρμογή φυτορυθμιστικών ορμονών, η πυκνότητα φύτευσης, το σύστημα διαμόρφωσης, η λίπανση και τα χλωρά κλαδέματα έχουν άμεσες επιπτώσεις στη σύνθεση και συγκέντρωση των φαινολικών ουσιών στη ράγα. Για παράδειγμα έλλειψη ή υπερβολική χρήση αζώτου προκαλεί μείωση του χρώματος των ραγών λόγω αυξημένης ζωηρότητας των φυτών. Τεχνικές για τον καλύτερο φωτισμό και αερισμό του αμπελώνα όπως το ξεφύλλισμα και το βλαστολόγημα, βελτιώνουν αισθητά το φαινολικό προφίλ της ποικιλίας.

Η άρδευση είναι ένας επιπλέον παράγοντας που επηρεάζει τη σύνθεση και συσσώρευση φαινολικών, και ιδιαίτερα των ανθοκυανών. Η ήπια υδατική καταπόνηση είναι επιθυμητή, αφού εμποδίζει την ανάπτυξη των κυττάρων του μεσοκαρπίου της ράγας, με αποτέλεσμα να μειώνεται ο τελικός όγκος της και να αυξάνει η αναλογία φλοιού/σάρκας. Ειδικότερα, πριν τον περκασμό δρα θετικά στη συγκέντρωση των ανθοκυανών και συγκεκριμένα της μαλβιδίνης, ενώ φαίνεται να μην επηρεάζει τις τανίνες των φλοιών και τις προανθοκυανιδίνες των γιγάρτων (Αναστασοπούλου, 2018).

1.3. Ξινόμαυρο

1.3.1. Η ποικιλία Ξινόμαυρο

Μια από τις εκλεκτότερες ελληνικές ποικιλίες οινάμπελου είναι το Ξινόμαυρο. Πρόκειται για ερυθρή ποικιλία που καλλιεργείται εκτεταμένα στη Βόρεια Ελλάδα, και ακριβέστερα σε μία από τις τρεις ζώνες παραγωγής ερυθρών οίνων σε αξιόλογες ποσότητες, στο τρίγωνο που σχηματίζουν οι τρεις πόλεις της Νάουσας, του Αμυνταίου, και της Γουμένισσας. Είναι επίσης γνωστή ως «Μαύρο Ναούσης», «Ναουσιανό» ή «Ποπόλκα». Το όνομά της οφείλεται στα δύο βασικά της χαρακτηριστικά, την υψηλή οξύτητα και το βαθύ ερυθρό χρώμα. Είναι πολυδύναμη ποικιλία από την οποία μπορούν να παραχθούν διαφορετικοί τύποι οίνων. Έτσι από το Ξινόμαυρο παράγονται :

-Ερυθροί ξηροί οίνοι που προσφέρονται για παλαίωση, οι γνωστοί οίνοι Ονομασίας Προέλευσης Ανωτέρας Ποιότητας «Νάουσα» και σε συνοινοποίηση με την ποικιλία Νεγκόσκα οι οίνοι Ο.Π.Α.Π. «Γουμένισσα»

-Οίνοι Ροζέ Ο.Π.Α.Π στην περιοχή του Αμυνταίου

-Λευκοί οίνοι βάσεως για την παραγωγή αφρωδών οίνων.

Από τα στέμφυλα της ίδιας ποικιλίας παράγεται και υψηλής ποιότητας τσίπουρο σε πολλές περιοχές της Μακεδονίας. Είναι επομένως μία ποικιλία που παρουσιάζει μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον. Το Ξινόμαυρο είναι ποικιλία ανθεκτική στις ασθένειες, ιδιαίτερα στον περονόσπορο (*Plasmopara Viticola*) και στο ωΐδιο (*Oidium tuckeri*). Κάθε καρποφόρος βλαστός φέρει ένα έως τρία σταφύλια (τσαμπιά) μέτριες σε μέγεθος και αρκετά πυκνόραγες. Η ράγα είναι σφαιρική, μέτρια έως μικρή σε μέγεθος με παχύ ανθεκτικό φλοιό. Η μορφολογική και ανατομική ανάλυση του σταφυλιού της ποικιλίας Ξινόμαυρο παρουσιάζεται στον Πίνακα 1 (Γκουλιώτη, 2000).

<i>Μέσο Βάρος</i>	(g)
σταφυλής	261,1
ράγας	2,0
100 γιγάρτων	2,5
<i>Σύνθεση σταφυλής</i>	(%)
ράγες	94,0
βόστρυχοι	6,0
<i>Σύνθεση ράγας</i>	(%)
χυμός και σάρκωμα	84,0
φλοιοί	13,5
γίγαρτα	2,5
<i>Μέσες διαστάσεις ράγας</i>	14,3 x 13,9 (mm)

Πίνακας 1: Μηχανική ανάλυση του σταφυλιού της ποικιλίας Ξινόμαυρο (Βλάχος, 1986)

1.3.2. Χαρακτηρισμός σταφυλιών και οίνων της ποικιλίας Ξινόμαυρο

Τα υπάρχοντα δεδομένα (Βογιατζής, 2005) για την ποικιλία τεκμηριώνουν την άποψη ότι η ονομασία της ως «ξινό-μαύρο» συνάδει με τα βασικά χαρακτηριστικά των σταφυλιών και των οίνων της. Ο όξινος χαρακτήρας, σχετίζεται με την ικανότητα της ποικιλίας να βιοσυνθέτει και να συσσωρεύει πολύ υψηλές ποσότητες τρυγικού οξέος σε συγκεντρώσεις υπερδιπλάσιες εκείνων του μηλικού οξέος. Ο όξινος χαρακτήρας των σταφυλιών και των οίνων της ποικιλίας δεν εξαρτάται από το βαθμό ωριμότητας των σταφυλιών αλλά καθορίζεται από μια σειρά παραμέτρων που σχετίζονται με τα κλιματολογικά χαρακτηριστικά της εσοδείας, το φορτίο των πρέμνων και τον τύπο του εδάφους του αμπελώνα. Σε χρονιές που επικρατούν ξηροθερμικές συνθήκες ο όξινος χαρακτήρας της ποικιλίας ατονεί, ενώ αντίθετα, σε περίπτωση πολλών βροχοπτώσεων, κυρίως μετά τον περκασμό, η οξύτητα αυξάνεται. Η μείωση του φορτίου ανά πρέμνο και ο τύπος του εδάφους (παρουσία ανθρακικού ασβεστίου) δρουν ρυθμιστικά επί του όξινου χαρακτήρα (μείωση) καθώς, αφενός, ευνοούν τον εμπλουτισμό των ραγών με το ισχυρά βασικό κάλιο οπότε επέρχεται φυσική εξουδετέρωση οξύτητας, αφετέρου, μεταβάλλουν τον μεταβολισμό του φυτού στην κατεύθυνση της παραγωγής υψηλότερων συγκεντρώσεων μηλικού οξέος και της μείωσης του λόγου τρυγικό προς μηλικό οξύ (ρύθμιση pH). Σχετικά με τις υψηλές φαινολικές περιεκτικότητες της ποικιλίας, τα επιστημονικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι αυτές σχετίζονται κατά βάση με την παρουσία τανινών στα σταφύλια και τα γίγαρτα και όχι σε σημαντικό βαθμό με την παρουσία ανθοκυανών στους φλοιούς των σταφυλιών. Τα σταφύλια και οι οίνοι της ποικιλίας Ξινόμαυρο έχουν γενικώς χαμηλά επίπεδα ανθοκυανών, ενώ η παρουσία τανινών είναι αυξημένη. Το βαθύ ερυθρό χρώμα, σχεδόν μαύρο, που

αποκτούν σε πολλές περιπτώσεις οι οίνοι της Νάουσας και η αξιοσημείωτη σταθερότητα του στον χρόνο είναι αποτέλεσμα του υψηλού βαθμού εκχυλισιμότητας από τους φλοιούς που εμφανίζουν οι φαινολικές ουσίες συνολικά, του υψηλού βαθμού ιονισμού των ανθοκυανών (ένταση χρώματος), της υψηλής περιεκτικότητας σε τανίνες και του μεγάλου βαθμού συμπλοκοποίησης των ανθοκυανών με τις τελευταίες (διατήρηση χρώματος). Όπως και στην περίπτωση του όξινου χαρακτήρα της ποικιλίας, η περιεκτικότητα των σταφυλιών και των παραγόμενων οίνων σε χρωστικές δεν εξαρτάται απαραίτητα από τον βαθμό ωριμότητας των σταφυλιών, αλλά ρυθμίζεται από μια σειρά παραγόντων που σχετίζονται με τα κλιματολογικά χαρακτηριστικά της χρονιάς (ξηροθερμικές συνθήκες ή βροχοπτώσεις μετά τον περκασμό), τον τύπο του εδάφους και την ακολουθούμενη λιπαντική τεχνική, παράγοντες οι οποίοι καθορίζουν τη συγκέντρωση των χρωστικών και τανινών στους φλοιούς, αλλά κυρίως το βαθμό εκχυλισιμότητάς τους στον οίνο. Ο έντονα τανικός χαρακτήρας της ποικιλίας προσδιορίζει το «ρωμαλέο» χαρακτήρα των οίνων της και καθιστά δυνατή τη μακρόχρονη παλαίωσή τους. Επιπλέον, τα υπάρχοντα επιστημονικά δεδομένα υποδηλώνουν ότι η ποσοτική παρουσία των τανινών και η προέλευση τους (φλοιοί, ράγες, γίγαρτα), διαμορφώνουν σημαντικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων. Στην περίπτωση των τανινών, η ποιοτική και ποσοτική σύσταση δεν συσχετίζεται άμεσα με τη βιομηχανική ωριμότητα των σταφυλιών αλλά ρυθμίζεται από μια σειρά παραμέτρων οι οποίες εκτός των προαναφερθέντων για τις χρωστικές (ξηροθερμικές συνθήκες ή βροχοπτώσεις μετά τον περκασμό, τύπος εδάφους του αμπελώνα, ακολουθούμενη λιπαντική τεχνική) σχετίζονται επίσης με το φορτίο ανά πρέμνο και το υποκείμενο. Τα δεδομένα τεκμηριώνουν ότι η μείωση του φορτίου έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του φαινολικού περιεχομένου των σταφυλιών και την αυξημένη εκχυλισιμότητά τους στον οίνο. Η επιλογή του υποκειμένου είναι, σε συνάρτηση με τον τύπο του εδάφους, κρίσιμη. Όταν οι εδαφικές συνθήκες το επιτρέπουν με περιεκτικότητα του εδάφους σε ενεργό ανθρακικό ασβέστιο μικρότερη του 15%, η επιλογή του υποκειμένου R110, όπως αυτό που εξετάζεται στην παρούσα εργασία, οδηγεί στην παραγωγή οίνων με υψηλότερες συγκεντρώσεις φαινολών με αποτέλεσμα κρασιά με πλουσιότερη δομή, ενώ αντίθετα το 41B αποδίδει πιο «ραφινάτα» κρασιά.

Τέλος, τα δεδομένα (Βογιατζής, 2005) υποστηρίζουν ότι το Ξινόμαυρο δεν συγκαταλέγεται στις θεωρούμενες ως αρωματικές ποικιλίες. Συνήθως, το άρωμα των οίνων της ποικιλίας στη νεότητά τους είναι μάλλον διακριτικό, αλλά και ιδιαίτερο. Η ένταση και ο χαρακτήρας του αρώματος (φρουτώδεις χαρακτήρες) διαμορφώνονται κυρίως από την παρουσία συστατικών του δευτερογενούς αρώματος ή αρώματος της ζύμωσης (οξικοί εστέρες αλκοολών και εστέρες λιπαρών οξέων), ενώ τα ποικιλιακά χαρακτηριστικά περιορίζονται στην εμφάνιση ιδιαίτερων οσμών που θυμίζουν ντοματοπολτό και ελιά, χαρακτήρες για τους οποίους μέχρι σήμερα δεν κατέστη δυνατή η συσχέτιση με συγκεκριμένες χημικές ενώσεις ή τύπους ενώσεων. Η αναγνώριση και τεκμηρίωση της παρουσίας ενός σχετικά αυξημένου αρωματικού δυναμικού από φαινολικά και τερπενικά γλυκοζιτικά παράγωγα στους φλοιούς των σταφυλιών της ποικιλίας, ερμηνεύει σε μεγάλο βαθμό το γεγονός ότι, στην ωριμότητά τους και μετά από παλαίωση οι οίνοι της ποικιλίας αναπτύσσουν συνήθως μία παλέτα σύνθετων αρωμάτων όπου οι τυπικοί αρωματικοί χαρακτήρες συμπλέκονται με φρουτώδη χαρακτηριστικά και γλυκούς χαρακτήρες που θυμίζουν δαμάσκηνα, μαρμελάδα, μέλι και

άλλα. Όμως, ο ρόλος των επιμέρους συστατικών στη διαμόρφωση του αρώματος και οι παράγοντες που επηρεάζουν την ποιοτική και ποσοτική σύσταση του κλάσματος των πρόδρομων αρωματικών ενώσεων στο σταφύλι δεν έχουν αποσαφηνιστεί μέχρι στιγμής. Εκείνο που υποδηλώνεται είναι ότι υπάρχει άμεση συσχέτιση μεταξύ αρωματικού δυναμικού των οίνων (ελεύθερο άρωμα, πρόδρομες αρωματικές ενώσεις) από Ξινόμαυρο και των παραγόντων υποκείμενο, φορτίο ανά πρέμνο και τύπος εδάφους (Βογιατζής, 2005).

1.3.3. Φαινολικά συστατικά οίνων της ποικιλίας Ξινόμαυρο

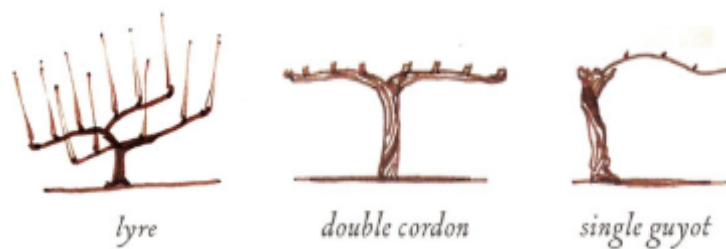
Το Ξινόμαυρο με συγκέντρωση ολικών φαινολικών 758 ppm (Καρίμαλη Δ., 2018) – 3737 ppm (Καραμανίδου, 2008), που προκύπτει από μέτρηση με την μέθοδο Folin – Ciocalteu, υπερέχει έναντι των υπόλοιπων βασικών ελληνικών ερυθρών ποικιλιών (Αγιωργήτικο, Μαυροτράγανο και Φωκιανό). Η υψηλή αυτή συγκέντρωση, όπως έχει προαναφερθεί, πρακτικά μπορεί να αποδοθεί στο ότι το Ξινόμαυρο είναι ποικιλία που χαρακτηρίζεται από το βαθύ χρώμα του (ανθοκυάνες) και από την στυφάδα στη γεύση του (τανίνες) συστατικά που συμβάλλουν στο φαινολικό περιεχόμενο.

Όσον αφορά ορισμένες επί μέρους φαινολικές ενώσεις, όπως αυτές μετρήθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν με την μέθοδο της HPLC, στο Ξινόμαυρο παρουσιάζονται οι εξής συγκεντρώσεις:

- Γαλλικό οξύ: Υποκατεστημένο υδρόξυβενζοϊκό οξύ, μη φλαβονοειδές. Συγκέντρωση: 362 ppm
- Συριγγικό οξύ: Υποκατεστημένο υδρόξυβενζοϊκό οξύ, μη φλαβονοειδές. Συγκέντρωση: 13 ppm
- Καφεϊκό οξύ: Υποκατεστημένο υδρόξυκινναμωμικό οξύ, μη φλαβονοειδές. Συγκέντρωση: 22 ppm
- Ρεσβερατρόλη: Στιλβένιο, μη φλαβονοειδές. Συγκέντρωση: 2 ppm
- Κερκετίνη: Φλαβονόλη, φλαβονοειδές. Συγκέντρωση: 12 ppm (Καρίμαλη Δέσποινα, 2018).

1.3.4. Επίδραση του συστήματος διαμόρφωσης αμπέλου στον οργανοληπτικό χαρακτήρα του Ξινόμαυρου

Σε μελέτη που διεξήχθη σε εμπορικό αμπελώνα της Νάουσας με πρέμνα της ποικιλίας *Vitis vinifera* L. cv. Ξινόμαυρο έγινε σύγκριση μεταξύ του οριζόντια διαιρούμενου συστήματος Lyre και των οριζόντιων γραμμικών συστημάτων διαμόρφωσης αμφίπλευρο Royat (Cordon Royat) και μονόπλευρο Guyot (Εικόνα 1).



Εικόνα 1: Συστήματα διαμόρφωσης Lyre, αμφίπλευρο Cordon Royal και μονόπλευρο Guyot

Οι οίνοι που προέκυψαν από τα τρία συστήματα διαμόρφωσης παρουσίασαν διαφορές σε πολλές παραμέτρους που μελετήθηκαν. Οι οίνοι από το διαιρούμενο σύστημα Lyre χαρακτηρίστηκαν από αυξημένη συγκέντρωση ανθοκυανών, ένταση χρώματος, τιμές pH και χαμηλότερη οξύτητα σε σχέση με τα γραμμικά συστήματα. Οι οίνοι από τα γραμμικά συστήματα δεν παρουσίασαν διαφορές στις περισσότερες παραμέτρους, όμως αυτοί που προήλθαν από το σύστημα Guyot είχαν χαμηλότερη συγκέντρωση ολικών φαινολικών. Ωστόσο, δεν υπήρξε διαφοροποίηση των δειγμάτων στην περιεκτικότητα σε αλκοόλη, στην απόχρωση, στις ολικές ταννίνες, στην αντιοξειδωτική ικανότητα και στο προφίλ των μονομερών ανθοκυανών.

Τα πτητικά συστατικά των οίνων που μελετήθηκαν επηρεάστηκαν σημαντικά από το σύστημα διαμόρφωσης που εφαρμόστηκε. Συγκεκριμένα οι οίνοι του συστήματος Royal είχαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις των οξικών εστέρων των αλκοολών και των περισσότερων αιθυλεστέρων των λιπαρών οξέων, εκτός από τον οκτανοϊκό αιθυλεστέρα. Οι ενώσεις που μελετήθηκαν είναι σημαντικές για τον φρουτώδη χαρακτήρα των οίνων και οι οίνοι που προήλθαν από το σύστημα Lyre και Guyot θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν πιο φρουτώδεις. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε επίδραση στη συγκέντρωση του διμεθυλοσουλφιδίου στους οίνους στο οποίο οφείλεται το τυπικό άρωμά της ποικιλίας, συνεπώς το σύστημα διαμόρφωσης επηρέασε σημαντικά τα πτητικά συστατικά των οίνων, διατηρώντας ωστόσο τα τυπικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας (Κυραλέου, 2016).

1.3.5. Επίδραση της ύδρευσης στα φαινολικά συστατικά του Ξινόμαυρου

Σε μελέτη για την επίδραση της άρδευσης στη συγκέντρωση των μονομερών ανθοκυανών στους φλοιούς των ραγών της ποικιλίας Ξινόμαυρο εξετάστηκαν 5 επεμβάσεις με διαφορετικές συνθήκες άρδευσης. Η πλήρης άρδευση (FI) από την καρπόδεση μέχρι την ωρίμανση, άρδευση από την καρπόδεση και μέχρι πριν τον περκασμό (SV) μετά ελλειμματική, άρδευση από τον περκασμό μέχρι την ωρίμανση (VH) ελλειμματική πριν τον περκασμό, άρδευση κατά την ωρίμανση (LH) ελλειμματική μέχρι τα μισά της ωρίμανσης και τέλος συνεχής ελλειμματική άρδευση (NI). Ως ελλειμματική ορίζεται η άρδευση με ποσότητες νερού μικρότερες από αυτές της εξαμισοδιαπνοής ενώ ως πλήρης ορίζεται η άρδευση που είτε καλύπτει είτε υπερβαίνει τις ποσότητες αυτές.

Τα αποτελέσματα δείχνουν στο σύνολό τους τη θετική επίδραση της συνεχούς ελλειμματικής άρδευσης (NI) στη συνολική συγκέντρωση των ανθοκυανών επί σταφυλής. Ωστόσο η πλήρης άρδευση πριν το στάδιο της ωρίμανσης (LH) δεν διέφερε σημαντικά από τη συνεχή ελλειμματική άρδευση (NI). Επιπλέον η πλήρης άρδευση από την καρπόδεση μέχρι τον περκασμό (SV) και η πλήρης άρδευση από τον περκασμό μέχρι την ωρίμανση (VH), δεν δίνει αποτελέσματα με σημαντική διαφορά, όσον αφορά την συγκέντρωση των μονομερών ανθοκυανών αλλά και του συνόλου, σε σύγκριση με την πλήρη άρδευση σε όλα τα στάδια (FI). Αξίζει να τονιστεί ότι οι συνολικές συγκεντρώσεις των ανθοκυανών, εκφρασμένες ανά βάρος νωπών φλοιών, δεν διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους, γεγονός που πιθανά σημαίνει ότι μεγαλύτερη επίδραση στην συγκέντρωση των ανθοκυανών έχει το μέγεθος της ράγας το οποίο επηρεάζεται από τις συνθήκες άρδευσης. Αυτό φαίνεται και από τα αποτελέσματα των συγκεντρώσεων ανά βάρος νωπής ράγας (Βαλιάντζα, 2018).

2. Οινοποίηση

2.1. Ερυθρή οινοποίηση

Η ερυθρή οινοποίηση προϋποθέτει απαραίτητα την παραμονή του γλεύκους με τα στέμφυλα για ένα χρονικό διάστημα ώστε να εκχυλιστούν χρωστικές και άλλα συστατικά στο γλεύκος. Απαιτούμενη προζυμωτική διαδικασία στην ερυθρή οινοποίηση αποτελεί η αποβοστρύχωση. Τέλος, σε αντίθεση με τη λευκή οινοποίηση, η μηλογαλακτική ζύμωση αποτελεί βασική διεργασία των περισσότερων ερυθρών οινοποιήσεων. Πέρα από την κλασική μέθοδο ερυθρής οινοποίησης, που θα αναλυθεί παρακάτω, τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται και εναλλακτικές μέθοδοι που διαφοροποιούν σημαντικά το τελικό προϊόν με πιο σημαντικές τη θερμοοινοποίηση και την ανθρακική αναεरोβίωση (Κουράκου, 1998).

2.1.1. Προζυμωτική κρυσεκχύλιση

Η προζυμωτική κρυσεκχύλιση αν και ξεκίνησε ως μια τεχνική που χρησιμοποιούνταν μόνο στη λευκή οινοποίηση, τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιείται στην παραγωγή ροζέ και ερυθρών κρασιών με σκοπό να βελτιώσει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους και την «πολυπλοκότητά» τους. Στην ερυθρή οινοποίηση η προζυμωτική κρυσεκχύλιση γίνεται στο ίδιο θερμοκρασιακό εύρος με τη λευκή (4-15 °C) αλλά μπορεί να διαρκέσει περισσότερο, δεδομένου ότι τα ερυθρά κρασιά είναι πολύ πιο πλούσια σε φαινολικό περιεχόμενο από τα λευκά και ο οργανοληπτικός χαρακτήρας του κρασιού δεν επηρεάζεται αρνητικά από την περαιτέρω εκχύλιση φαινολικών. Συνήθως, η κρυσεκχύλιση στα ερυθρά κρασιά διαρκεί 2 με 7 μέρες αν και σε ορισμένες περιπτώσεις έχουν παρατηρηθεί χρόνοι κρυσεκχύλισης 10 ημερών. Τόσο το ανθοκυανικό

περιεχόμενο όσο και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο δε μεταβάλλεται σημαντικά μετά την 4η-5η μέρα της προζυμωτικής κρυσεκχύλισης (Μπιμπίλας, 2017).

2.1.2. Κλασική μέθοδος ερυθρής οινοποίησης

Ως κλασική μέθοδος ερυθρής οινοποίησης ονομάζεται η τεχνική κατά την οποία διεξάγονται ταυτόχρονα:

- Η αλκοολική ζύμωση των σακχάρων του γλεύκους παρουσία των στερεών μερών του σταφυλιού (φλοιοί και γίγαρτα).
- Η εκχύλιση των συστατικών των στερεών μερών του σταφυλιού από το υδροαλκοολικό διάλυμα που σχηματίζεται κατά την αλκοολική ζύμωση.

Αν και μπορούν να υπάρξουν διαφοροποιήσεις κατά τη διαδικασία της οινοποίησης τα βασικά στάδια της κλασικής μεθόδου συνοψίζονται στα παρακάτω:

1. Μεταφορά του γλεύκους με τα στέμφυλα (σταφυλόμαζα) στα δοχεία οινοποίησης (δεξαμενές, βαρέλια) με ταυτόχρονη θείωση
2. Αλκοολική ζύμωση παρουσία των στερεών μερών με ταυτόχρονη εκχύλιση των συστατικών των μερών αυτών
3. Διαχωρισμός του ημιζυμωμένου ή αποζυμωμένου γλεύκους από τα στέμφυλα
4. Απομάκρυνση των στεμφύλων από τα δοχεία οινοποίησης και μεταφορά τους στο πιεστήριο
5. Πίεση των στεμφύλων προς παραγωγή του «κρασιού πίεσης»
6. Συμπληρωματικές ζυμώσεις των σακχάρων που έχουν απομείνει με αλκοολική και μηλογαλακτική ζύμωση.

Η σταφυλόμαζα που παραλαμβάνεται, μετά από την αποβοστρύχωση και έκθλιψη των σταφυλιών, μεταφέρεται στις δεξαμενές οινοποίησης (οινοποιητές) με τη βοήθεια ειδικής αντλίας και ταυτόχρονα γίνεται θείωση με τη βοήθεια θειοδομετρητών. Όταν ο θειώδης ανυδρίτης προστίθεται πριν τη ζύμωση δεσμεύεται από τα σάκχαρα και έτσι κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης απελευθερώνεται προοδευτικά και προσφέρει προστασία καθ'όλη τη διάρκειά της.

Στη συνέχεια, ξεκινά η αλκοολική ζύμωση με παράλληλη την εκχύλιση (κυρίως) των φαινολικών συστατικών. Η διάρκεια παραμονής των στεμφύλων με το γλεύκος μπορεί να ποικίλει σημαντικά από λίγα εικοσιτετράωρα ως και μερικές εβδομάδες ανάλογα με την ποικιλία του σταφυλιού και το οργανοληπτικό αποτέλεσμα που θέλει να πετύχει ο οινολόγος.

Η θερμοκρασία αποτελεί ακόμα έναν καθοριστικό παράγοντα της διεργασίας. Ενώ έχει παρατηρηθεί ότι βέλτιστοι ρυθμοί εκχύλισης παρατηρούνται σε θερμοκρασίες 30-35 °C, πρέπει παράλληλα να μην επιβραδύνεται η δράση των σακχαρομυκήτων ώστε να μη μειώνεται η αρωματική ένταση. Συνήθως, επιλέγεται μια θερμοκρασία στο εύρος 25-35 °C (Κουράκου 1998).

-Πηκτινολυτικά Ένζυμα

Αν και το σταφύλι είναι πλούσιο σε πηκτινολυτικά ένζυμα, η δράση τους πολλές φορές περιορίζεται από την ανομοιογένεια του μίγματος των στεμφύλων με το γλεύκος καθώς και από το pH του. Για τον λόγο αυτό, υπάρχουν διάφορα εμπορικά ενζυμικά σκευάσματα με μεγάλη προσαρμοστικότητα, από συγκεκριμένα είδη μυκήτων (*Aspergillus*, *Rhizopus* και *Trichoderma*), τα οποία ενεργούν στο χαμηλό pH που επικρατεί κατά την αλκοολική ζύμωση και η αποτελεσματικότητά τους εξαρτάται από τη φύση των σταφυλιών. Η δράση τους σχετίζεται με την καταστροφή των κυτταρικών δομών και ιστών που διευκολύνει την εκχύλιση των συστατικών στο γλεύκος. Με την προσθήκη τους επιτυγχάνεται βελτίωση της απόδοσης του γλεύκους μέχρι και 15%, μέσα σε 4-10 ώρες. Επιπλέον, βελτιώνεται η σταθερότητα του χρώματος, μέσω του σχηματισμού πολυμερών χρωστικών ενώ αυξάνεται και η συγκέντρωση των προκυανιδινών, κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, όχι μόνο αυτών που προέρχονται από τους φλοιούς, αλλά και αυτών από τα γίγαρτα. Για αυτό σε ορισμένες περιπτώσεις η βελτίωση του χρώματος και της δομής συνοδεύεται από έντονη στυφάδα, ιδιαίτερα στην επίγευση (Βογιατζής, 2005). Η προσθήκη των ενζύμων αυτών πραγματοποιείται σε μικρό χρονικό διάστημα μετά την έκθλιψη των σταφυλιών ώστε να διασφαλιστεί η αύξηση της απόδοσης σε γλεύκος και παράλληλα να ενισχυθεί η διαδικασία της διαύγασης του κρασιού, ειδικά σε ποικιλίες που είναι πλούσιες σε πηκτινικές ουσίες (Μπιμπίλας, 2017). Μία ακόμη επίδραση της χρήσης των πηκτινολυτικών ενζύμων είναι οι αυξημένες τιμές του δείκτη ζελατίνης. Ο δείκτης ζελατίνης δείχνει την ικανότητα των τανινών να αντιδρούν με πρωτεΐνες, σχηματίζοντας σταθερά σύμπλοκα (Δημητρίου, 2015).

-Οινοποιητές

Όταν ξεκινήσει η αλκοολική ζύμωση το διοξείδιο του άνθρακα που εκλύεται από τη διάσπαση των σακχάρων ωθεί με μεγάλη δύναμη τα στέμφυλα προς το επάνω μέρος του δοχείου δημιουργώντας έτσι μια ιδιαίτερα συμπαγή στερεή φάση (γνωστή ως «καπέλο»), διαχωρισμένη από τον μεγάλο όγκο της υγρής φάσης με αποτέλεσμα η εκχύλιση να είναι ατελής. Εκτός αυτού, τα στέμφυλα που επιπλέουν στην επιφάνεια του γλεύκους βρίσκονται εκτεθειμένα στον υπερκείμενο αέρα με αποτέλεσμα την ανάπτυξη οξικών βακτηριών που αυξάνουν την πτητική οξύτητα του κρασιού.

Έτσι, είναι αναγκαία μία μέθοδος συνεχούς επαφής των δύο φάσεων. Διάφορες τεχνικές χρησιμοποιήθηκαν κατά καιρούς όπως η εμφύσηση των στεμφύλων στην υγρή φάση. Τελικά, επικράτησε η μέθοδος της διαβροχής της στερεής φάσης από την υγρή (ανακύκλωση του γλεύκους) με χρήση αντλιών. Τα τελευταία χρόνια είναι διαθέσιμες στο εμπόριο δεξαμενές από ανοξείδωτο χάλυβα με εσωτερικούς ψυκτήρες για αυτόματη ρύθμιση της θερμοκρασίας και αυτόματη ανακύκλωση του γλεύκους οι οποίες και χαρακτηρίζονται ως οινοποιητές. Οι δεξαμενές αυτές περιλαμβάνουν ακόμα

και έναν παράπλευρο μετρητή στάθμης και ένα σωλήνα εξόδου για δειγματοληψίες. Μια δεξαμενή αυτής της κατηγορίας χωρίζεται σε δύο άνισα τμήματα από ένα διάτρητο φύλλο ανοξείδωτου χάλυβα το οποίο κρατάει τα στέμφυλα βυθισμένα μέσα στο γλεύκος. Στον κεντρικό άξονα της δεξαμενής υπάρχει ένας διάτρητος σωλήνας του οποίου το πάνω άκρο απολήγει πάνω από το διάτρητο φύλλο και κλείνεται με σκέπασμα. Η δεξαμενή έχει επίσης έναν πλευρικό σωλήνα που χρησιμοποιείται για την ανακύκλωση του γλεύκους με τη βοήθεια αντλίας. Όλος αυτός ο εσωτερικός εξοπλισμός είναι κινητός και μπορεί να αφαιρείται ώστε μετά το πέρας της οινοποίησης ο οινοποιητής να χρησιμοποιείται ως δεξαμενή επεξεργασίας και αποθήκευσης του κρασιού.

Ένα εναλλακτικό μοντέλο οινοποιητή περιλαμβάνει και ένα πλευρικό σωλήνα, στο άνω άκρο του οποίου είναι προσαρμοσμένο ένα ελευθέρως περιστρεφόμενο σύστημα διαμερισμού του ανακυκλούμενου γλεύκους, προς έκπλυση των σταφυλιών. Στο σύστημα αυτό δεν υπάρχει πλέγμα και τα στέμφυλα σχηματίζουν «καπέλο» στην επιφάνεια του ζυμώμενου γλεύκους ενώ διαβρέχονται απ' ευθείας από το ανακυκλούμενο γλεύκος. Μια άλλη βασική διαφορά είναι στον εσωτερικό πυθμένα της δεξαμενής, εκεί που βρίσκεται η θυρίδα εκκένωσης των στεμφύλων, όπου είναι προσαρμοσμένο ένα διπλό πτερύγιο με άνοιγμα περίπου ίσο με τη διάμετρο του πυθμένα. Όταν το υγρό απομακρύνεται από τη δεξαμενή και τα στέμφυλα συγκεντρώνονται στον πυθμένα, το πτερύγιο τα ωθεί αυτόματα προς τη θυρίδα και στη συνέχεια μεταφέρονται στο πιεστήριο. Πέρα από αυτούς τους δύο τύπους, υπάρχουν και άλλοι που η αρχή της λειτουργίας τους μπορεί να διαφέρει σημαντικά.

Οι δύο τρόποι με τους οποίους γίνεται η ανακύκλωση του γλεύκους ο «φυσικός» και ο «ενισχυμένος» είναι κοινοί και για τους δύο τύπους οινοποιητών.

Ο φυσικός τρόπος προϋποθέτει ανοικτό το σκέπασμα του κεντρικού σωλήνα και βασίζεται στην πίεση που ασκεί το εκλυόμενο διοξείδιο του άνθρακα. Η πίεση αυτή ωθεί το γλεύκος στο εσωτερικό του κεντρικού διάτρητου σωλήνα. Στη συνέχεια αυτό ανέρχεται μέσω του κεντρικού σωλήνα πάνω από την επιφάνεια της δεξαμενής και τη διαβρέχει.

Ο ενισχυμένος τρόπος προϋποθέτει κλειστό το σκέπασμα του κεντρικού σωλήνα και σε λειτουργία το σύστημα ανακύκλωσης μέσω αντλίας. Το γλεύκος αντλείται από το εσωτερικό του διάτρητου σωλήνα, απαλλαγμένο από στέμφυλα, επομένως δεν υπάρχει κίνδυνος φραξίματος του συστήματος ανακύκλωσης. Ο αριθμός ανακυκλώσεων ανά ώρα και η διάρκεια της εκάστοτε ανακύκλωσης ρυθμίζονται από έναν χρονοδιακόπτη (Κουράκου, 1998).

Σημαντικό παράμετρο των ανακυκλώσεων αποτελεί το γεγονός ότι κατά τη πραγματοποίησή τους μπορεί να γίνει και ο απαραίτητος αερισμός του γλεύκους. Ο αερισμός είναι απαραίτητος για το μεταβολισμό των ζυμών και τη λήψη του απαραίτητου οξυγόνου κυρίως κατά το πρώτο 48ωρο της αλκοολικής ζύμωσης. Θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη και οι θερμοκρασιακές μεταβολές που συμβαίνουν λόγω του αερισμού σε συνδυασμό με τη παραγόμενη από τη ζύμωση θερμότητα.

Μετά την αλκοολική ζύμωση, και υπό τις κατάλληλες συνθήκες (μικρές ποσότητες θείωσης, κατάλληλη θερμοκρασία κ.α.) πραγματοποιείται η μηλογαλακτική ζύμωση από τα γαλακτικά βακτήρια. Η μηλογαλακτική ζύμωση στην ερυθρή οινοποίηση αποτελεί μια ευρέως διαδεδομένη διεργασία και σπάνια παραλείπεται. Μειώνει την οξύτητα του κρασιού, μετατρέποντας το μηλικό οξύ σε γαλακτικό επηρεάζοντας και τα γευστικά και αρωματικά χαρακτηριστικά του παραγόμενου κρασιού. Μετά το τέλος της, το κρασί μεταγγίζεται άμεσα και γίνεται νέα προσθήκη θειώδη ανυδρίτη, για την αναστολή της δράσης των γαλακτικών βακτηρίων (Μπιμπίλας, 2017).

-Διαχωρισμός κρασιού και στεμφύλων

Ο διαχωρισμός γίνεται σε δύο φάσεις. Στη πρώτη φάση γίνεται η απομάκρυνση της ελεύθερης υγρής φάσης που αποτελεί περίπου το 85% του ολικού όγκου του κρασιού. Η απομάκρυνση του κρασιού γίνεται συνήθως από τον πυθμένα της δεξαμενής όπως παρουσιάστηκε στους οινοποιητές. Συχνά, χρησιμοποιείται συσκευή απομάκρυνσης των γιγάρτων. Ο οίνος εκροής, όπως ονομάζεται, απομακρύνεται και διοχετεύεται σε νέα δεξαμενή επεξεργασίας με τη βοήθεια σωληνώσεων και αντλιών ή όταν υπάρχει η κατάλληλη διαμόρφωση χώρου μέσω της βαρύτητας.

Το υπόλοιπο 15% του οίνου κατακρατείται από τα στέμφυλα και παραλαμβάνεται με την πίεση αυτών. Υπάρχει ένα πλήθος διαφορετικών τύπων πιεστηρίων που παράγουν διαφορετικής ποιότητας προϊόν. Γενικά, το παραγόμενο προϊόν, που ονομάζεται οίνος πίεσης, θεωρείται κατώτερο ποιοτικά από τον οίνο εκροής. Παρά ταύτα, ο οίνος πίεσης είναι πλουσιότερος σε όλα τα συστατικά του από τον οίνο εκροής, με εξαίρεση την περιεκτικότητά του σε αλκοόλη, και χρησιμοποιείται, κατά κόρον, κυρίως αυτός που προκύπτει από την πρώτη πίεση, για τις διάφορες αναμείξεις (Μπιμπίλας, 2017).

2.2. Τεχνικές οινοποίησης για την βελτίωση της ποιότητας του Ξινόμαυρου

Όπως έχει καταστεί σαφές από τα στοιχεία που παρουσιάστηκαν παραπάνω, το Ξινόμαυρο είναι ποικιλία με χαμηλή περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες και υψηλή σε τανίνες, γεγονός που σε περιπτώσεις ανεπαρκούς ωριμότητας οδηγεί στην παραγωγή οίνων με “αδύναμο” χρώμα, “γυμνή” γεύση και στυφή επίγευση. Αντίθετα, όταν η ωριμότητα είναι ικανοποιητική, η κατάληξη είναι βαθύχρωμοι οίνοι, με σώμα, δομή και διάρκεια στην επίγευση καθώς και επιδεκτικότητα για παλαίωση. Υπενθυμίζεται ότι το έντονο χρώμα των οίνων αυτών οφείλεται στον υψηλό βαθμό συμπλόκων τανινών -

ανθοκυανών καθώς και στον υψηλό βαθμό ιονισμού των ανθοκυανών τους. Συνεπώς, πρωταρχικός στόχος της οινοποίησης του Ξινόμαυρου είναι η παραλαβή μέσω της εκχύλισης του μέγιστου δυνατού ποσοστού ανθοκυανών από τους φλοιούς, ενώ στην περίπτωση των τανινών η διαδικασία πρέπει να είναι εκλεκτική και να σταματά πριν την παραλαβή έντονα στυφών συστατικών. Λόγω της ιδιαίτερης αντιμετώπισης που χρειάζεται το Ξινόμαυρο κατά την οινοποίηση, δεν έχει βρεθεί ακόμη κάποιο πρωτόκολλο οινοποίησης το οποίο να ικανοποιεί καθολικά τους παραγωγούς της ζώνης και να ανταποκρίνεται στις ανάγκες κάθε εσοδείας. Συνεπώς, γίνονται διαρκείς πειραματισμοί σε όλα τα στάδια προκειμένου να καλυφθεί αυτή η ανάγκη. Παρακάτω παρουσιάζονται ενδεικτικά κάποιες από τις εναλλακτικές τεχνικές που έχουν μελετηθεί στη ζώνη (Βογιατζής, 2005).

2.2.1. Επίδραση της αφαίμαξης χυμού στην εκχύλιση των φαινολικών

Η τεχνική της αφαίμαξης ενός ποσοστού γλεύκους έχει ως στόχο να αυξήσει το βαθμό εκχύλισης των φαινολικών συστατικών από τα στέμφυλα αυξάνοντας τη συγκέντρωσή τους στο γλεύκος και να οδηγήσει στην παραγωγή «πυκνότερων» οίνων. Η τεχνική αυτή συναντάται κατά κύριο λόγο στη Γαλλία και κατά την εφαρμογή της αφαιρείται ένα μέρος του χυμού (ή καθαρό νερό) από το γλεύκος κατά τη διάρκεια της ζύμωσης έτσι ώστε αυτό που απομένει να συνεχίσει να ζυμώνεται μέχρι να γίνει πυκνότερο και να αποκτήσει πιο έντονο χρώμα. Στην Ελλάδα οι μηχανικοί συμπυκνωτές χρησιμοποιούνται για παραγωγή συγκεκριμένης ποσότητας συμπυκνωμένου – ανακαθαρισμένου γλεύκους (παραλαμβάνεται από το συνολικό όγκο, συμπυκνώνεται με στόχο την αύξηση του αλκοολικού βαθμού του, ώστε να προστεθεί και πάλι στον κύριο όγκο και να αυξήσει και τον αλκοολικό βαθμό αυτού) και όχι για εφαρμογή σε όλον τον όγκο του προϊόντος. Για να γίνει καθολική εφαρμογή, χρειάζεται αλλαγή της νομοθεσίας, η οποία προς το παρόν απαγορεύει τη χρήση της αφαίμαξης στο τελικό, εμπορεύσιμο προϊόν. Οι συσκευές αυτές στηρίζονται σε δύο μεθόδους. Η μία αφορά την εξάτμιση υπό κενό όπου το νερό αφαιρείται από τον μούστο στους 25-30 °C και η άλλη στην αντίστροφη ώσμωση όπου ο μούστος συμπιέζεται πάνω σε μια μεμβράνη που κατακρατεί ορισμένα μόρια, ανάλογα με το μέγεθος των πόρων της. Κατ' αυτόν τον τρόπο κατακρατείται μέρος του νερού που περιέχεται στο γλεύκος, όπως επίσης και τα πτητικά οξέα (ανεπιθύμητα υποπροϊόντα της ζύμωσης) (Καλλή, 2008). Σε χρονιές με μέτριο επίπεδο ωριμότητας των σταφυλιών η βελτίωση της ποιότητας των οίνων ακολουθεί την αύξηση του ποσοστού της αφαίμαξης, δηλαδή του ποσοστού υγρού όγκου που αφαιρείται επί του αρχικού όγκου του γλεύκους. Αντίθετα, σε χρονιές με ικανοποιητική ωριμότητα, οι επιπτώσεις της διαδικασίας στην ποιότητα του προϊόντος γίνονται εμφανείς μόνο όταν αυτή κινείται σε υψηλότερα επίπεδα (αφαίμαξη έως και 30% του γλεύκους). Γενικότερα, αναλόγως της ωριμότητας των σταφυλιών και του επιδιωκόμενου ποιοτικού και οικονομικού αποτελέσματος, τα όρια της διαδικασίας

προκειμένου να είναι αποτελεσματική κυμαίνονται μεταξύ 15-30% του γλεύκους. Οι επιπτώσεις της εφαρμογής της τεχνικής στη σύσταση των οίνων είναι η ρύθμιση του όξινου χαρακτήρα τους (αύξηση του pH εξαιτίας της εκχύλισης μεγαλύτερης ποσότητας καλίου από τους φλοιούς), η αύξηση της συγκέντρωσης φαινολών, της περιεκτικότητας σε ανθοκυάνες, σε τανίνες και σε πολυσακχαρίτες χωρίς να προκαλούνται μεταβολές στην στυφάδα του τελικού προϊόντος. Εξάγεται το συμπέρασμα ότι η αφαίμαξη του γλεύκους σαν τεχνική βελτιώνει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων (όξινος χαρακτήρας, χρωστικές, δομή και όγκος) χωρίς να αυξάνει την τανικότητα (Σουφλερός, 2000).

2.2.2. Επίδραση ανακυκλώσεων και θερμοκρασίας στην εκχύλιση των φαινολικών

Σύμφωνα με την τεχνική κλασσικής ερυθρής οινοποίησης που συνήθως διενεργείται στην περιοχή της Νάουσας, γίνεται μία ανακύκλωση ημερησίως μέχρι τον διαχωρισμό των στεμφύλων κατά την 5η-7η ημέρα της ζύμωσης. Συγκριτικά με την κλασσική τεχνική (§2.1.2.), περισσότερες ανακυκλώσεις στην αρχή της παραμονής του χυμού με τα στέμφυλα ευνοούν την διαλυτοποίηση των ανθοκυανών και τη σταθεροποίησή τους. Αντίθετα, περισσότερες ανακυκλώσεις στο τέλος, σε συνδυασμό την υψηλή θερμοκρασία της σταφυλομάζας στις συνθήκες της ζύμωσης, επιτείνουν την εκχύλιση των τανινών. Η διαφορά μεταξύ των ποσοτήτων των ανθοκυανών που εκχυλίζονται στις δυο περιπτώσεις είναι αμελητέα. Όμως, οι ενώσεις που εκχυλίζονται στη δεύτερη περίπτωση (των αυξημένων ανακυκλώσεων στο τέλος) είναι λιγότερο σταθερές. Η κλασσική οινοποίηση στην περιοχή δίνει κρασιά λιγότερο πλούσια σε ανθοκυάνες από αυτά των εναλλακτικών τεχνικών και με μικρότερη περιεκτικότητα σε τανίνες και πολυσακχαρίτες. Συνεπώς, υποδεικνύεται η σκοπιμότητα οινοποίησης της ποικιλίας με πολλές ανακυκλώσεις στην αρχή ώστε να προσλαμβάνεται η μέγιστη δυνατή ποσότητα σταθερών ανθοκυανών. Ακόμη, σημειώνεται πως στα θετικά της εφαρμογής της εναλλακτικής τεχνικής αντί της παραδοσιακής προστίθενται η καλύτερη δομή τανινών, επιζητούμενη για τον Π.Ο.Π. οίνο "Νάουσα" και ένα υψηλότερο αρωματικό δυναμικό το οποίο τονίζει την τυπικότητα. Το αρνητικό της εναλλακτικής αυτής είναι πως οι παραγόμενοι οίνοι δεν χαρακτηρίζονται ως επιδεκτικοί σε παλαίωση.

Όταν οι ανακυκλώσεις γίνονται περισσότερες στο τέλος της ζύμωσης, με υψηλή θερμοκρασία, αυξάνεται η εκχύλιση τανινών των γιγάρτων και πολυσακχαριτών. Σε αυτή την περίπτωση το κρασί αποκτά πανομοιότυπες ιδιότητες με την περίπτωση των περισσότερων ανακυκλώσεων στο τέλος της ζύμωσης, όμως επιπρόσθετα αποκτά μεγαλύτερη επιδεκτικότητα παλαίωσης. Ως αρνητική απόρροια αυτής της μεθόδου, ο τανικός χαρακτήρας αποδίδει στυφή αίσθηση και επιθετικότητα στη γεύση όταν η ωριμότητα των σταφυλιών και των γιγάρτων δεν είναι ικανοποιητική.

Στην περίπτωση που η τεχνική των ανακυκλώσεων αντικατασταθεί με αυτήν της

εμβάπτισης του καπέλου (Pigeage), η διαδικασία εκχύλισης των φαινολικών συστατικών ενισχύεται, η συγκέντρωση των ανθοκυανών και τανινών αυξάνει, όπως και ο βαθμός συμπλοκοποίησης τους. Το pigeage είναι τεχνική βύθισης (εμβάπτισης) του καπέλου που χρησιμοποιείται κυρίως κατά τη διάρκεια της ερυθράς οινοποίησης. Το σύστημα που χρειάζονται οι δεξαμενές οινοποίησης ώστε να μπορεί να εκτελεστεί το pigeage αποτελείται από έμβολα που τοποθετούνται κάθετα στον πυθμένα και ασκούν πίεση στο καπέλο πιέζοντάς το μέσα στον υγρό όγκο του γλεύκους (Καπόπουλος, 2013). Η βασική επίδραση της εφαρμογής της τεχνικής στο Ξινόμαυρο είναι η μεγαλύτερη σταθερότητα του χρώματος στο χρόνο με αναίρεση του σχετικού μειονεκτήματος της τεχνικής των πολλών ανακυκλώσεων στο τέλος της ζύμωσης (Βογιατζής, 2005).

2.2.3. Επίδραση της μεταζυμωτικής εκχύλισης

Μία από τις τεχνικές με συμβολή στην ενίσχυση του φαινολικού πλούτου των οίνων της ποικιλίας και στην αύξηση του χρονικού ορίου του διαστήματος παλαίωσης είναι η μεταζυμωτική εκχύλιση. Οι διαφορετικές προσεγγίσεις που έχουν εξεταστεί αφορούν την απλή μεταζυμωτική εκχύλιση (maceration postfermentaire, παραμονή οίνου μετά το πέρας της ζύμωσης με τα στέμφυλα χωρίς ανακυκλώσεις) και τη μεταζυμωτική εκχύλιση εν θερμώ (maceration finale a chaud, παραμονή του συστήματος στεμφύλων-οίνου σε υψηλή θερμοκρασία για μικρό χρονικό διάστημα μετά τη ζύμωση), σε αντιδιαστολή με την κλασική τεχνική οινοποίησης που ακολουθείται στη ζώνη της Νάουσας. Η παρατεταμένη παραμονή των οίνων με τα στέμφυλα αυξάνει το φαινολικό τους φορτίο μέσω της αύξησης της συγκέντρωσης των τανινών και άλλων φαινολικών ουσιών. Όχι, όμως, των ανθοκυανών η συγκέντρωση των οποίων μειώνεται ή παραμένει αμετάβλητη, αναλόγως του χρόνου παραμονής. Παρόλη τη μείωση των ανθοκυανών, η μεταζυμωτική εκχύλιση βελτιώνει, έως και πολύ σημαντικά, την ένταση του χρώματος των οίνων εξαιτίας της αύξησης του δείκτη ιονισμού. Ο δείκτης ιονισμού εκφράζει το ποσοστό των ολικών ανθοκυανών που βρίσκονται στον οίνο υπό τη μορφή φλαβυλίου και είναι υπεύθυνες για το ερυθρό χρώμα του οίνου (Κουτσοδήμος, 2014). Η αύξηση της τιμής του δείκτη ιονισμού είναι μεγαλύτερη όσο αυξάνει ο χρόνος παραμονής με τα στέμφυλα (έως και 25 ημέρες μετά το πέρας της ζύμωσης). Ως προς τον τανικό χαρακτήρα των οίνων, η μεταζυμωτική εκχύλιση προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσής των τανινών και ταυτόχρονα βελτιώνει τη δομή τους (αύξηση βαθμού πολυμερισμού τους, μεγαλύτερη ποσότητα πολυσακχαριτών, μείωση στυφάδας). Ως αποτέλεσμα, οι οίνοι εμφανίζουν εντονότερο χρώμα, πλουσιότερο σώμα, δομή, διάρκεια και επιδεκτικότητα στην παλαίωση. Γενικά, η συνέχιση της εκχύλισης μετά το τέλος της ζύμωσης είναι τεχνική που έχει θετικά αποτελέσματα στον οργανοληπτικό χαρακτήρα του τελικού προϊόντος όταν εφαρμόζεται σε οίνους με προοπτική παλαίωσης. Όμως, πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψιν ο βαθμός ωριμότητας των

σταφυλιών και γιγάρτων καθώς, σε χρονιές ανεπαρκούς ωριμότητας (με πολλές βροχοπτώσεις μετά τον περκασμό), η παρατεταμένη παραμονή με τα στέμφυλα μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή οίνων με επιθετικές και στυφές τανίνες, αλλά και έντονα χορτώδη αρώματα και γεύσεις, στοιχεία που υποβαθμίζουν την οργανοληπτική ποιότητα του οίνου. Στην ίδια κατεύθυνση με την προηγούμενη περίπτωση κινείται και η επίδραση της μεταζυμωτικής εκχύλισης εν θερμώ, ως προς τη χημική σύσταση και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων οίνων. Συγκριτικά, μπορούμε να πούμε ότι οδηγεί στην παραγωγή ακόμη πλουσιότερων οίνων, με πολυπλοκότερο άρωμα και μεγαλύτερη επιδεκτικότητα σε παλαίωση. Πρέπει όμως να επισημανθεί ότι οίνοι που παράγονται με αυτή την τεχνική συχνά εμφανίζουν υψηλές περιεκτικότητες σε ουρεθάνη, συστατικό επικίνδυνο για την υγεία και με περιορισμούς ως προς την παρουσία του στους οίνους. Το γεγονός αυτό αποτελεί σημείο προβληματισμού στην εφαρμογή της τεχνικής (Βογιατζής, 2005).

2.2.4. Επίδραση του ξύλου κατά την παλαίωση και την αποζύμωση σε βαρέλι.

Η αποζύμωση του Ξινόμαυρου σε βαρέλι δεν μεταβάλλει σημαντικά τη χημική του σύσταση, συγκριτικά με την αποζύμωσή του σε δεξαμενή. Οι κύριες μεταβολές εμφανίζονται στην αυξημένη ένταση του χρώματος (έως και 25%) ως αποτέλεσμα της αύξησης της τιμής του δείκτη ιονισμού των ανθοκυανών του οίνου, αλλά κυρίως στη σημαντική αύξηση του ποσοστού των τανινών που είναι συνδεδεμένες με πολυσακχαρίτες. Τα στοιχεία αυτά αντανακλώνονται άμεσα στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων καθώς εμφανίζονται πιο σκουρόχρωμοι, με πλουσιότερη δομή, όγκο, λιπαρότητα και πολυπλοκότητα αρώματος και γεύσης. Ακόμη, προσθέτουν στην ποιότητα και των οίνων που δεν προορίζονται για παλαίωση. Αναφορικά με την επίδραση του τύπου δρυός στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του Ξινόμαυρου, πειραματισμοί που έχουν διενεργηθεί αφορούσαν τη μελέτη βαρελιών γαλλικής δρυός διαφορετικού πορώδους, τεχνικής ξήρανσης (φυσική ή τεχνητή ξήρανση) και καψίματος (ελαφρύ, μέτριο και δυνατό κάψιμο). Οργανοληπτικά ο οίνος που ωρίμασε σε βαρέλι μεγάλου πορώδους χαρακτηρίστηκε από αρωματική αρμονία και “μαλακές” τανίνες, σε αντίθεση με τον αντίστοιχο παλαιωμένο σε βαρέλι μικρού πορώδους που έδωσε πιο “σκληρές” τανίνες και ασθενέστερο άρωμα. Τα βέλτιστα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά προήλθαν από παλαίωση σε βαρέλι με μέτριο κάψιμο αντί ελαφρύ ή δυνατό όπως επίσης και από φυσική ξήρανση έναντι της τεχνητής (Βογιατζής, 2005).

Πειραματικό μέρος

1. Στόχος και πειραματικός σχεδιασμός

Το κύριο αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής στο εργαστηριακό τμήμα αφορά την μελέτη των φαινολικών συστατικών των τμημάτων του σταφυλιού, των γλευκών, των φρέσκων και των παλαιωμένων οίνων που προέρχονται από τα τρία διαφορετικά αμπελοτόπια. Στόχος είναι να διερευνηθούν τα αποτελέσματα ώστε να ελεγχθεί εάν και κατά πόσο παρουσιάζονται διαφορές στη σύσταση των σταφυλιών και των παραγόμενων οίνων. Ακόμη, ιδανικά, να εξαχθούν συμπεράσματα για τη σύνδεση των διαφορών στα χαρακτηριστικά των αμπελώνων με τις διαφορές στη σύσταση των προϊόντων τους. Συγκεκριμένα, μας απασχόλησε η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε ολικές φαινόλες, η ποιοτική και ποσοτική ταυτοποίηση του ανθοκυανικού τους περιεχομένου, ο ποσοτικός προσδιορισμός των τανινών των γιγάρτων και των λιπαρών τους. Για την επίτευξη αυτών των στόχων αρχικά σχεδιάστηκε να γίνει παραλαβή των φαινολικών συστατικών από όλα τα τμήματα σταφυλιού. Η εκχύλιση των φαινολικών συστατικών των σταφυλιών στο γλεύκος είναι βασική διεργασία για την ερυθρή οινοποίηση, όπως έχει ήδη αναφερθεί, και πάντα επιδιώκεται η μέγιστη εκχύλισή τους. Σημαντικό δε, είναι να υπολογιστεί για την ποικιλία που μελετάται το πόσο και πώς συνεισφέρει το κάθε μέρος της ράγας στο τελικό φαινολικό περιεχόμενο του οίνου. Συνεπώς, είναι απαραίτητος ο διαχωρισμός των τμημάτων της ράγας και κατ'επέκτασιν η ξεχωριστή εκχύλιση από κάθε τμήμα.

Κατόπιν αυτής της διαδικασίας, τα εκχυλίσματα των επί μέρους τμημάτων, το γλεύκος, οι φρέσκοι και παλαιωμένοι οίνοι αναλύθηκαν με την μέθοδο Folin-Ciocalteu για τον προσδιορισμό του ολικού φαινολικού περιεχομένου τους αλλά και προσδιορίστηκαν φωτομετρικά τα βασικά επί μέρους φαινολικά συστατικά τους (ανθοκυάνες, φλαβόνες/φλαβονόλες, τρυγικοί εστέρες). Επιπλέον, στα δείγματα φλοιών, σάρκας, γλεύκους και οίνων έγινε ανάλυση HPLC με στόχο την ταυτοποίηση των επί μέρους ανθοκυανών και φλαβονών και την ποσοτικοποίηση αυτών. Για να είναι δυνατή η συσχέτιση των ανθοκυανών με το χρώμα του οίνου, οι φρέσκοι και παλαιωμένοι οίνοι υπέστησαν χρωματομέτρηση. Όσον αφορά τα γίγαρτα, ο προσδιορισμός του ποσοστού των ελαιούχων ουσιών που περιέχουν έγινε με την μέθοδο της απόσπασής τους από τα γίγαρτα (απολίπανσης) με χρήση υπερήχων, ενώ ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των τανινών έγινε με χρήση της μεθόδου BSA.

2. Πρώτες ύλες

Επιλέχθηκαν τυχαίας δειγματοληψίας σταφύλια, γλεύκος, φρέσκος και παλαιωμένος οίνος τριών διαφορετικών αμπελοτοπιών της ποικιλίας Ξινόμαυρο από την αμπελουργική ζώνη της Νάουσας. Συγκεκριμένα, πρόκειται για σταφύλια της εσοδείας 2017 από αμπελώνες τριών διαφορετικών καλλιεργητών: (Α), (Β) και (Γ), οι οποίοι συνεργάζονται με την Μπουτάρη Οινοποιητική, όπου και οινοποιήθηκαν. Τα αμπελουργικά χαρακτηριστικά των αμπελοτοπιών παρουσιάζονται στον Πίνακα 2 όπως παραλήφθηκαν από τον γεωπόνο της εταιρείας.

Χαρακτηριστικά σχεδίασης, διαχείρισης και τοπογραφίας	(Α)	(Β)	(Γ)
Σχεδίαση			
Έτος εγκατάστασης	1977	1980	1979
Αποστάσεις φύτευσης (m)	2.5x1.5	2.3x1.5	2.3x1.5
Υποκείμενο	110 Richter	110 Richter	110 Richter
Διεύθυνση γραμμών	NA	BA	NA
Σύστημα διαμόρφωσης	Royat, αμφίπλευρο	Royat, αμφίπλευρο	Royat, αμφίπλευρο
Τοπογραφία			
Υψόμετρο (m)	180	123	140
Κλίση (%)	5	3	4
Προσανατολισμός	NA	BA	NA
Διαχείριση			
Καλλιέργεια εδάφους	Μηχανική κατεργασία	Μηχανική κατεργασία	Μηχανική κατεργασία
Λίπανση	Ανόργανη	Ανόργανη	Ανόργανη
Ενσωμάτωση κληματίδων	Ναι	Όχι	Όχι
Κλάδεμα (τύπος, οφθαλμοί/φυτό)	Βραχύ, 12-14	Βραχύ, 12-15	Βραχύ, 10-12
Έδαφος (μέσες τιμές κατατομής)			
Μηχανική σύσταση	Βαριά	Μέση	Βαριά
pH	7.2	7,1	7.0
Ανθρακικό ασβέστιο (% ολικό)	<10	<10	<10
Οργανική ουσία (%)	1,9	2,0	1,3
Βάθος ριζικού συστήματος (m)	0,5-0,8	0.5-0.9	0.5-0.9

Πίνακας 2 : Αμπελουργικά χαρακτηριστικά των τριών αμπελοτοπιών από τα οποία παράγονται τα προς ανάλυση σταφύλια

Για τους φρέσκους οίνους χρησιμοποιήθηκε πανομοιότυπο πρωτόκολλο οινοποίησης σε διαφορετικές (ανοιχτές) δεξαμενές για τις ανάγκες της αντιπροσωπευτικής δειγματοληψίας. Οι παλαιωμένοι οίνοι προέρχονται από την εσοδεία του 2016 και έχουν παραμείνει σε δρύινα βαρέλια για διάστημα 12 μηνών μετά το πέρας της οινοποίησής τους. Πιο λεπτομερώς, παραλήφθηκαν :

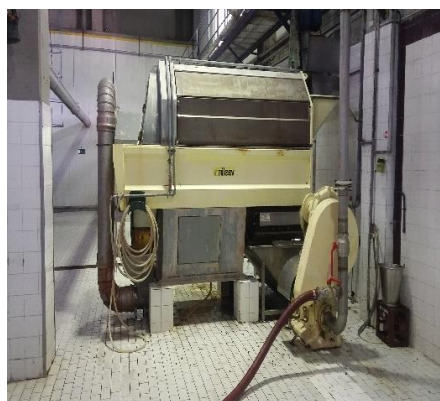
- Σταφύλια διπλής δειγματοληψίας από κάθε αμπελοτόπι, με παραλαβή και διαχωρισμό των επί μέρους τμημάτων της ράγας αυθημερόν του τρύγου (Α: 21/9/2017, Β: 21/9/2017, Γ: 22/9/2017).
- Γλεύκος τριπλής δειγματοληψίας για καθένα από τα τρία δείγματα (Α, Β, Γ), παραλαβή όλων των δειγμάτων σε διάστημα δύο ωρών κατόπιν της προσθήκης του διαλύματος θειικών και πηκτινολυτικού ενζύμου.
- Γλεύκος τριπλής δειγματοληψίας, παραλαβή από τα δείγματα (Β) προ της προσθήκης του διαλύματος θειικών και πηκτινολυτικού ενζύμου (απευθείας κατόπιν της έκθλιψης).
- Φρέσκος οίνος δεξαμενής, διπλής δειγματοληψίας για όλα τα δείγματα, παραλαβή κατόπιν αλκοολικής και μηλογαλακτικής ζύμωσης και προ της εισαγωγής σε βαρέλια. Οι διαδικασίες που μεσολάβησαν μεταξύ της παραλαβής του γλεύκους και του οίνου θα παρουσιαστούν αναλυτικά παρακάτω.
- Παλαιωμένος οίνος διπλής δειγματοληψίας για τα δείγματα (Α) και (Γ).

Η μεταχείριση κάθε κατηγορίας δείγματος μετά την παραλαβή του, με στόχο την προετοιμασία του για τις αναλύσεις, ακολούθησε την εξής διαδικασία :

- Δείγματα σταφυλιού: άμεσος διαχωρισμός του φλοιού. Οι συλλεγόμενοι φλοιοί ζυγίστηκαν σε ζυγό ακριβείας προκειμένου να συγκεντρωθεί η απαραίτητη για τη μελέτη ποσότητα. Οι ποσότητες φλοιού και σάρκας τοποθετήθηκαν σε ξεχωριστά δοχεία μίας χρήσης (Sanitas) και στην συνέχεια καταψύχθηκαν.
- Δείγματα γλεύκους: τοποθετήθηκαν σε αποστειρωμένους συλλέκτες και στη συνέχεια καταψύχθηκαν.
- Δείγματα φρέσκου οίνου: τοποθετήθηκαν σε γυάλινες φιάλες οι οποίες πωματίστηκαν με φυσικό φελλό και παρέμειναν για ένα διάστημα επτά μηνών σε θερμοκρασία περιβάλλοντος προφυλαγμένες από φωτεινή ακτινοβολία κάθε είδους. Μετά το άνοιγμα των φιαλών, μεταφέρθηκαν σε αποστειρωμένους συλλέκτες και καταψύχθηκαν.
- Δείγματα παλαιωμένου οίνου: τοποθετήθηκαν σε γυάλινες φιάλες στις οποίες τοποθετήθηκε φυσικός φελλός και παρέμειναν για ένα διάστημα δώδεκα μηνών σε θερμοκρασία περιβάλλοντος προφυλαγμένες από φωτεινή ακτινοβολία κάθε είδους. Μετά το άνοιγμα των φιαλών, μεταφέρθηκαν σε αποστειρωμένους συλλέκτες και καταψύχθηκαν για τις ανάγκες των αναλύσεων.

Το πρωτόκολλο οινοποίησης περιλάμβανε για κάθε δείγμα νέου και παλαιωμένου οίνου οινοποίηση σε ανοιχτές δεξαμενές ως εξής (Πρωτόκολλο πειραματικής οινοποίησης, όπως παραλήφθηκε από τον υπεύθυνο γεωπόνο του οινοποιείου):

- I. Τρεις επαναλήψεις ανά παρτίδα, 1.500 kg ανά επανάληψη
- II. Απορραγισμός και έκθλιψη με προσθήκη:
 - i. Sulfosol (Θειικό αμμώνιο) 120 mL/t
 - ii. Derpectil Extra Garde (Πηκτινολυτικό ένζυμο για την εκχύλιση χρωστικών και αρωματικών) 40 g/t
- III. Εμβολιασμός την επόμενη:
 - i. Ζύμη Vin 13 150g /t
 - ii. DAP (φωσφορικό διαμμώνιο) 200 g/t
- IV. Αερισμός σε πλήρη όγκο τη δεύτερη ημέρα από την έναρξη της ζύμωσης
- V. Ανακυκλώσεις ενός όγκου μέχρι μάζας 1050 kg. Στην συνέχεια και μέχρι 1.030 kg (¼ όγκου της σταφυλομάζας).
- VI. Από 1.020 kg και έπειτα απλές διαβροχές του καπέλου.
- VII. Στο μέσον της ζύμωσης (1.050 kg) προσθήκη Actiferm MVR (Σύνθετο θρεπτικό) 200 g/t
- VIII. Διαχωρισμός οίνου από τα στέμφυλα με το πέρας της ζύμωσης. Από κάθε παρτίδα 225 L σε δρύινο βαρέλι.
- IX. Μηλογαλακτική ζύμωση
- X. Προσθήκη Baktol (Μεταδιθειώδες κάλιο) 80 g/t. Αυτή η ποσότητα αντιστοιχεί περίπου σε 40 mg/L SO₂.



Εικόνα 2 :Η παραλαβή σταφυλιών στο οινοποιείο Μπουτάρη, Εικόνα 3 & Εικόνα 4 : ο αποδοσχυρωτής του οινοποιείου, Εικόνα 5 & Εικόνα 6: Οι δεξαμενές οινοποίησης των πειραματικών οίνων

3. Αντιδραστήρια

- Μεθανόλη (Analytical reagent grade, Fisher Scientific)
- Οξικό οξύ (Panreac quimica sau)
- Οξικό νάτριο (Panreac)
- Αιθανόλη (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)
- Γαλλικό οξύ (98% w/w, Aros Organics, Fair Lawn, New Jersey)
- Αντιδραστήριο Folin (Merck, Darmstadt, Germany)
- Ανθρακικό νάτριο (Mallinckrodt, St.Louis, Missouri)
- Νερό και ακετονιτρίλιο ποιότητας HPLC και βαθμού MS (Fisher Chemical Leicestershire, UK)
- n-Πεντάνιο (n-Pentane, CARLO ERBA)
- Διαιθυλαιθέρας (Diethylether >99.5%, FERAK)
- Θεικό νάτριο (Sodium Sulfate, anh. a.r, Chem-Lab NV)
- Φορμικό Οξύ (98-100% Merck)
- Εξάνιο (Analytical reagent grade, Fisher Scientific)
- Αλβουμίνη από ορό αβγού (Bovine Serum Albumin, BSA Biochemica, fraction V_≥96%(GE), Fluka Analytical, Sigma)
- Καυστικό Νάτριο (0,1mol/l, Panreac)

4. Συσκευές- όργανα

- Εργαστηριακό Blender, Waring Commercial
- Φυγόκεντρος Thermo Scientific, Heraeus Megafuge 16R Centrifuge
- Περιστροφικός εξατμιστήρας κενού, Heidolph Hei-VAP Value Digital Rotary Evaporators με ενσωματωμένο υδρόλουτρο
- Λουτρό υπερήχων Sonication: Elma, S30H Elmasonic
- HPLC, HP 1100 με αντλία βαθμωτής έκλουσης, Agilent Technologies, Santa Clara, California
- Λογισμικό ChemStation for LC 3D software, Agilent Technologies, 1999-2000, Waldbrook, Germany
- Αέριος χρωματογράφος συνδεδεμένος με φασματοόμετρο μάζας, Hewlett-Packard 6890 Agilent Technologies 5975C VL MSD
- ARE Heating Magnetic Stirrer VELP. SCIENTIFICA
- Φασματοφωτόμετρο, U-2900 UV/VIS Spectrophotometer 200V Hitachi High Technologies Corporation Tokyo Japan
- Φούρνος, Binder, Germany
- Αναλυτικός ζυγός, precisa, XT220A, UK
- Λουτρό υπερήχων (Sonication), Elma, S30H Elmasonic
- LC-MS: Varian 500 MS Ion Trap Spectrometer, Varian
- Vortex tube mixer, Vaktro ZX3
- Υδατόλουτρο



Εικόνα 7 & Εικόνα 8: Η εξωτερική και εσωτερική όψη του φωτόμετρου

5. Τεχνικές

5.1. Παραλαβή συστατικών από τα τμήματα του σταφυλιού

5.1.1. Διαχωρισμός μερών της ράγας

Όπως αναφέρθηκε στον πειραματικό σχεδιασμό, ήταν απαραίτητος ο άμεσος διαχωρισμός του φλοιού από τη σάρκα και τα γιγάρτα. Ο λόγος ήταν για να αποφευχθεί η μεταφορά φαινολών από τον φλοιό στη σάρκα. Η διαδικασία του διαχωρισμού απαιτούσε τομή κάθε ράγας κατά μήκος της μεγαλύτερης διάστασης ώστε με τη βοήθεια σπάτουλας με κοίλη άκρη να διαχωριστεί από τον φλοιό η μάζα σάρκας- γιγάρτων (Εικόνες 9 & 10).

Για τον διαχωρισμό της σάρκας από τα γιγάρτα ακολουθήθηκε χειρωνακτική εργασία με τη χρήση λεπίδας και τσιμπίδας. Ζυγίζονται 40 g δείγματος σάρκας- γιγάρτων. Με τη λεπίδα γίνεται τομή στη σάρκα και με την τσιμπίδα αφαιρούνται τα γιγάρτα ένα προς ένα. Τα

γίγαρτα τοποθετούνται σε διηθητικό χαρτί για την απομάκρυνση της πλεονάζουσας υγρασίας και κατόπιν ζυγίζεται ποσότητά τους. Σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι για την διευκόλυνση και την ακρίβεια της διαδικασίας, ο συγκεκριμένος διαχωρισμός γίνεται σε παγωμένο δείγμα και πάνω από μεταλλική σίτα κάτω από την οποία συλλέγεται το τυχόν υγροποιημένο δείγμα σάρκας σε ποτήρι ζέσεως.



Εικόνα 9 & Εικόνα 10 : Στάδια διαδικασίας διαχωρισμού των τμημάτων της ράγας



Εικόνα 11: Γίγαρτα μετά την απομάκρυνσή τους από τη μάζα της σάρκας

5.1.2. Εκχύλιση φαινολικών από τους φλοιούς

Μετά την απόψυξη των φλοιών (50 g/δείγμα), ζυγίζεται ποσότητα 5 g. Για την εκχύλιση χρησιμοποιείται οξινησμένη μεθανόλη με 1% φορμικό οξύ, καθώς η μεθανόλη αποτελεί πολύ καλό διαλύτη των φαινολικών συστατικών (Karasakalidis et al., 2006), η δε οξίνιση παρεμποδίζει τις οξειδώσεις των ανθοκυανών. Όσον αφορά στη χρήση φορμικού οξέος,

προτιμάται σε σχέση με ισχυρά οξέα όπως το υδροχλωρικό καθώς δεν επιτρέπει τη μετατροπή των τρυγικών αλάτων σε ελεύθερο τρυγικό οξύ, το οποίο είναι διαλυτό στη μεθανόλη και θα συνεκχυλιζόταν (Downey et al., 2007). Το δείγμα τοποθετείται στο εργαστηριακό Blender (Waring Commercial) μαζί με 25 mL MeOH 1% HCOOH, για 1.5 min στην επιλογή Hi (High) για διάσπαση των ινών του φλοιού και επομένως καλύτερη εκχύλιση των φαινολικών συστατικών. Μετά τη διάσπαση το δείγμα αποχύνεται σε σωλήνα φυγοκέντρου και μετά από σταδιακές εκπλύσεις του δοχείου του Blender με άλλα 25 mL οξινισμένης μεθανόλης, τα συνολικά 50 mL φυγοκεντρώνται (φυγόκεντρος Thermo Scientific, Heraeus Megafuge 16R Centrifuge) στις 10.000 rpm για 10 min. Μετά τη φυγοκέντρηση γίνεται απόχυση του εκχυλίσματος σε σφαιρική φιάλη των 500 mL. Η παραπάνω διαδικασία επαναλαμβάνεται εις τριπλούν, δηλαδή, στον ίδιο σωλήνα φυγοκέντρου από τον οποίο αφαιρέθηκε το εκχύλισμα και έμεινε το ίζημα προστίθενται άλλα 50 mL οξινισμένης μεθανόλης και επαναλαμβάνεται με ίδιες ρυθμίσεις η φυγοκέντρηση. Οι οργανικές φάσεις και των τριών επαναλήψεων συλλέγονται στην ίδια σφαιρική φιάλη των 500 mL και συμπυκνώνονται μέχρι όγκου περίπου 70 mL με την χρήση του περιστροφικού εξατμιστήρα κενού (Heidolph Hei-VAP Value Digital Rotary Evaporators με ενσωματωμένο υδρόλουτρο). Το συμπύκνωμα μεταφέρεται με διήθηση σε ογκομετρική φιάλη 100 mL και πληρώνεται μέχρι τη χαραγή με διάλυμα οξινισμένης μεθανόλης. Τα δείγματα φυλάσσονται σε κατάψυξη (-18 °C) μέχρι την περαιτέρω ανάλυση τους.

5.1.3. Εκχύλιση φαινολικών από τη σάρκα

Η καθαρή, πλέον, από γίγαρτα ποσότητα σάρκας (§5.1.1.) τοποθετείται στο Blender για 1.5 min στην επιλογή Hi (High). Ο χυμός της σάρκας του σταφυλιού που προκύπτει τοποθετείται σε σωλήνα φυγοκέντρου και φυγοκεντρείται στα 10.000 rpm για 10 min. Στη συνέχεια παραλαμβάνεται το υπερκείμενο υγρό, με διήθηση ογκομετρείται (συνήθως τελική ποσότητα περί των 25 mL) και φυλάσσεται σε κατάψυξη (-18 °C) μέχρι την περαιτέρω ανάλυση του. Μετά από δοκιμές παρατηρήθηκε ότι τα δείγματα έχριζαν επιπλέον φιλτραρίσματος πριν την ανάλυσή τους καθώς εμφανίστηκαν στερεά σωματίδια. Χρησιμοποιήθηκαν φίλτρα CHROMAFIL XTRA με διάμετρο πόρων 0,45 μm. Στην Εικόνα 13 φαίνεται ένα φίλτρο μετά την χρήση του για ποσότητα διαλύματος 10 mL.



Εικόνα 12: Φιαλίδια φυγοκέντρου με το εκχύλισμα σάρκας και το ισοβάρες του νερό

Εικόνα 13 : Φίλτρο Chromafil Xtra, 0.45 mm

5.1.4. Απομάκρυνση λιπιδίων, εκχύλιση φαινολικών και καταβύθιση τανινών από τα γίγαρτα

Η ύπαρξη των λιπιδίων των γιγάρτων είναι ανεπιθύμητη, καθώς το γιγαρτέλαιο μπορεί να παρεμποδίσει την εκχύλιση των φαινολικών συστατικών και έτσι κρίθηκε απαραίτητη η απομάκρυνση αυτών των λιπιδίων. Ακολουθεί η εκχύλιση των φαινολικών συστατικών από τα απολιπασμένα γίγαρτα για να παραληφθεί δείγμα στο οποίο θα προσδιοριστεί ποσοτικά το ολικό φαινολικό περιεχόμενό του. Τέλος, γίνεται καταβύθιση των τανινών των γιγάρτων για να προσδιοριστούν κι αυτές ποσοτικά.

5.1.4.1. Απομάκρυνση λιπιδίων

Προκειμένου να ελευθερωθούν τα έλαιά τους, τα γίγαρτα κονιοποιούνται σε γουδί, ζυγίζεται 1 g δείγματος μέσα σε λεπτό σωλήνα φυγοκέντρου και προστίθενται 5 mL εξανίου στο οποίο θα γίνει η εκχύλιση των ελαίων. Το μείγμα δείγματος-εξανίου τοποθετείται σε λουτρό υπερήχων (Sonication: Elma, S30H Elmasonic) για 10 min για ταχύτερη και αποτελεσματικότερη απολίπανση. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται εις τριπλούν και η απόχυση των διαλυμάτων λιπιδίων γίνεται στο ίδιο προζυγισμένο γυάλινο vial των 20 mL. Το vial αφήνεται σε απαγωγό για φυσική εξάτμιση του εξανίου και μετά την παραμονή του ως έχει για μία εβδομάδα γίνεται ζύγιση του εναπομείναντος ελαίου. Το στερεό υπόλειμμα γιγάρτων παραμένει στον σωλήνα φυγοκέντρου για να ακολουθήσει η διαδικασία της εκχύλισης των φαινολικών συστατικών.

5.1.4.2. Εκχύλιση φαινολικών

Στο σωλήνα με το στερεό υπόλειμμα των γιγάρτων προστίθενται 10 mL οξινισμένης μεθανόλης και τοποθετείται στο λουτρό υπερήχων για 10 min. Στην συνέχεια τοποθετείται στην φυγόκεντρο στα 5.000 rpm για 5 min. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται τέσσερις φορές ενώ τα εκχυλίσματα αποχύνονται σε κοινή σφαιρική φιάλη των 100 mL. Στη συνέχεια γίνεται συμπύκνωση των εκχυλισμάτων μέχρι όγκου περίπου 15 mL με την χρήση του περιστροφικού εξατμιστήρα κενού. Το συμπύκνωμα μεταφέρεται με διήθηση σε ογκομετρική φιάλη 25 mL και πληρώνεται μέχρι τη χαραγή με διάλυμα οξινισμένης μεθανόλης. Τα δείγματα φυλάσσονται σε κατάψυξη (-18 °C) μέχρι την περαιτέρω ανάλυση τους.

5.1.4.3. Καταβύθιση τανινών

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε βασίζεται στην προτεινόμενη μέθοδο του Bulter (1981) με χρήση αλβουμίνης. Η αλβουμίνη είναι μια πρωτεΐνη που χρησιμοποιείται στην οινοποιία για την καταβύθιση των τανινών (Smith, 2005), από την οποία παίρνει και το όνομά της η μέθοδος, Bovine serum albumin (BSA). Παρασκευάστηκε και χρησιμοποιήθηκε ρυθμιστικό διάλυμα οξικού οξέος-οξικού νατρίου 0,2 M με pH=4,9 με συγκέντρωση BSA 30 g/L, λόγω της υψηλής συγκέντρωσης του εκχυλίσματος σε τανίνες. Αναμειγνύονται 10 mL εκχυλίσματος με 15 mL του διαλύματος BSA σε σωλήνα φυγοκέντρου. Μετά την παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου για 15 min ακολουθεί φυγοκέντρωση στις 10.000 rpm για 10 min. Το υπερκείμενο υγρό παραλαμβάνεται και φυλάσσεται σε κατάψυξη (-18 °C) μέχρι την περαιτέρω ανάλυση του. Επισημαίνεται ότι τόσο η περιεκτικότητα του διαλύματος BSA όσο και ο χρησιμοποιούμενος όγκος του επελέγησαν ώστε η πρωτεΐνη να έχει τουλάχιστον το διπλάσιο βάρος σε σχέση με τις αναμενόμενες προς απομάκρυνση τανίνες (Llobera, 2007). Η παραπάνω αναλογία εξασφαλίζει σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία τη βέλτιστη απομάκρυνση των τανινών (Llaudy et al., 2004).

5.2. Προσδιορισμός ξηρού βάρους φλοιών, σάρκας και εκχυλισμάτων αυτών

Προκειμένου να υπάρχει η δυνατότητα αναγωγής των μετρούμενων περιεκτικότητων των διαλυμάτων στις διάφορες ουσίες, σε περιεκτικότητες των ξηρών μαζών από τις οποίες τα διαλύματα προκύπτουν, είναι απαραίτητη η ακριβής γνώση των επιμέρους ξηρών μαζών.

Για τον προσδιορισμό του ξηρού βάρους των εκχυλισμάτων τοποθετούνται 50 mL εκχυλίσματος σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη των 100 mL και συμπυκνώνονται στον περιστροφικό εξατμιστήρα κενού στους 35°C και στις 150 rpm μέχρι αυξημένου ιξώδους υγρού. Στη συνέχεια η σφαιρική φιάλη τοποθετείται στον φούρνο (στους 100°C) για 24 h,

μετά το πέρας των οποίων ζυγίζεται και προσδιορίζεται το ξηρό βάρος μέσω της διαφοράς αυτής της ζύγισης και του βάρους της ίδιας προζυγισμένης σφαιρικής φιάλης.

Για το ξηρό βάρος των φλοιών και των σαρκών παραλαμβάνεται δείγμα 1 g και 5 g αντίστοιχα σε προζυγισμένα φιαλίδια. Τα φιαλίδια αφήνονται να ξηραθούν στον φούρνο στους 100°C για 24 h. Στη συνέχεια ζυγίζονται και η διαφορά της τελικής μάζας των φιαλιδίων από τα προζυγισμένα αποτελεί την μάζα των ξηρών φλοιών και ξηρής σάρκας αντίστοιχα.

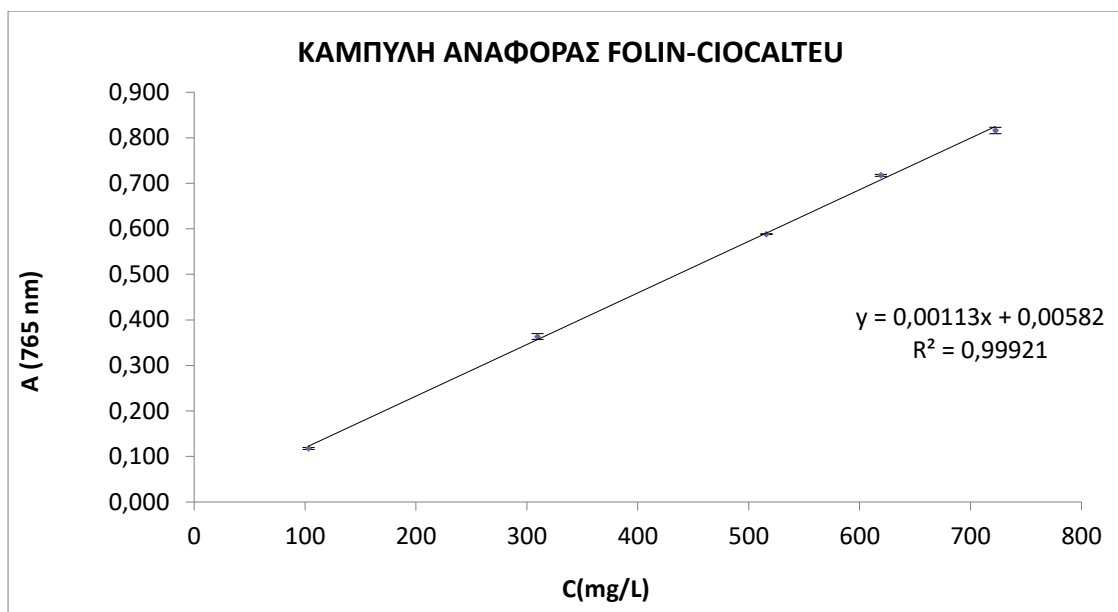
5.3. Μέθοδος Folin Ciocalteu - Μέτρηση ολικού φαινολικού φορτίου (TP)

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu (FCR), η οποία πήρε το όνομά της μετά τους Otto Folin, Vintilă Ciocâlțeu και Willey Glover Denis, βασίζεται στην οξείδωση των φαινολών σε αλκαλικό περιβάλλον, με μίγμα φωσφοροβολφραμικού και φωσφορομολυβδαινικού οξέος (αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu). Η οξείδωση προκαλεί μία αλλαγή χρώματος από κίτρινο σε μπλε, που μπορεί να ανιχνευθεί εύκολα με φασματοφωτόμετρο. Το αντιδραστήριο δεν μετρά μόνο φαινόλες, αλλά αντιδρά με οποιαδήποτε αναγωγική ουσία. Την ίδια αντίδραση δίνουν και άλλα συστατικά, όπως τα ανάγοντα σάκχαρα και τα νουκλειϊκά οξέα.

Ως εκ τούτου, μετράει τη συνολική αναγωγική ικανότητα ενός δείγματος, όχι μόνο των φαινολικών ενώσεων. Κατά την εφαρμογή της μεθόδου σε ξηρούς οίνους δεν δημιουργείται πρόβλημα, αφού η περιεκτικότητα σε ανάγοντα σάκχαρα είναι χαμηλότερη της τάξης των 20 mg/L, οπότε η συνεισφορά τους στην τιμή της μέτρησης μπορεί να θεωρηθεί αμελητέα (Waterhouse, 2005).

Σύμφωνα με τη μέθοδο, προστίθενται σε δοκιμαστικό σωλήνα 7.9 mL απιονισμένο νερό, 100 μL δείγμα κατάλληλα αραιωμένο (ή πρότυπο), και 500 μL αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu και ακολουθεί ανάδευση σε vortex. Το διάλυμα αφήνεται σε ηρεμία 30 s - 8 min και εν συνεχεία προστίθενται 1.5 mL κορεσμένου διαλύματος Na_2CO_3 . Ακολουθεί ανάδευση και πάλι σε vortex και το δείγμα αφήνεται σε ηρεμία είτε για 2 h στους 20 °C σε σκοτάδι, είτε για 30 min σε υδατόλουτρο στους 40 °C.

Ακολουθεί φωτομέτρηση του δείγματος σε γυάλινη κυψελίδα πάχους 1 cm, σε φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης στα 765 nm με τυφλό, αντιστοίχως παρασκευασμένο δείγμα όπου στη θέση των 100 μL δείγματος, τοποθετούμε 100 μL απιονισμένο νερό. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος (mg GAE/L), που προκύπτουν από αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς που παρασκευάστηκε με συγκεντρώσεις 0-500 mg γαλλικού οξέος/L σε απιονισμένο νερό.



Διάγραμμα 1: Καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος για τη μέθοδο Folin Ciocalteu

Για την παρασκευή του κορεσμένου διαλύματος Na_2CO_3 αναμιγνύονται 200 g άνυδρου Na_2CO_3 με 800 mL απιονισμένο νερό σε ποτήρι ζέσεως. Το διάλυμα θερμαίνεται μέχρι βρασμού υπό ανάδευση και εν συνεχεία αφήνεται να ψυχθεί. Προστίθενται μερικοί κρύσταλλοι ένυδρου Na_2CO_3 και το διάλυμα αφήνεται σε ηρεμία για 24 h. Ακολουθεί διήθηση με ταυτόχρονη μεταφορά του διαλύματος σε ογκομετρική φιάλη 1 L η οποία συμπληρώνεται με απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραγή.

5.4. Ποσοτικός προσδιορισμός επιμέρους ομάδων φαινολικών συστατικών με φασματοφωτομετρική μέθοδο

Οι ολικές ανθοκυάνες, οι φλαβόνες και οι τρυγικοί εστέρες προσδιορίστηκαν με φασματομετρία UV-VIS, έπειτα από ρύθμιση του pH, στα αντίστοιχα μέγιστα απορρόφησης των χαρακτηριστικών ομάδων (Cliff et al., 2006). Σύμφωνα με τη μέθοδο, προστίθενται 250 μL κατάλληλα αραιωμένου δείγματος σε 250 μL διαλύματος 0.1% HCl σε 95% EtOH. Ακολουθεί προσθήκη 4.55 mL υδατικού διαλύματος HCl 2%. Παρασκευάζεται, επίσης, τυφλό δείγμα με προσθήκη 250 μL υδατικού διαλύματος 12.5% αιθανόλης αντί δείγματος. Το δείγμα αφήνεται για 15 min, ώστε να έρθει το pH σε ισορροπία, και φωτομετρείται στα μέγιστα απορρόφησης της κάθε χαρακτηριστικής ομάδας. Οι ανθοκυάνες έχουν μέγιστο απορρόφησης τα 520 nm και εκφράζονται ως ισοδύναμα 3-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης (mν-3-glc, mg/L), που προκύπτουν από την καμπύλη αναφοράς, η χάραξη της οποίας γίνεται με διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων (25 - 50 - 100 - 150 - 200 mg/L Mν-3-glc). Οι φλαβόνες έχουν μέγιστο απορρόφησης τα 360 nm και εκφράζονται ως ισοδύναμα κερκετίνης (quercetin, mg/L), με καμπύλη αναφοράς διαλυμάτων γνωστών συγκεντρώσεων (50 - 100 - 150 - 200 - 250 mg/L quercetin). Οι τρυγικοί εστέρες έχουν μέγιστο απορρόφησης τα 320 nm

και εκφράζονται ως ισοδύναμα καφεϊκού οξέος (caffeic acid, mg/L) με καμπύλη αναφοράς διαλυμάτων γνωστών συγκεντρώσεων (10 - 20 - 40 - 60 - 80 - 100 mg/L caffeic acid).

Η καμπύλη αναφοράς του 3-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης έχει εξίσωση $ABS = 0.0013 \cdot C - 0.0078$ και $R^2 = 0.9998$ και ακρίβεια για απορροφήσεις από 0.025 έως 0.270. Η καμπύλη αναφοράς της κερκετίνης έχει εξίσωση $ABS = 0.003 \cdot C + 0.0147$ και $R^2 = 0.9985$ και ακρίβεια για απορροφήσεις από 0.150 έως 0.750. Η καμπύλη αναφοράς του καφεϊκού οξέος έχει εξίσωση $ABS = 0.0047 \cdot C - 0.0003$ και $R^2 = 0.9999$ και ακρίβεια για απορροφήσεις από 0.050 έως 0.500.

5.5. Ανάλυση φαινολικών συστατικών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)

Ο χαρακτηρισμός του φαινολικού προφίλ των κόκκινων κρασιών, των μούστων και των εκχυλισμάτων των μερών της ράγας έγινε με τη μέθοδο υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης HPLC (HP 1100, Agilent Technologies, Santa Clara, California) σε σύνδεση με συστοιχία φωτοδιόδων (DAD) και φασματόμετρο μάζας (ESI-MS/MS). Η στήλη χρωματογραφίας που επιλέχθηκε ήταν η Hypersil C18 (ODS 5 μ m, 250x4.6 mm, MZ Analysentechnik, Mainz, Germany). Τα δείγματα κρασιού εγχύονταν έπειτα από φιλτράρισμα με φίλτρο χρωματογραφίας (0.2 μ m, PVDF syringe filters, Teknokroma, Barcelona, Spain). Ο όγκος του εγχυόμενου δείγματος ήταν 20 μ L. Το σύστημα των διαλυτών έκλουσης ήταν νερό/ακετονιτρίλιο/μυρμιγκικό οξύ (87/3/10 (v/v/v) διαλύτης A, (40/50/10 (v/v/v) διαλύτης B) και η ροή ρυθμίστηκε σε 0.4 mL/min. Το προφίλ της βαθμωτής έκλουσης του διαλύτη B είχε ως εξής: 6% στα 0 min, 30% στα 21.5 min, 50% στα 42 min, 60% στα 50 min. Όσον αφορά την ποσοτικοποίηση στον ανιχνευτή συστοιχίας φωτοδιόδων έγινε για τις ανθοκυάνες στα 520 nm σε ισοδύναμα 3-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης, για τις φλαβόνες στα 360 nm σε ισοδύναμα κερκετίνης, και για τα φαινολικά οξέα στα 320 nm σε ισοδύναμα καφεϊκού οξέος.

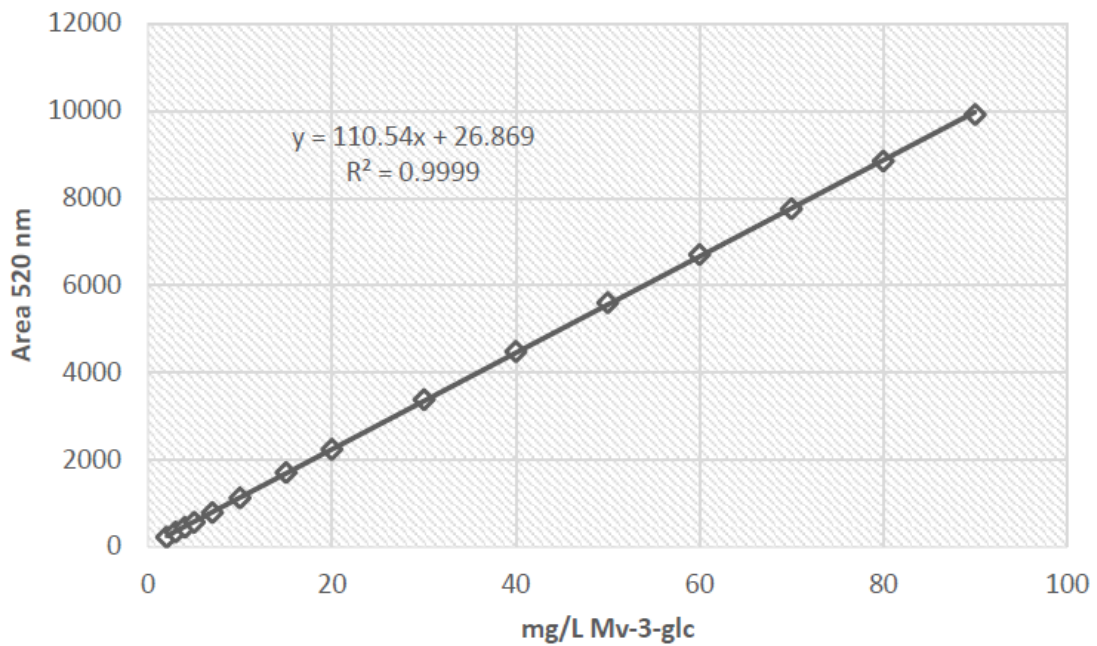
Για την ταυτοποίηση των ανθοκυανών ρυθμίστηκαν οι ακόλουθες παράμετροι στο φασματόμετρο μάζας: θετικός ιονισμός, φέρον αέριο άζωτο, θερμοκρασία 350 °C, διαφορά δυναμικού 2.5 kV, εύρος σάρωσης 100-1200 m/z. Για την ταυτοποίηση των φλαβονών και τα φαινολικών οξέων, χρησιμοποιήθηκε αρνητικός ιονισμός (Μπιμπίλας, 2017).

Συνδυάζοντας τα δεδομένα του λογισμικού για τους χρόνους έκλουσης και τα εμβαδά των βασικών κορυφών με την βιβλιογραφία (Μπιμπίλας, 2017), προκύπτουν τα αποτελέσματα των διαγραμμάτων που θα παρουσιαστούν στην αντίστοιχη ενότητα Αποτελέσματα-Σχολιασμός.

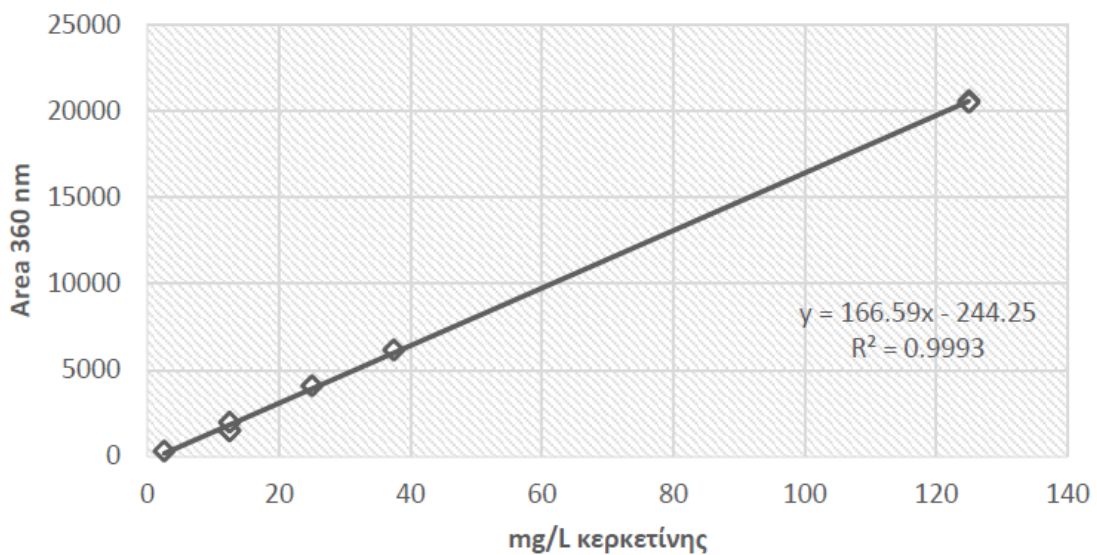
Πιο συγκεκριμένα, για τον ποσοτικό προσδιορισμό κάθε ανθοκυάνης, αντιστοιχίζεται το εμβαδό κάθε κορυφής μέσω της καμπύλης αναφοράς του 3-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης σε ισοδύναμα αυτής.

Για την ταυτοποίηση των επί μέρους φλαβονών βάσει των χρόνων ανάσχεσής τους, λαμβάνονται βιβλιογραφικά δεδομένα (Μπιμπίλας, 2017). Για τον υπολογισμό της περιεκτικότητας κάθε φλαβόνης στα εκχυλίσματα χρησιμοποιούνται τα αποτελέσματα του λογισμικού που υπολογίζουν τα εμβαδά των κορυφών και τα ανάγουν σε ισοδύναμα

κερκετίνης βάσει της καμπύλης αναφοράς αυτής. Για την επιβεβαίωση της μορφολογίας του μορίου κάθε βασικής φλαβόνης λήφθηκαν τα φάσματά τους στο UV-Vis.



Διάγραμμα 2: Καμπύλη αναφοράς του 3-γλυκοζιτης της μαλθιδίνης (Mv-3-glc) στα 520 nm



Διάγραμμα 3: Καμπύλη αναφοράς της κερκετίνης στα 360 nm

5.6. Προσδιορισμός της Χρωματικής Έντασης (E) και της Χρωματικής Απόχρωσης (A) των οίνων

Παρατηρώντας το φάσμα ενός ερυθρού οίνου στην περιοχή του ορατού φαίνεται ότι παρουσιάζει μία χαρακτηριστική καμπύλη στην περιοχή των 420 nm, μία υψηλή κορυφή στην περιοχή των 520 nm και μία πολύ μικρή κορυφή στην περιοχή των 620 nm. Η περιοχή των 420 nm αντιστοιχεί στην περιοχή απορρόφησης του κίτρινου φωτός ενώ οι περιοχές των 520 και 620 nm στις περιοχές του ερυθρού και του κυανού, αντίστοιχα. Ως Χρωματική Ένταση (E) ενός ερυθρού οίνου θεωρούμε το άθροισμα των οπτικών πυκνοτήτων σε αυτά τα τρία διακριτά μήκη κύματος. Συνήθως το εύρος τιμών της E κυμαίνεται μεταξύ 4 και 20. Όσο υψηλότερη η τιμή του E τόσο πιο σκουρόχρωμος εμφανίζεται ο οίνος. Ως Χρωματική Απόχρωση (A) ενός ερυθρού οίνου θεωρούμε το πηλίκο της οπτικής πυκνότητας στα 420 nm προς αυτή των 520 nm. Συνήθως το εύρος τιμών της A κυμαίνεται μεταξύ 0,5 και 1,5. Όσο υψηλότερη η τιμή του A τόσο πιο καφέ (άρα χρωματικά εξελιγμένος) εμφανίζεται ο οίνος. Έστω a η απορρόφηση στα 420 nm, b η απορρόφηση στα 520 nm, και c η απορρόφηση στα 620 nm. Τα E και A υπολογίζονται ως εξής:

$$E = a + b + c$$

$$A = a \div b$$

Χρησιμοποιείται κυψελίδα οπτικής διαδρομής 1 mm, συνεπώς, οι συντελεστές πολλαπλασιάζονται με 10.

Αποτελέσματα – Σχολιασμός

1. Σταφύλι

1.1. Προκατεργασία

Με τον διαχωρισμό των μερών της ράγας του σταφυλιού (Πειραματικό, §5.1.1) δίνεται η δυνατότητα να εξάγουμε αριθμητικά αποτελέσματα για την αναλογία της μάζας κάθε μέρους προς την συνολική μάζα της ράγας. Ακόμη, γίνεται εφικτός ο προσδιορισμός των ποσοστών των ξηρών μαζών των επιμέρους τμημάτων. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται αριθμητικά στον Πίνακα 3 και γραφικά στα Διαγράμματα 4-6.

Αμπελοτόπια	Ποσοστό μάζας του φλοιού επί της ράγας	Ποσοστό ξηρής μάζας επί της συνολικής του φλοιού	Ποσοστό μάζας της σάρκας επί της ράγας	Ποσοστό ξηρής μάζας επί της συνολικής της σάρκας	Ποσοστό μάζας των γιγάρτων επί της ράγας
A	20%	30%	77%	21%	3%
B	19%	28%	77%	20%	4%
Γ	22%	29%	74%	20%	4%
Μέση τιμή	21%	29%	76%	20%	4%

Πίνακας 3: Ποσοστιαία σύσταση των τμημάτων της ράγας και ποσοστά επί ξηρού των επί μέρους τμημάτων



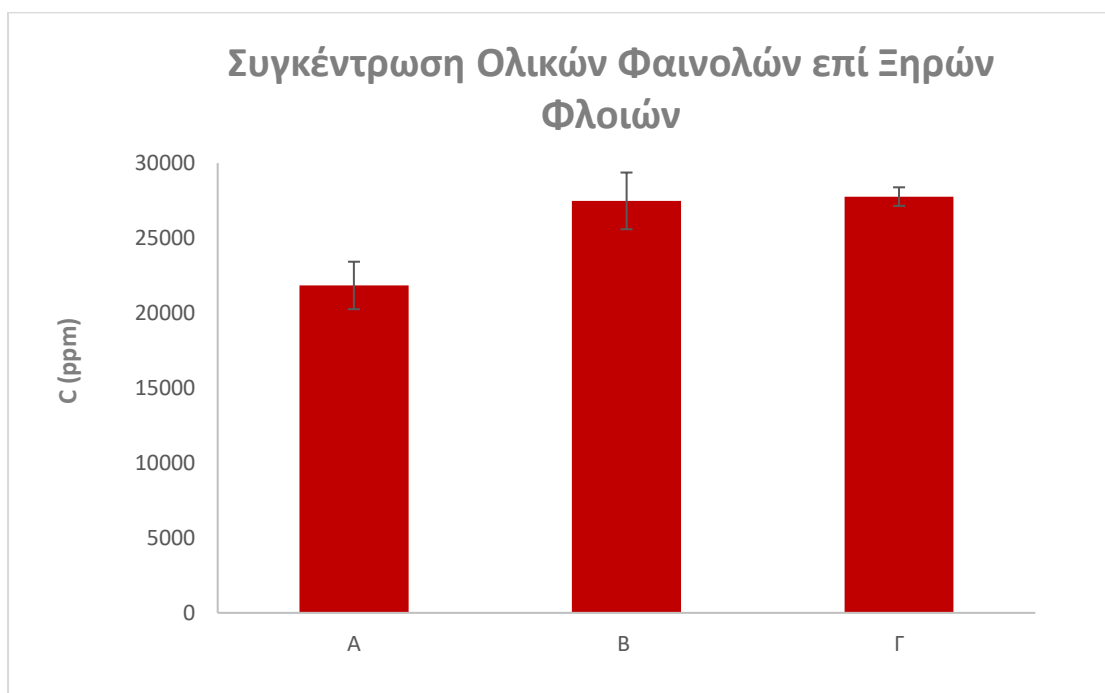
Διάγραμμα 4-Διάγραμμα 5-Διάγραμμα 6: Ποσοστιαία σύσταση των τμημάτων της ράγας (A), (B), (Γ)

Παρατηρείται πως δεν υπάρχουν μεγάλες διαφοροποιήσεις μεταξύ των τριών αμπελοτοπιών. Το μεγαλύτερο ποσοστό καταλαμβάνει η σάρκα, με τους φλοιούς να ακολουθούν και τα γίγαρτα να κατέχουν την μικρότερη μερίδα στην συνολική μάζα της ράγας. Συγκρίνοντας δε, τις παραπάνω τιμές με αυτές της βιβλιογραφίας για την ποικιλία του Ξινόμαυρου (Γκουλιώτη, 2000) και συνυπολογίζοντας την απόκλιση από τον ιδανικό διαχωρισμό σάρκας – φλοιού, είναι εμφανές πως υπάρχει ταύτιση.

1.2. Αναλύσεις εκχυλισμάτων φλοιού

-Ποσοτικός προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου των φλοιών με την μέθοδο Folin-Ciocalteu

Αναλύοντας τα εκχυλίσματα με την μέθοδο Folin ποσοτικοποιείται το περιεχόμενό τους σε ολικές φαινόλες σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος. Οι συγκεντρώσεις των εκχυλισμάτων στη συνέχεια ανάγονται σε συγκεντρώσεις επί ξηρών φλοιών. Τα αποτελέσματα των παραπάνω παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 7.

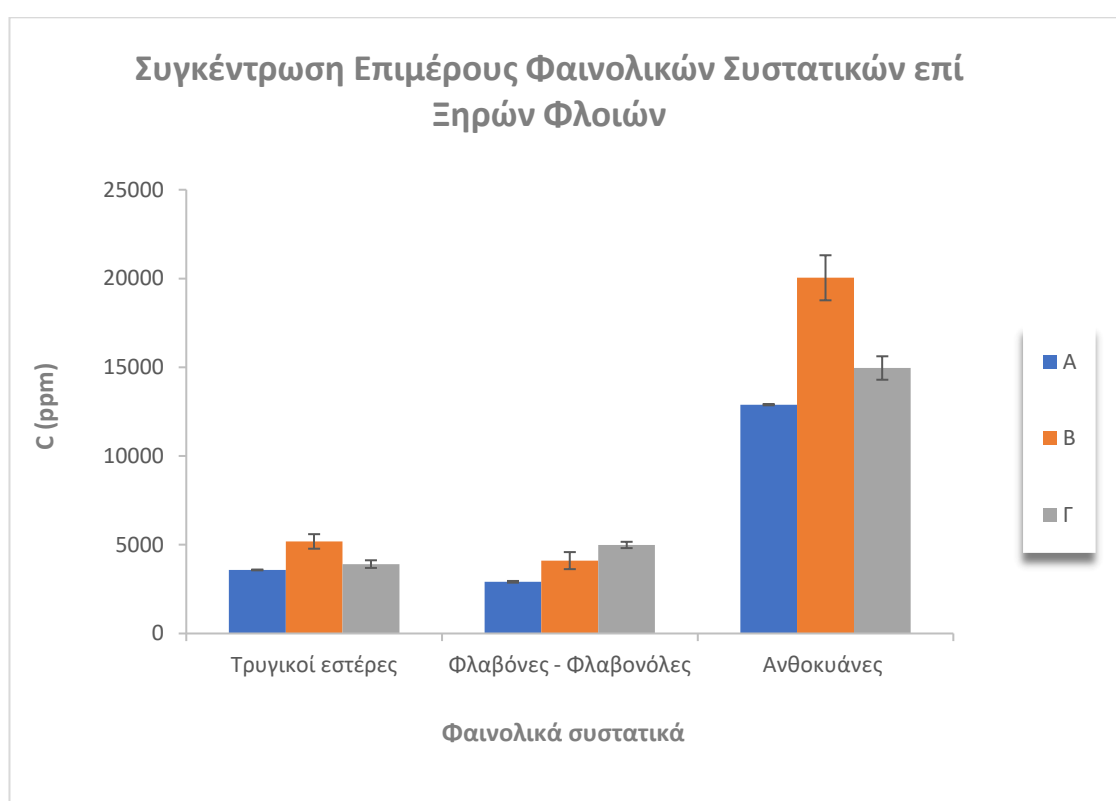


Διάγραμμα 7 : ppm ολικών φαινολών επί ξηρών φλοιών.

Παρατηρώντας το Διάγραμμα 7 προκύπτει ότι πλουσιότεροι σε ολικές φαινόλες είναι οι φλοιοί των σταφυλιών από τα αμπελοτεμάχια (Γ) και (B) χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές τους, με τους φλοιούς των σταφυλιών του αμπελώνα (A) να εμφανίζουν μείωση συγκριτικά με τα δύο προηγούμενα. Ως συνολική εικόνα, οι πολύ υψηλές συγκεντρώσεις φαινολικών στον φλοιό του Ξινόμαυρου επιβεβαιώνουν πως είναι ιδιότητα που αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα της ποικιλίας. Σημειώνεται ότι, οι φαινόλες των φλοιών είναι σχεδόν εξ ολοκλήρου μη τανικές (Μυλωνά, 2011).

-Φωτομετρικός προσδιορισμός των επί μέρους φαινολικών ενώσεων των φλοιών

Με φωτομέτρηση σε τρία διαφορετικά μήκη κύματος 320, 360, 520 προκύπτουν οι αντίστοιχες περιεκτικότητες των εκχυλισμάτων των φλοιών σε τρεις βασικές επιμέρους κατηγορίες φαινολικών συστατικών: τρυγικοί εστέρες, флаβόνες – флаβονόλες και ανθοκυάνες. Οι ποσοτικοποιήσεις έγιναν για τους τρυγικούς εστέρες σε ισοδύναμα καφεϊκού οξέος, για τις флаβόνες σε ισοδύναμα κερκετίνης και για τις ανθοκυάνες σε ισοδύναμα 3- γλυκοζίτη της μαλβιδίνης. Εν συνεχεία, γίνεται αναγωγή των συγκεντρώσεων των εκχυλισμάτων σε συγκεντρώσεις επί ξηρών φλοιών. Αυτές, όπως υπολογίστηκαν απεικονίζονται στο Διάγραμμα 8.



Διάγραμμα 8: ppm επιμέρους φαινολικών συστατικών επί ξηρών φλοιών.

Όσον αφορά τις ανθοκυάνες, οι οποίες εμφανώς και αναμενόμενα κυριαρχούν σαν κατηγορία, υψηλότερη είναι η συγκέντρωσή τους στους φλοιούς (B) με του (Γ) και του (A) να ακολουθούν χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Οι флаβόνες και οι τρυγικοί εστέρες έχουν ίδια επίπεδα συγκέντρωσης στους φλοιούς με επίσης υψηλές συγκεντρώσεις.

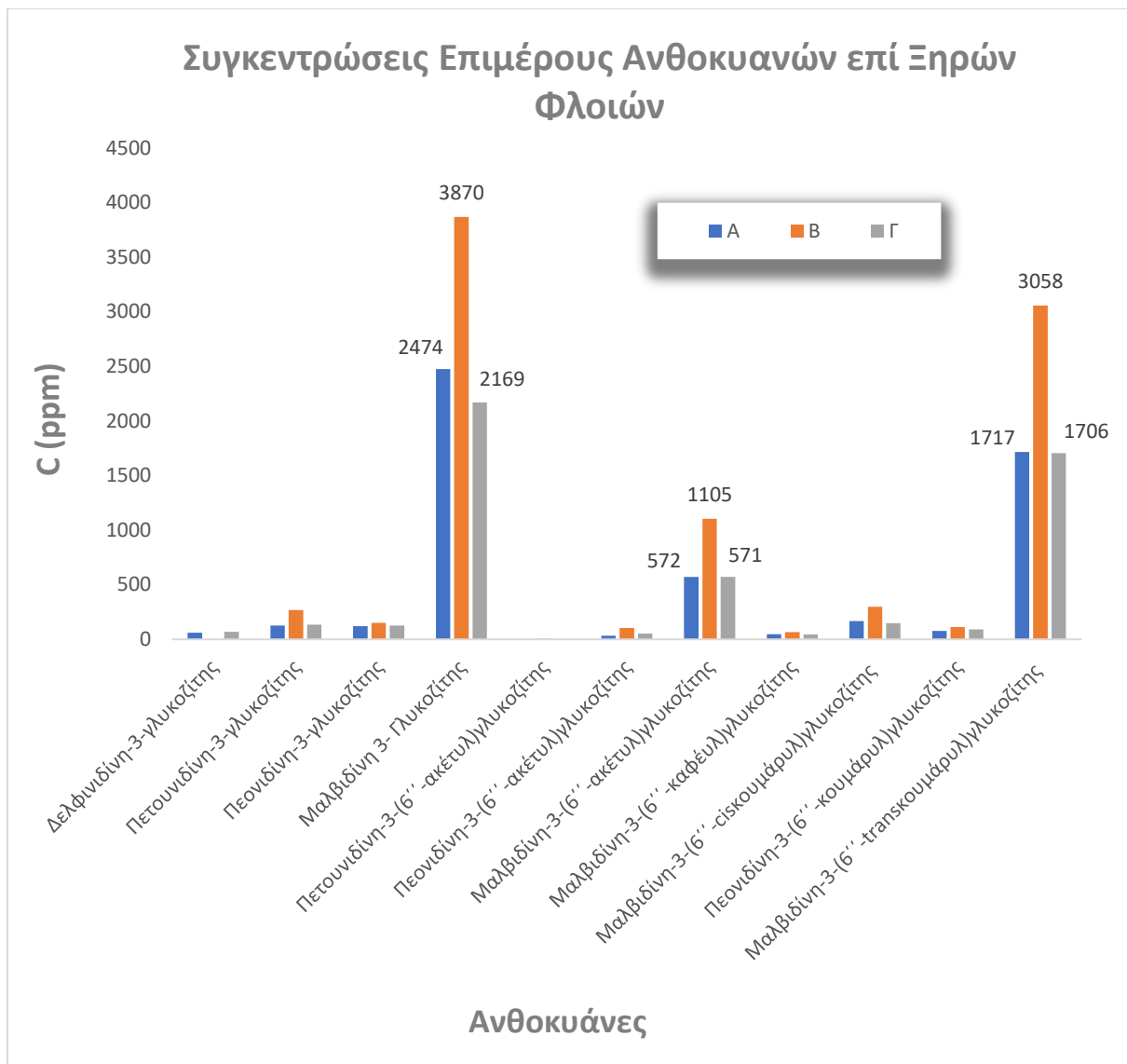
Μία ακόμη παρατήρηση που θα μπορούσε να γίνει είναι η απόκλιση μεταξύ του αθροίσματος των συγκεντρώσεων των τριών επιμέρους φαινολικών και των ολικών φαινολικών όπως υπολογίστηκαν για το κάθε αμπελοτόπι. Η αιτία αυτού είναι η μη δυνατή

ποσοτική σύγκριση μεταξύ των δύο διαφορετικών μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν, Folin και φωτομετρικού προσδιορισμού.

-HPLC

α) Ανθοκυάνες

Αρχικά, λαμβάνονται τα χρωματογραφήματα των εκχυλισμάτων των φλοιών στα 520 nm από τα οποία δίνεται μία γενική ποιοτική εικόνα ως προς το περιεχόμενό τους στις επί μέρους ανθοκυάνες (Παράρτημα, Εικόνες 1α, 1β, 1γ). Υπάρχουν κάποιες βασικές κορυφές, των οποίων το ύψος/εμβαδόν μπορεί να προσδιοριστεί από το λογισμικό, και κάποιες οι οποίες βρίσκονται σε ίχνη. Οι βασικές κορυφές, που αντιστοιχούν σε ανθοκυάνες που ταυτοποιήθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν, έδωσαν τα δεδομένα για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης καθεμίας από αυτές τις ανθοκυάνες επί ξηρών φλοιών, όπως παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 9. Στο Διάγραμμα 10 παρουσιάζεται η συνολική περιεκτικότητα των ξηρών φλοιών στις ταυτοποιημένες ανθοκυάνες όπως υπολογίστηκε αθροιστικά. Για την εξαγωγή συμπερασμάτων ως προς την μορφολογία των μορίων κάθε βασικής κορυφής χρησιμοποιήθηκαν τα φάσματα τους στο UV-Vis (Παράρτημα, Εικόνες 2α,2β,2γ) και η βιβλιογραφία (Τσιμογιάννης, 2008).

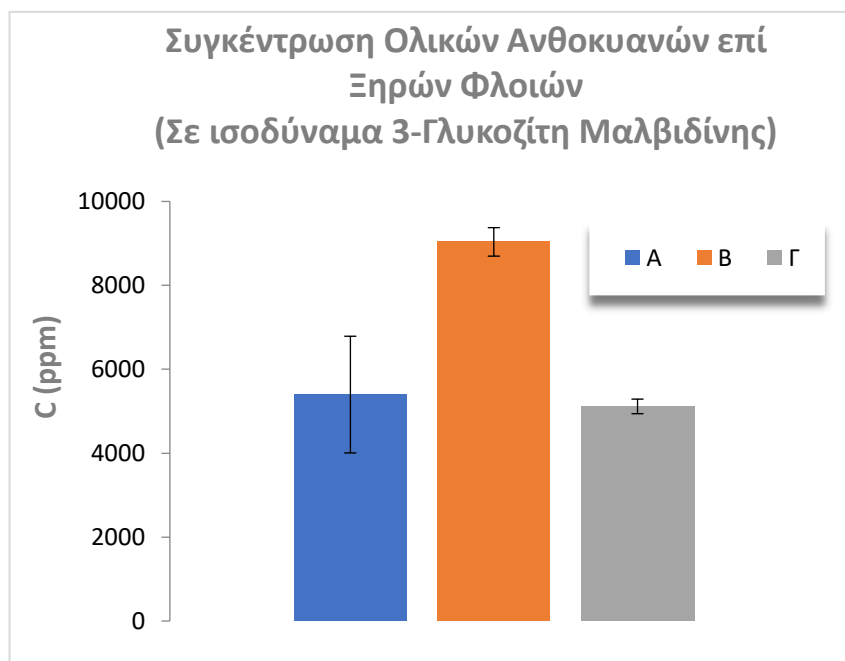


Διάγραμμα 9 : ppm επιμέρους ανθοκυανών επί ξηρών φλοιών.

Άμεσα συμπεράσματα που μπορούν να διεξαχθούν είναι, αρχικά, η υπεροχή σε περιεκτικότητα των μαλβιδίνη-3-γλυκοζίτη, μαλβιδίνη-3-(6''-ακετυλ)γλυκοζίτη, μαλβιδίνη-3-(6''-transκουμαρυλ)γλυκοζίτη. Το ποσοστό αυτών επί του συνόλου είναι περί το 89%. Επιβεβαιώνεται, δηλαδή το γεγονός ότι η μαλβιδίνη αποτελεί την βασική ανθοκυανιδίνη των *Vitis Vinifera* ποικιλιών, όπως είναι και το Ξινόμαυρο (Castillo-Muñoz et al., 2009). Μεταξύ των τριών, η ανθοκυάνη με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα είναι ο 3-γλυκοζίτης της μαλβιδίνης, όπως έχει παρατηρηθεί και σε αναλύσεις άλλων ερυθρών ποικιλιών (Μπιμπίλας, 2017). Το γεγονός αυτό δικαιολογεί και την ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων σε ισοδύναμα 3-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης.

Ακόμη, υπάρχει ταύτιση της κατάταξης των αμπελοτοπιών ως προς το συνολικό ανθοκυανικό περιεχόμενό τους, όπως αυτό υπολογίστηκε φωτομετρικά, και των αντίστοιχων συγκεντρώσεών τους στις τρεις κύριες ανθοκυάνες, κάτι που δείχνει και πάλι τη σημασία αυτών στους φλοιούς της ποικιλίας που προέρχονται από τα συγκεκριμένα αμπελοτόπια. Συγκεκριμένα, η συγκέντρωση στις τρεις βασικές ανθοκυάνες είναι αυξημένη στα δείγματα του αμπελοτεμαχίου (B) συγκριτικά με αυτά των (A) και (Γ) τα οποία μεταξύ τους παρουσιάζουν μικρές διαφορές. Όπως παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 10, και οι περιεκτικότητες των φλοιών σε ολικές ανθοκυάνες, όπως υπολογίστηκαν από το άθροισμα των επιμέρους που ταυτοποιήθηκαν με HPLC, έχουν ταύτιση με την κατανομή που προέκυψε από τη φωτομετρική μέθοδο. Ως επιπλέον σχόλιο, χωρίς να υποδεικνύεται άμεση σχέση αιτίου-αποτελέσματος, θα μπορούσαμε να αναφέρουμε τη διαφορά στον τρύγο των σταφυλιών του αμπελώνα (B) τα οποία παρέμειναν στο αμπέλι για ένα εικοσιτετράωρο παραπάνω από τα άλλα δύο και το γεγονός πως ο αμπελώνας (B) είναι βορειοανατολικού προσανατολισμού σε αντίθεση με τους δύο άλλους που είναι νοτιοανατολικού προσανατολισμού.

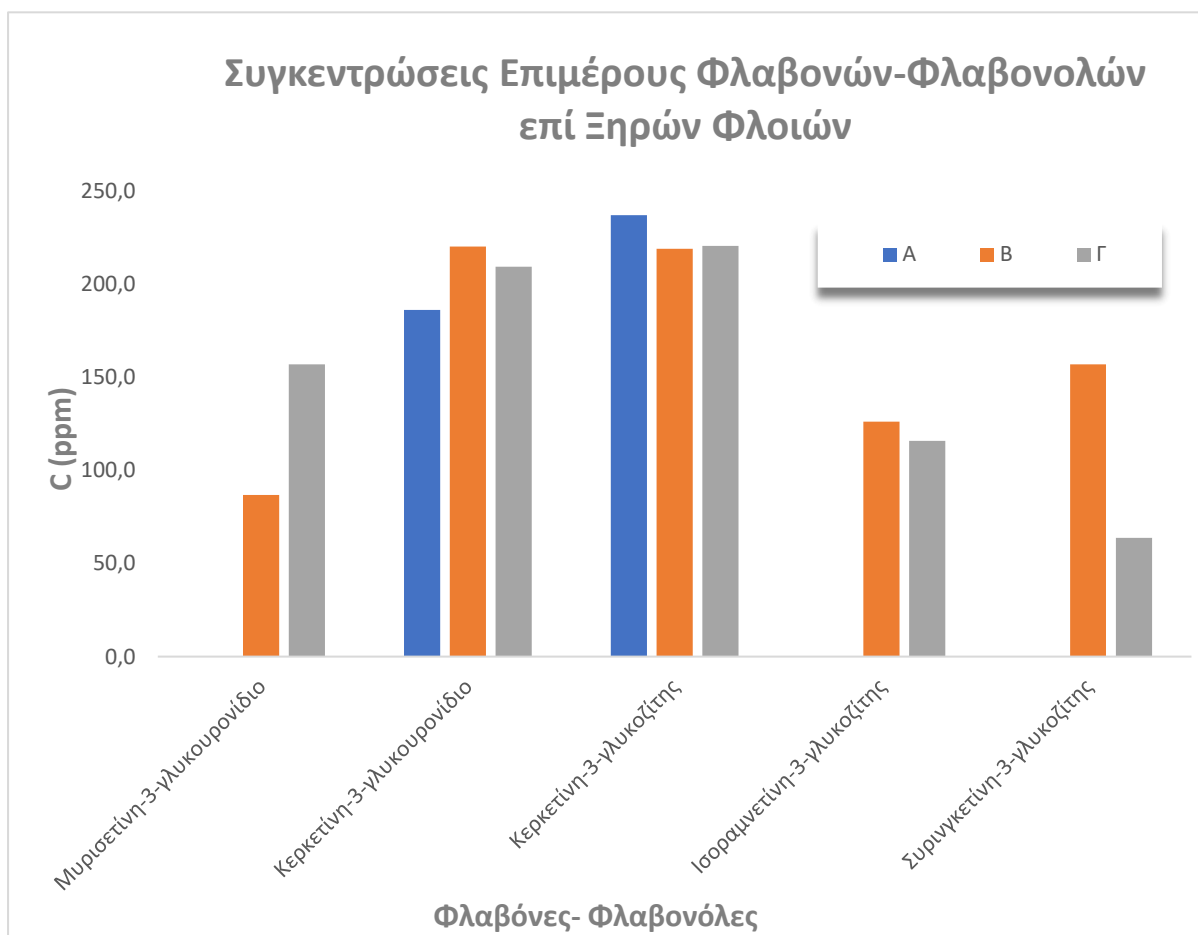
Επίσης, μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι ενώ πρόκειται για σύγκριση μεταξύ σταφυλιών της ίδιας ποικιλίας, προερχόμενα από την ίδια οινοποιητική ζώνη, υπάρχουν διαφορετικές συγκεντρώσεις των επιμέρους ανθοκυανικών συστατικών, αλλά ακόμη και διαφοροποιήσεις στην ύπαρξη ή μη κάποιων από αυτά (λ.χ. δελφιδίνη -3- γλυκοζίτης, πετουνιδίνη -3- (6''ακετυλ)γλυκοζίτης).



Διάγραμμα 10: ppm ολικών ανθοκυανών επί ξηρών φλοιών

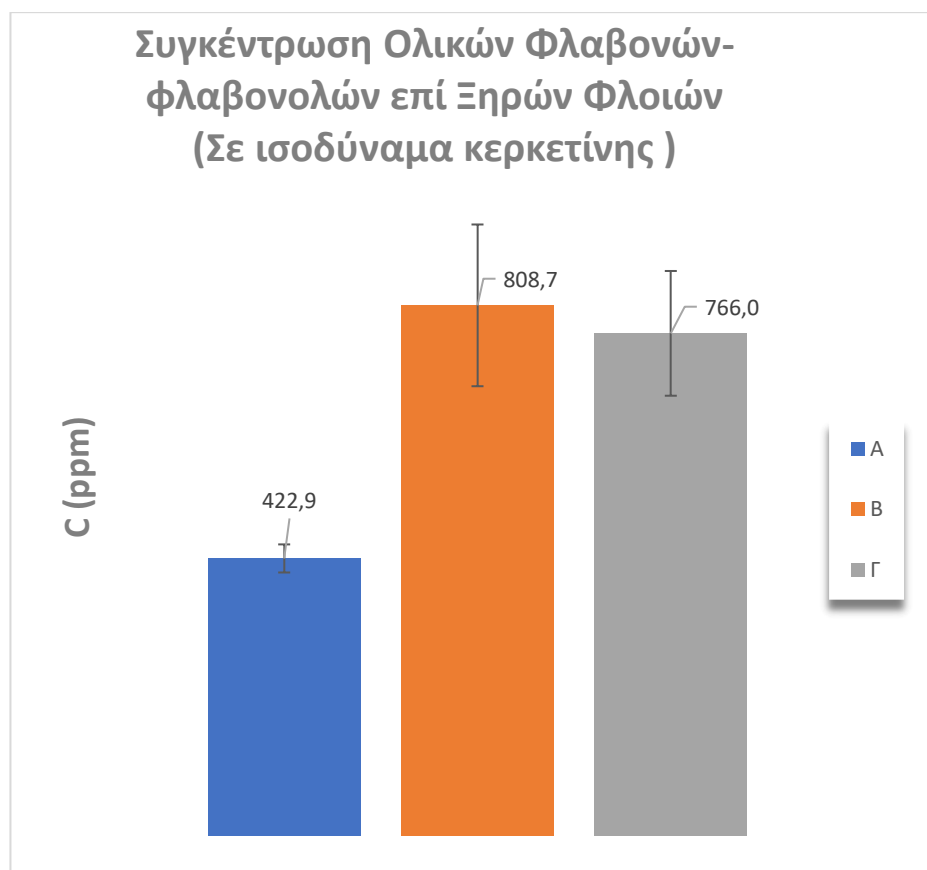
β)Φλαβόνες–Φλαβονόλες

Από τα χρωματογραφήματα των εκχυλισμάτων των φλοιών στα 360 nm δίνεται η γενική ποιοτική εικόνα ως προς το περιεχόμενό τους στις επί μέρους φλαβόνες-φλαβονόλες (Παράρτημα, Εικόνες 3α, 3β, 3γ). Η ανάλυση που ακολουθεί στις βασικές κορυφές είναι ποιοτικής και ποσοτικής φύσεως. Χαρακτηριστικά, παρατίθεται το φάσμα του 3-γλυκουρονιδίου κερκετίνης στο δείγμα (Γ), όπου και παρουσιάζει την μεγαλύτερη συγκέντρωση (Παράρτημα, Εικόνα 4). Το σύνολο των αποτελεσμάτων της ταυτοποίησης των επί μέρους φλαβονών και της ποσοτικοποίησής τους παριστάνεται γραφικά στο Διάγραμμα 11. Ακόμη, κατασκευάζεται το Διάγραμμα 12 που παρουσιάζει τα αποτελέσματα υπολογισμού του συνολικού φορτίου φλαβονών για κάθε αμπελοτόπι, όπως αυτό υπολογίστηκε αθροίζοντας τις περιεκτικότητες των φλαβονών που ήταν δυνατόν να ταυτοποιηθούν.



Διάγραμμα 11: ppm επί μέρους φλαβονών επί ξηρών φλοιών.

Άμεσα συμπεράσματα που εξαγονται από το Διάγραμμα 11 είναι αφενός η εμφανής διαφοροποίηση των δειγμάτων ως προς την ύπαρξη ή μη των επί μέρους φλαβονών και αφετέρου η διαφορά στις συγκεντρώσεις ακόμη και σε αυτές που είναι κοινές σε δύο ή τρία δείγματα. Μοναδική εξαίρεση στα παραπάνω αποτελούν το 3-γλυκουρονίδιο της κερκετίνης και ο 3-γλυκοζίτης της κερκετίνης, τα οποία περιέχονται και στα τρία δείγματα σε παραπλήσιες συγκεντρώσεις. Μάλιστα, για καθένα από τα δείγματα αποτελούν τουλάχιστον τα δύο τρίτα του συνολικού φλαβονικού περιεχομένου τους. Τέλος, αν εξετάσουμε τα δείγματα ως προς την πολυπλοκότητα του φλαβονικού τους προφίλ, καταλήγουμε σε υπεροχή των φλοιών από το αμπελοτόπι (Γ), ακολουθούμενο από το (Β) με τελευταίο στην κατάταξη το αμπελοτόπι (Α).



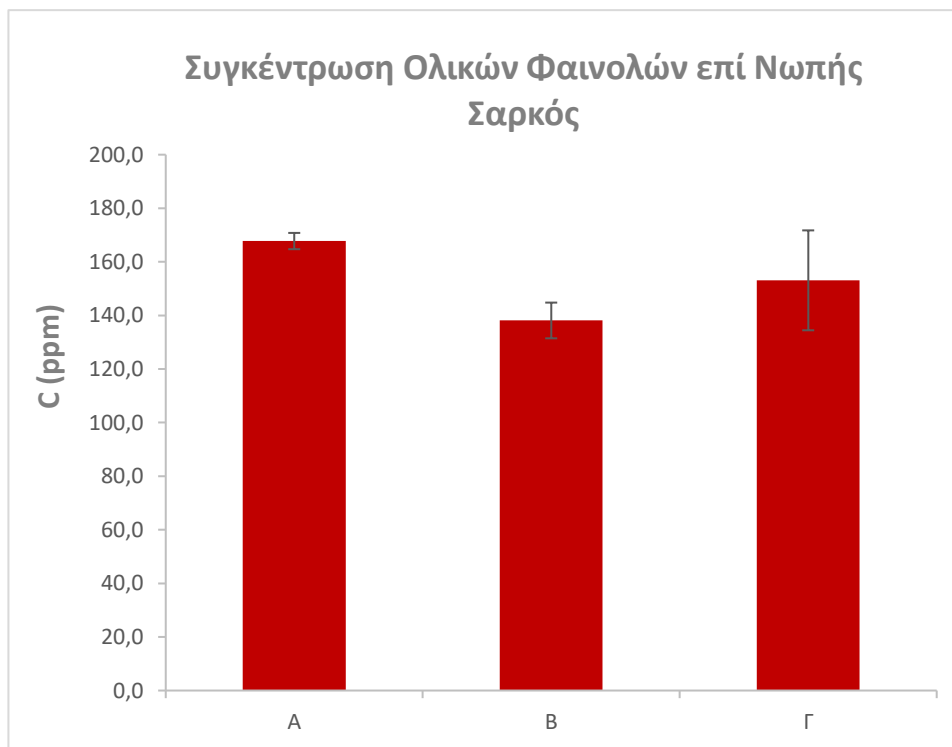
Διάγραμμα 12: ppm ολικών φλαβονών επί ξηρών φλοιών

Παρατηρείται στο Διάγραμμα 12 υστέρηση στη συγκέντρωση των φλαβονών των φλοιών (Α) συγκριτικά με τους φλοιούς (Β) και (Γ) της τάξης του 46%.

1.3. Αναλύσεις εκχυλισμάτων Σάρκας

-Ποσοτικός προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου της σάρκας με την μέθοδο Folin-Ciocalteu

Με χρήση της μεθόδου Folin–Ciocalteu για την ανάλυση των εκχυλισμάτων σάρκας, υπολογίστηκε η περιεκτικότητά τους σε ολικές φαινόλες σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος. Στη συνέχεια, έγινε αναγωγή σε συγκέντρωση των ολικών φαινολών επί νωπής σάρκας. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 13.

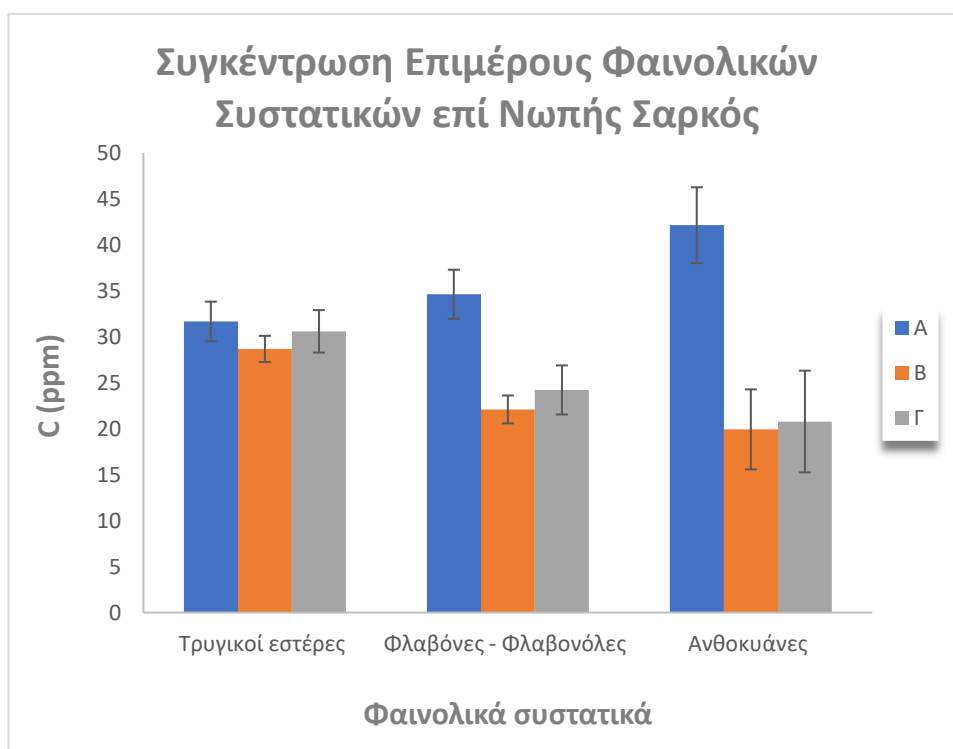


Διάγραμμα 13: ppm ολικών φαινολών επί νωπής σαρκός.

Η πρώτη παρατήρηση σχετικά με το Διάγραμμα 13 είναι οι συντριπτικά μικρότερες περιεκτικότητες σε φαινόλες των εκχυλισμάτων σάρκας αν συγκριθούν με τα εκχυλίσματα φλοιών, κάτι το οποίο επιβεβαιώνει το αναμενόμενο. Οι σάρκες είναι τελείως φτωχές σε φαινολικά συστατικά και ανθοκυάνες (Κουράκου – Δραγώνα, 1998; Garrido et al., 2011). Σημειώνεται πως υπάρχει πιθανότητα τα παραπάνω αποτελέσματα να οφείλονται σε φαινόλες που εισχώρησαν στη σάρκα από τους φλοιούς κατά την διαδικασία διαχωρισμού. Εν συνεχεία, αναφερόμενοι στην κατάταξή τους από την πιο πλούσια σε φαινόλες σάρκα στην λιγότερο, ακολουθείται η σειρά αμπελοτοπιών (A) – (Γ) – (B). Το ζεύγος (A) – (B) που έχουν τη μέγιστη και ελάχιστη συγκέντρωση αντίστοιχα, είναι αυτό στο οποίο εμφανίζεται στατιστικά σημαντική διαφορά, ενώ η συγκέντρωση των σταφυλιών (Γ) έχει τιμή η οποία βρίσκεται στο ενδιάμεσο των δύο προηγούμενων και χωρίς σημαντικές στατιστικά διαφορές από τις δικές τους τιμές.

-Φωτομετρικός προσδιορισμός των επί μέρους φαινολικών ενώσεων της σάρκας

Τα αποτελέσματα του υπολογισμού των περιεκτικοτήτων των εκχυλισμάτων στις επί μέρους ομάδες φαινολικών συστατικών, ανθοκυάνες, φλαβόνες-φλαβονόλες και τρυγικούς εστέρες, με την μέθοδο του φωτομετρικού προσδιορισμού και μετά την μετατροπή τους σε συγκεντρώσεις επί νωπής σάρκας, φαίνονται στο Διάγραμμα 14.



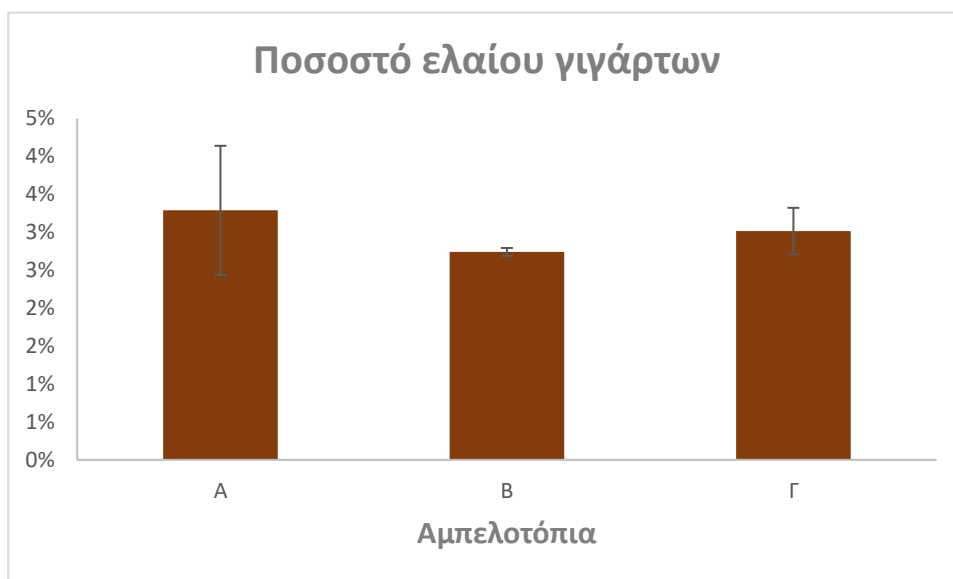
Διάγραμμα 14 : ppm επιμέρους φαινολικών συστατικών επί νωπής σαρκός

Στο παραπάνω φαίνεται η ποσοτική υπεροχή των τρυγικών εστέρων σαν ομάδα φαινολικών συστατικών, κάτι που έχει παρατηρηθεί και σε άλλα παραδείγματα ερυθρών ποικιλιών (Καρίμαλη Η., 2018). Εξαιρείται από αυτό το δείγμα (A) του οποίου η περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες υπερβαίνει τα άλλα δύο συστατικά. Ακόμη, επιβεβαιώνεται και πάλι η σημαντικά μειωμένη περιεκτικότητα της σάρκας σε φαινόλες συγκριτικά με τους φλοιούς. Οι χαμηλές περιεκτικότητες του εκχυλίσματος στα τρία είδη φαινολικών που μελετήθηκαν οδήγησαν σε αδυναμία ταυτοποίησης των επιμέρους ενώσεων ανά κατηγορία με την μέθοδο της HPLC. Χαρακτηριστικά, παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα των εκχυλισμάτων σάρκας κάθε αμπελοτοπίου όπου είναι εμφανής ο μικρός αριθμός και το μικρό εμβαδό των κορυφών που προέκυψαν (Παράρτημα, Εικόνες 5α, 5β, 5γ). Ενδεικτικό της κατάστασης είναι πως η μέθοδος δεν κατάφερε να αποδώσει ούτε τα φάσματα UV-Vis των κορυφών αυτών ώστε να εξαχθούν επιπλέον αποτελέσματα.

1.4. Αναλύσεις εκχυλισμάτων Γιγάρτων

-Προσδιορισμός ποσοστού ελαίων

Όπως παρουσιάστηκε αναλυτικά (Πειραματικό μέρος, §5.1.4.1.), το πρώτο βήμα στην ανάλυση των γιγάρτων είναι η απομάκρυνση από αυτά των λιπιδίων τους. Τα αποτελέσματα των ζυγίσεων των διαχωρισμένων ελαίων έδωσαν τα ποσοστά ελαίου επί του βάρους των γιγάρτων τα οποία παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 15.

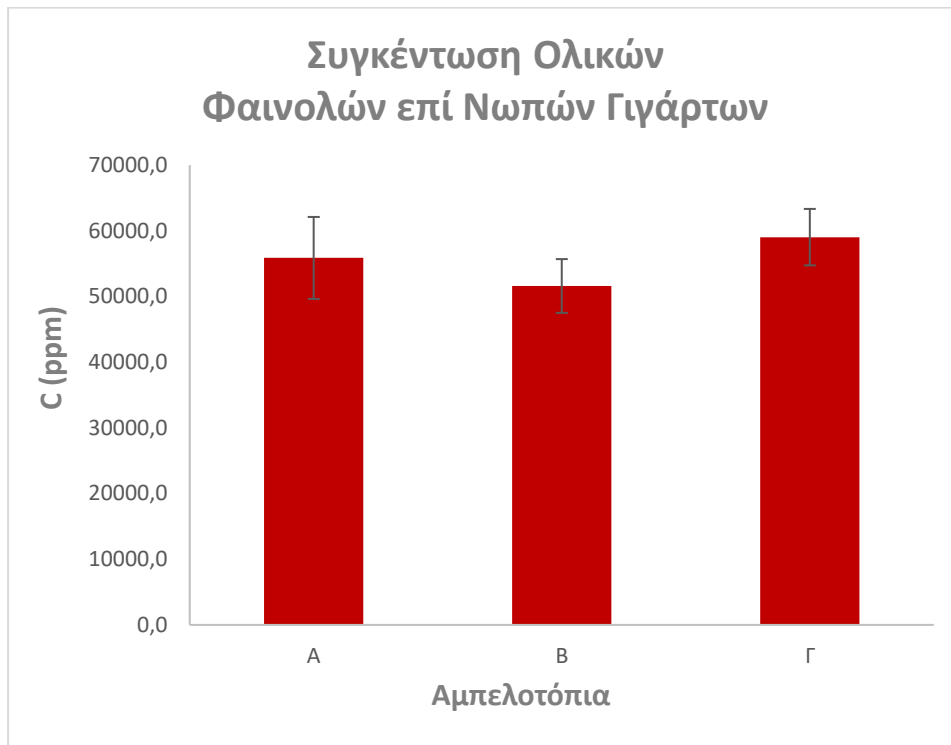


Διάγραμμα 15: Ποσοστά ελαίου των γιγάρτων

Συμπερασματικά, τα έλαια αποτελούν μικρό ποσοστό των γιγάρτων του Ξινόμαυρου, συγκεκριμένα της τάξης του 2,7%-3,2%, χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των δειγμάτων των διαφορετικών αμπελοτοπιών.

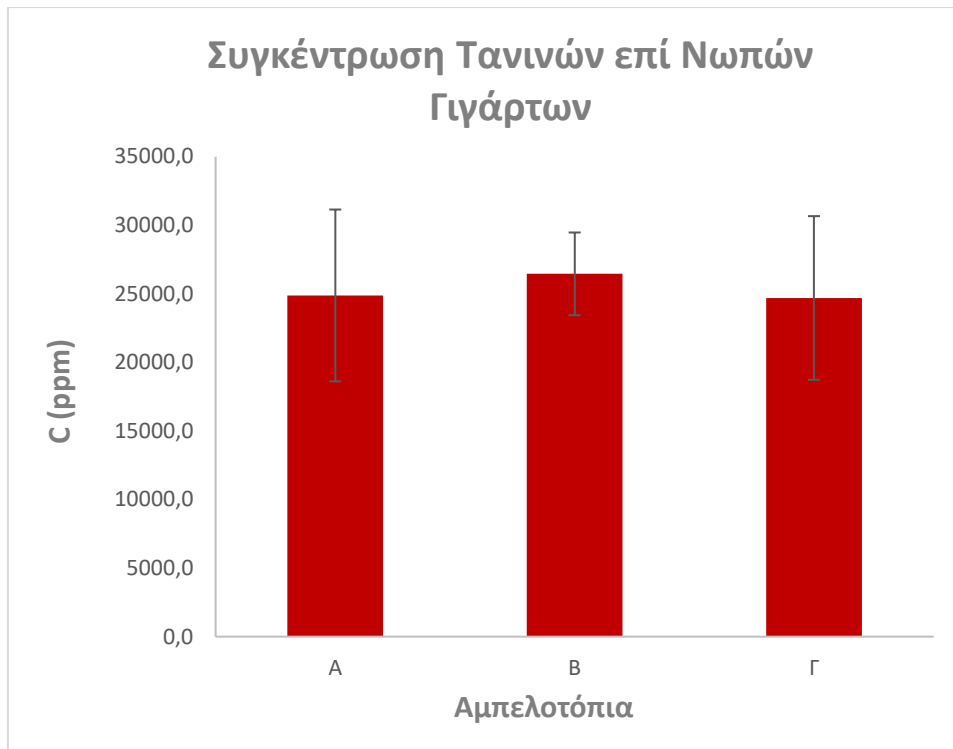
-Ποσοτικός προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου των γιγάρτων με την μέθοδο Folin- Ciocalteu & προσδιορισμός της συγκέντρωσης των τανινών με χρήση BSA

Από τα απαλλαγμένα από έλαια γιγάρτα παρασκευάστηκαν τα εκχυλίσματα των φαινολικών συστατικών τους. Αυτά στην συνέχεια μελετήθηκαν με την μέθοδο Folin- Ciocalteu ως προς το περιεχόμενό τους σε ολικές φαινόλες. Ακολούθως, με χρήση της μεθόδου BSA, όπως έχει αναλυθεί (Πειραματικό μέρος, §5.1.4.3.) απομακρύνθηκαν από τα εκχυλίσματα οι τανίνες και εφαρμόστηκε και πάλι Folin- Ciocalteu. Με τον τρόπο αυτό, αφαιρώντας το τελικό από το αρχικό αποτέλεσμα της Folin- Ciocalteu, προκύπτει η περιεκτικότητα των γιγάρτων σε τανίνες. Τα αποτελέσματα των συγκεντρώσεων των ολικών φαινολών και των τανινών των νωπών γιγάρτων παρουσιάζονται αντίστοιχα στα Διαγράμματα 16 και 17.



Διάγραμμα 16: ppm ολικών φαινολών επί νωπών γιγάρτων

Συμπεραίνεται από το Διάγραμμα 16 πως τα γίγαρτα έχουν πολύ υψηλή περιεκτικότητα σε φαινόλες. Συγκεκριμένα, έχουν την υψηλότερη από όλα τα άλλα τμήματα του σταφυλιού. Μπορούμε ακόμη να παρατηρήσουμε πως δεν υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ των αμπελώνων. Σημειώνεται πως το ανωτέρω φαινολικό περιεχόμενο δεν εμπεριέχει ανθοκυάνες καθώς οι τελευταίες έχουν μηδενικές συγκεντρώσεις στα γίγαρτα (Castillo-Muñoz et al., 2009). Είναι επίσης διαπιστωμένο πως οι φαινόλες των γιγάρτων ως επί το πλείστον είναι τανικές, όμως για πιο ακριβή αποτελέσματα επί των τανινών, θα μελετηθεί το επόμενο διάγραμμα.

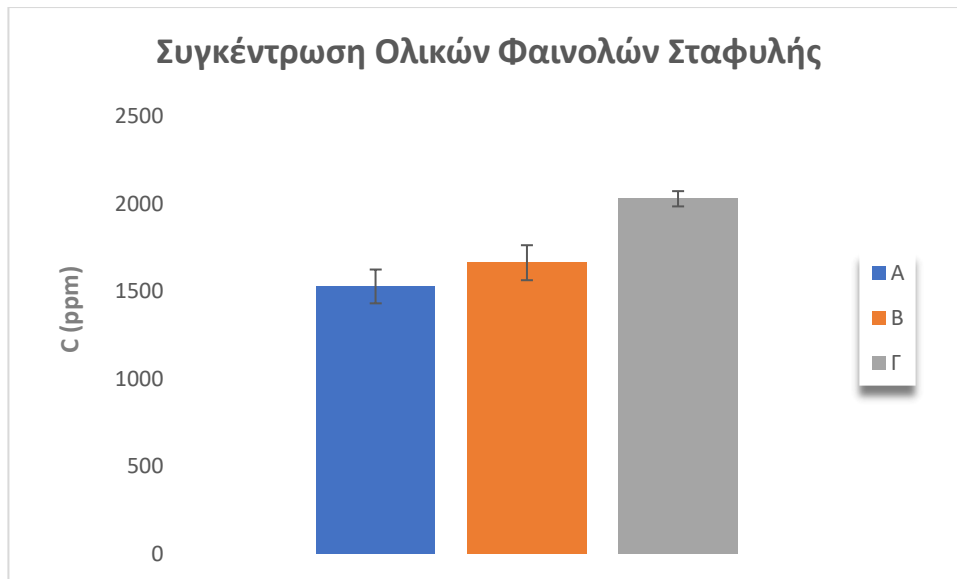


Διάγραμμα 17: ppm τανινών επί νωπών γιγάρτων

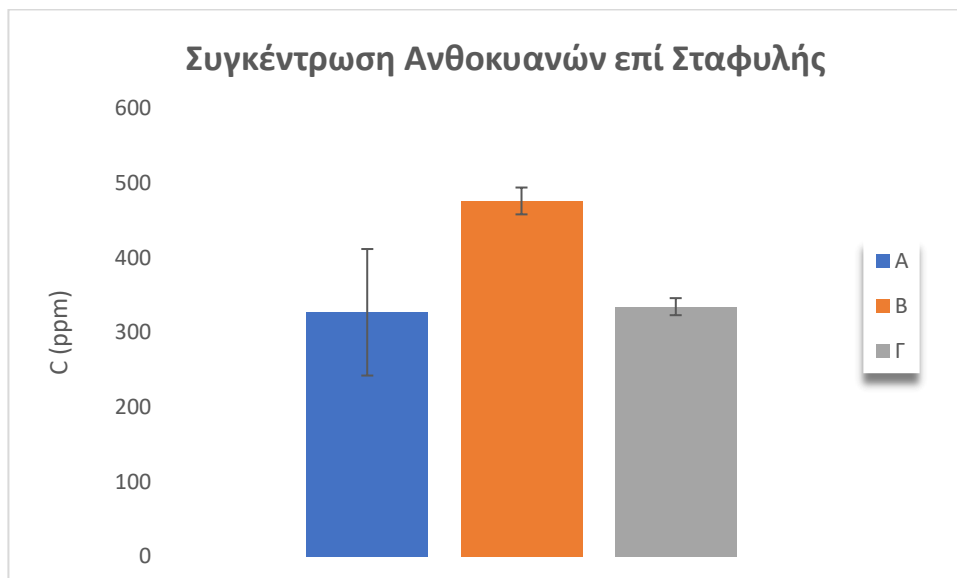
Συγκρίνοντας το ολικό φαινολικό περιεχόμενο με αυτό των τανινών, φαίνεται πως οι τανίνες αποτελούν πολύ σημαντικό ποσοστό του συνόλου, μεγαλύτερο από το 50%. Όσον αφορά τη διαφοροποίηση μεταξύ των αμπελοτοπιών, δεν εμφανίζονται σημαντικές στατιστικές διαφορές στις τανίνες των γιγάρτων.

1.5. Σταφύλι

Με τα δεδομένα των παραπάνω παραγράφων (1.1-1.4) κατασκευάστηκαν τα παρακάτω διαγράμματα τα οποία δίνουν συνολική εικόνα σχετικά με τις ολικές φαινόλες και τις ανθοκυάνες που περιέχονται στις ράγες του Ξινόμαυρου των αμπελοτεμαχίων που μελετήθηκαν.

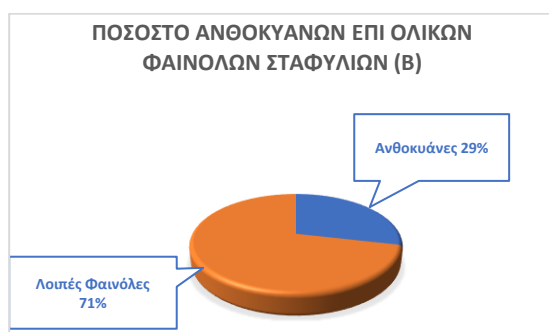
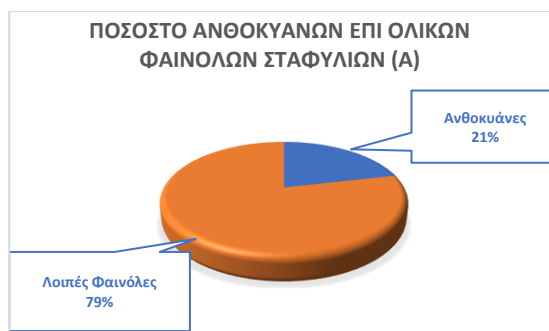


Διάγραμμα 18: ppm ολικών φαινολών επί νωπής σταφυλής



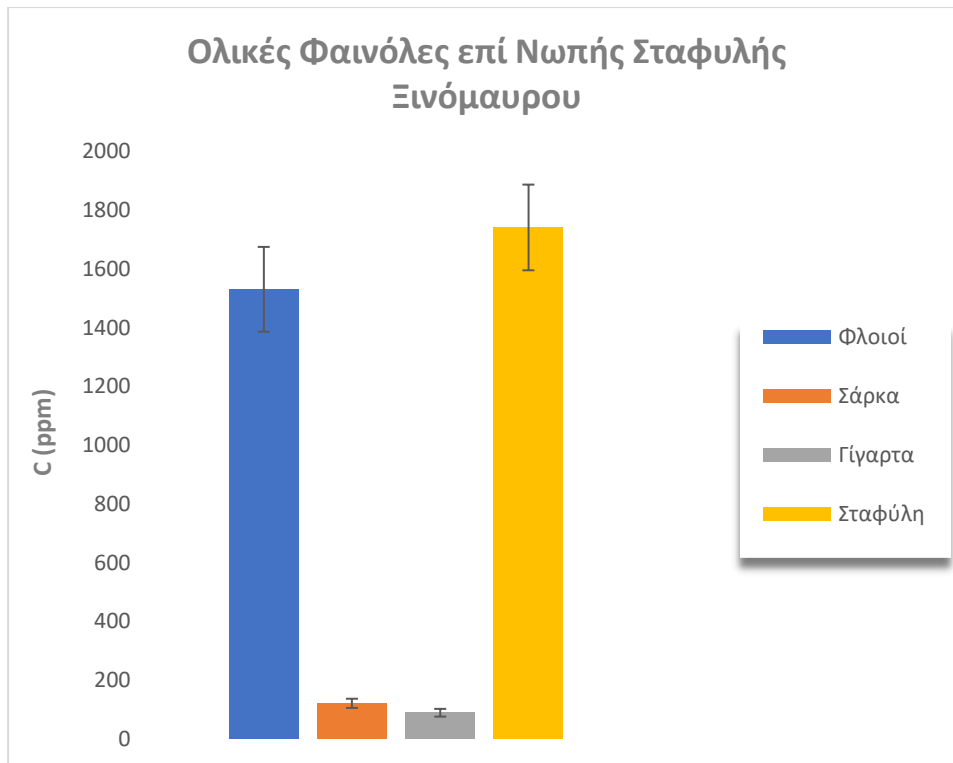
Διάγραμμα 19: ppm ολικών ανθοκυανών επί νωπής σταφυλής

Συμπερασματικά, πλουσιότερα σε ολικές φαινόλες είναι τα σταφύλια που προέρχονται από το αμπελοτόπι (Γ) με τα άλλα δύο να ακολουθούν χωρίς, όμως, να υπάρχουν σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ τους. Πλουσιότερα σε ανθοκυάνες είναι τα σταφύλια από το αμπελοτόπι (B) τα οποία υπερέχουν κατά πολύ (περί το 45%) έναντι των άλλων δύο. Ως αίτια αυτής της διαφοροποίησης θα μπορούσαμε παραθέσουμε τη σύνδεση με τη διαφορά των σταφυλιών (B) ως προς την ημέρα του τρύγου τους και τον προσανατολισμό του αμπελώνα, όπως και στην παράγραφο 1.2. του κεφαλαίου. Παρακάτω στα Διαγράμματα 20-22 φαίνεται η συμβολή των ανθοκυανών στις ολικές φαινόλες του σταφυλιού από τα τρία διαφορετικά αμπελοτόπια. Τα σταφύλια του αμπελοτοπίου (B), πέραν του ότι υπερέχουν σε συγκέντρωση ανθοκυανών, είναι και αυτά στα οποία οι ανθοκυάνες έχουν το μεγαλύτερο ποσοστό συμβολής στις ολικές φαινόλες επί σταφυλής.



Διάγραμμα 20-Διάγραμμα 21-Διάγραμμα 22: Ποσοστά ανθοκυανών επί ολικών φαινολών των σταφυλιών Α - Β - Γ

Ακόμη, βάσει των παραπάνω δεδομένων συνδυαστικά, δημιουργήθηκαν τα Διαγράμματα 23 και 24 που επιτρέπουν την εξαγωγή γενικότερων συμπερασμάτων σχετικά με το Ξινόμαυρο που καλλιεργείται στους τρεις αμπελώνες της ζώνης της Νάουσας.



Διάγραμμα 23: ppm ολικών φαινολών επί νωπής σταφυλής Ξινόμαυρου



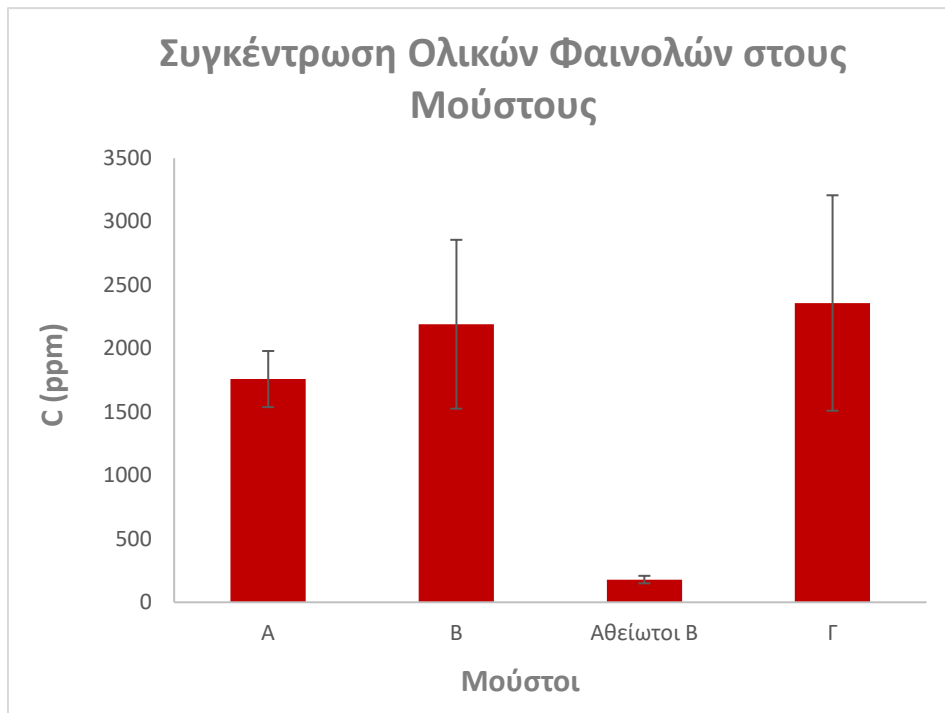
Διάγραμμα 24: Συμβολή των μερών της ράγας στις ολικές φαινόλες του Ξινόμαυρου

Από τα παραπάνω διαγράμματα εξάγονται δύο σημαντικά συμπεράσματα. Πρώτον, τα σταφύλια της ποικιλίας του Ξινόμαυρου είναι πολύ πλούσια σε φαινόλες (1742 ppm επί νωπής σταφυλής). Δεύτερον, το τμήμα της ράγας με την μεγαλύτερη συμβολή στο φαινολικό περιεχόμενο των σταφυλιών είναι ο φλοιός (88%). Η συγκεκριμένη πληροφορία παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς παρατηρείται διαφοροποίηση του Ξινόμαυρου από το μέσο των σταφυλιών ως προς τη συμβολή των μερών τους στο σύνολο των φαινολών. Συγκεκριμένα, το μέσο ποσοστό φαινολών του φλοιού επί της σταφυλής σε προηγούμενες μελέτες που έγιναν σε πλήθος ερυθρών και λευκών ποικιλιών είναι μόλις 51% (Singleton et al., 1969).

2. Μούστος

-Ποσοτικός προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου των μούστων με την μέθοδο Folin- Ciocalteu

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την εφαρμογή της μεθόδου στα δείγματα μούστου παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 25.

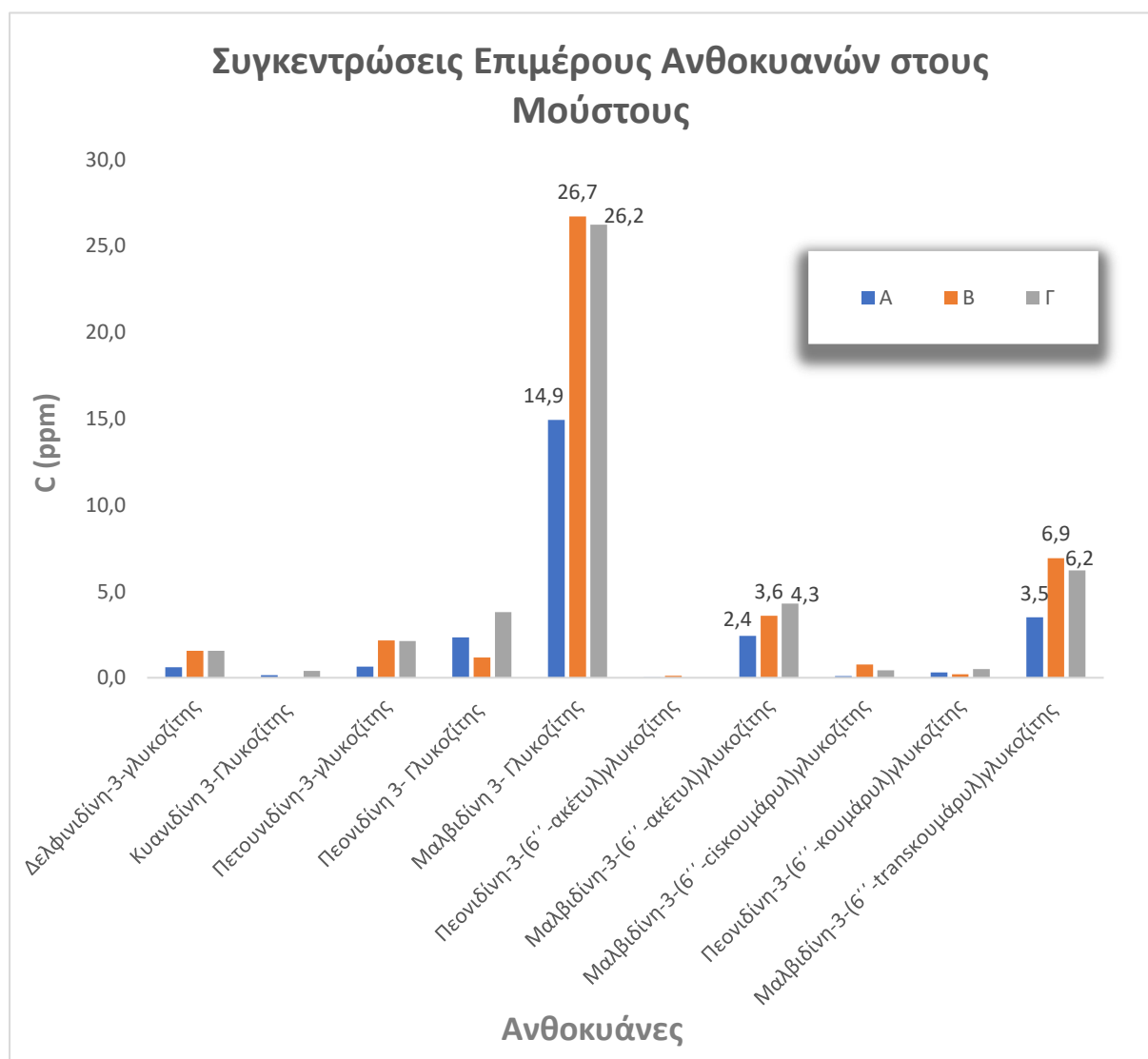


Διάγραμμα 25: ppm ολικών φαινολών στους μούστους

Το πρώτο σχόλιο που αξίζει να γίνει αφορά τη χαρακτηριστική διαφορά που εμφανίζεται μεταξύ των δειγμάτων (B) πριν και μετά το στάδιο της προσθήκης του διαλύματος θειϊκού αμμωνίου και πηκτινολυτικού ενζύμου. Αυτή η διαφορά είναι που αποδεικνύει και τη δραστηριότητα του τελευταίου, αφού ο ρόλος του είναι να καταλύει την εκχύλιση των χρωστικών, οι οποίες αποτελούν φαινολικά συστατικά. Ακόμη, όσον αφορά τη σύγκριση μεταξύ των μούστων των τριών αμπελοτοπιών (κατόπιν της προσθήκης του ενζύμου και των θειϊκών), οι μούστοι (A) εμφανίζουν μικρότερη συγκέντρωση φαινολών συγκριτικά με τους δύο άλλους που μεταξύ τους δεν εμφανίζουν σημαντική στατιστική διαφορά. Η διαφοροποίηση αυτή ταυτίζεται με την αντίστοιχη στις ολικές φαινόλες των φλοιών, κάτι που αν συνδυαστεί με την πληροφορία πως οι φλοιοί συμβάλουν σε ποσοστό 88% στις ολικές φαινόλες των σταφυλιών που μελετήθηκαν, φαίνεται σαν λογική απόρροια.

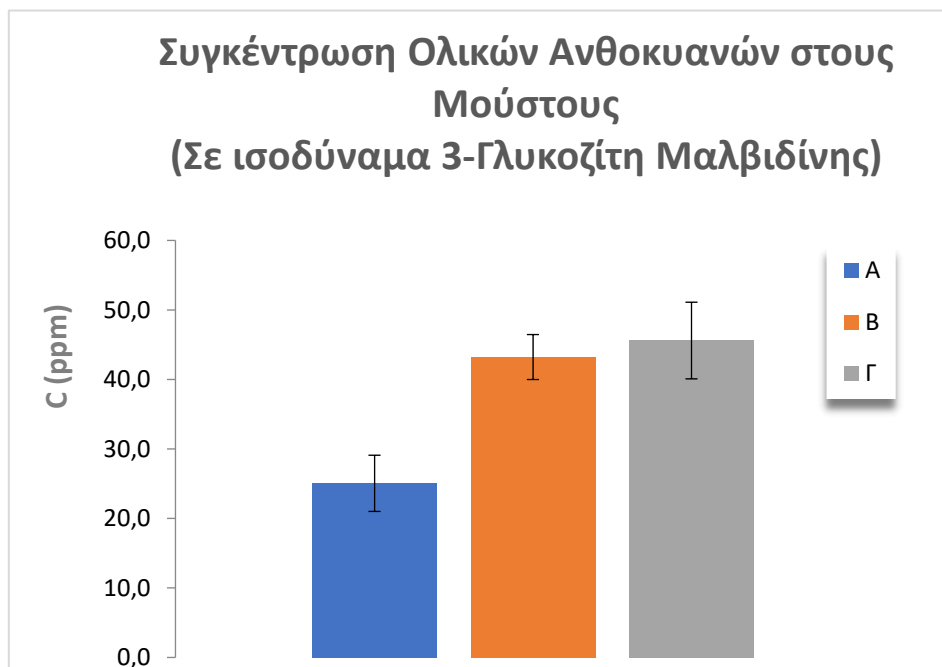
-HPLC, Ανθοκυάνες

Από την ανάλυση εξαιρέθηκαν τα δείγματα (B) που είχαν παραληφθεί προ της προσθήκης του διαλύματος θειϊκών και πηκτινολυτικού ενζύμου. Συνεπώς, γίνεται η μελέτη των δειγμάτων μούστων από τα τρία αμπελοτόπια, όπως αυτά παραλήφθηκαν κατόπιν της προσθήκης. Από τις κορυφές που εμφανίζονται στα χρωματογραφήματα των 520 nm (Παράρτημα, Εικόνες 6α, 6β, 6γ) υπολογίζεται με τη διαδικασία που ακολουθήθηκε και για τα εκχυλίσματα φλοιών η περιεκτικότητα των μούστων σε επιμέρους ανθοκυάνες και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 26. Ακόμη, στο Διάγραμμα 27 παρουσιάζεται το συνολικό ανθοκυανικό τους περιεχόμενο, όπως αυτό υπολογίστηκε από το άθροισμα των συγκεντρώσεων των επί μέρους ταυτοποιημένων ανθοκυανών του χρωματογραφήματος.



Διάγραμμα 26: ppm επιμέρους ανθοκυανών στους μούστους

Παρατηρούνται χαμηλές συγκεντρώσεις κάθε στοιχείου οι οποίες δικαιολογούνται διότι η εκχύλιση των ανθοκυανικών συστατικών των μερών του σταφυλιού στον υγρό όγκο του μούστου είναι σε πολύ πρώιμο στάδιο κατά τις πρώτες ώρες της οινοποίησης που παραλήφθηκαν τα δείγματα. Το ίδιο αποτυπώνεται και στο Διάγραμμα 27. Όπως έχει παρατηρηθεί σε αντίστοιχες μελέτες (Μπιμπίλας, 2017; Καρίμαλη Η., 2018), η πρώτη έντονη αύξηση της συγκέντρωσης ανθοκυανών, λόγω εκχύλισής τους στον υγρό όγκο, συμβαίνει μετά το πέρας του πρώτου εικοσιτετράωρου. Η πορεία συνεχίζεται αυξητικά μέχρι ενός σημείου, όπου ολοκληρώνεται η εκχύλιση, και μετά από κάποιο χρόνο, ο οποίος μεταβάλλεται εξαρτώμενος από τις ποικιλίες και τις συνθήκες οινοποίησης, αρχίζει η μείωση της συγκέντρωσης των ελεύθερων ανθοκυανών, φαινόμενο το οποίο οφείλεται στη συμπλοκοποίησή τους. Τα μονομερή των ανθοκυανών μπορούν να συμμετάσχουν σε πολλές αντιδράσεις συμπύκνωσης (πολυμερή) όπως και σε υδρολυτικές και άλλες αντιδράσεις αποικοδόμησής τους (Monagas et al., 2005). Όσον αφορά την ποιοτική ανάλυση, όπως ήταν αναμενόμενο, υψηλότερη είναι η συγκέντρωση του 3-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης. Ακολουθούμενη από αυτή του 3-(6''-transκουμαρυλ)- γλυκοζίτη της μαλβιδίνης και του 3-(6''-ακετυλ)γλυκοζίτη της μαλβιδίνης, οι τρεις αυτές αποτελούν μεγάλο ποσοστό της συνολικής συγκέντρωσης ανθοκυανών στον μούστο. Ενδιαφέρουσα είναι για ακόμη μία φορά η διαφοροποίηση των μούστων ως προς τις επί μέρους ανθοκυάνες που περιέχουν, όπως συνέβη και στα αντίστοιχα εκχυλίσματα φλοιών.



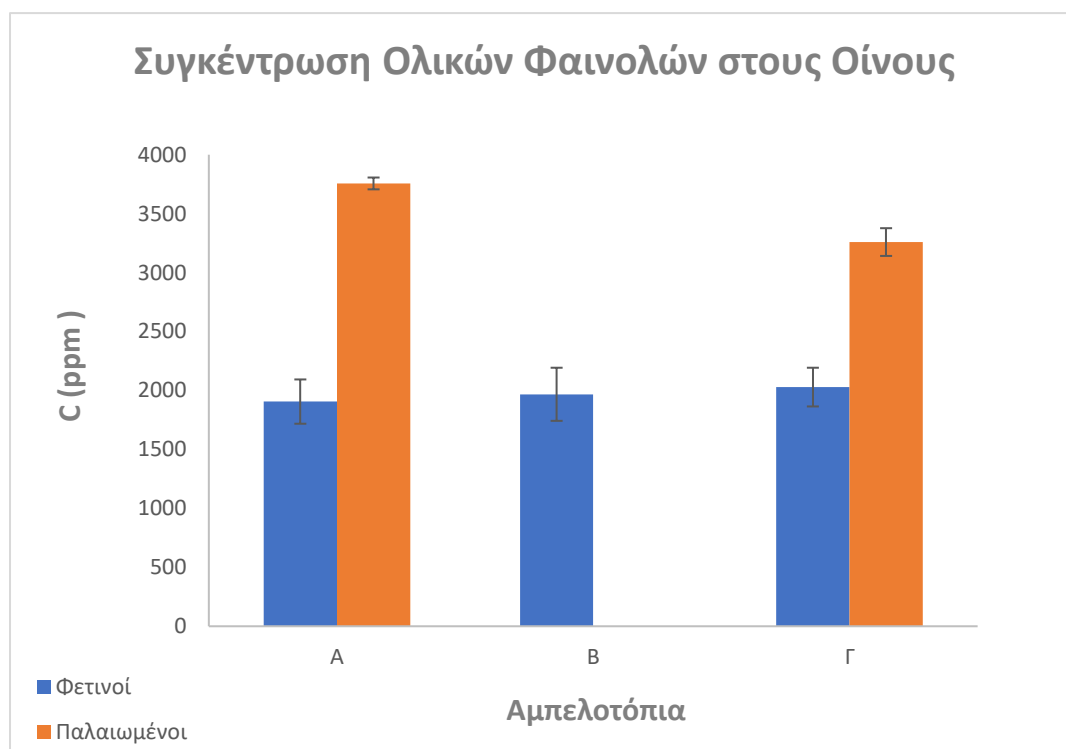
Διάγραμμα 27: ppm ολικών ανθοκυανών στους μούστους

Τα αποτελέσματα του Διαγράμματος 27 καταδεικνύουν πως η κατάταξη συγκέντρωσης των ελεύθερων ανθοκυανών στους μούστους διαφοροποιείται από την αντίστοιχη στους φλοιούς. Στην προκειμένη περίπτωση εμφανίζεται υστέρηση στη συγκέντρωση των ανθοκυανών στους μούστους (A) συγκριτικά με τους άλλους δύο της τάξης του 43%.

3. Οίνος

- Ποσοτικός προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου των μούστων με την μέθοδο Folin- Ciocaltau

Για την προσαρμογή της συγκέντρωσης των δειγμάτων στα όρια ανίχνευσης της μεθόδου τα δείγματα αραιώθηκαν και έγιναν οι κατάλληλοι υπολογισμοί ώστε να προσδιοριστούν οι περιεκτικότητες των οίνων σε ολικά φαινολικά συστατικά βάσει της μεθόδου. Τα αποτελέσματα, όπως προέκυψαν κατόπιν των κατάλληλων υπολογισμών, παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 28.



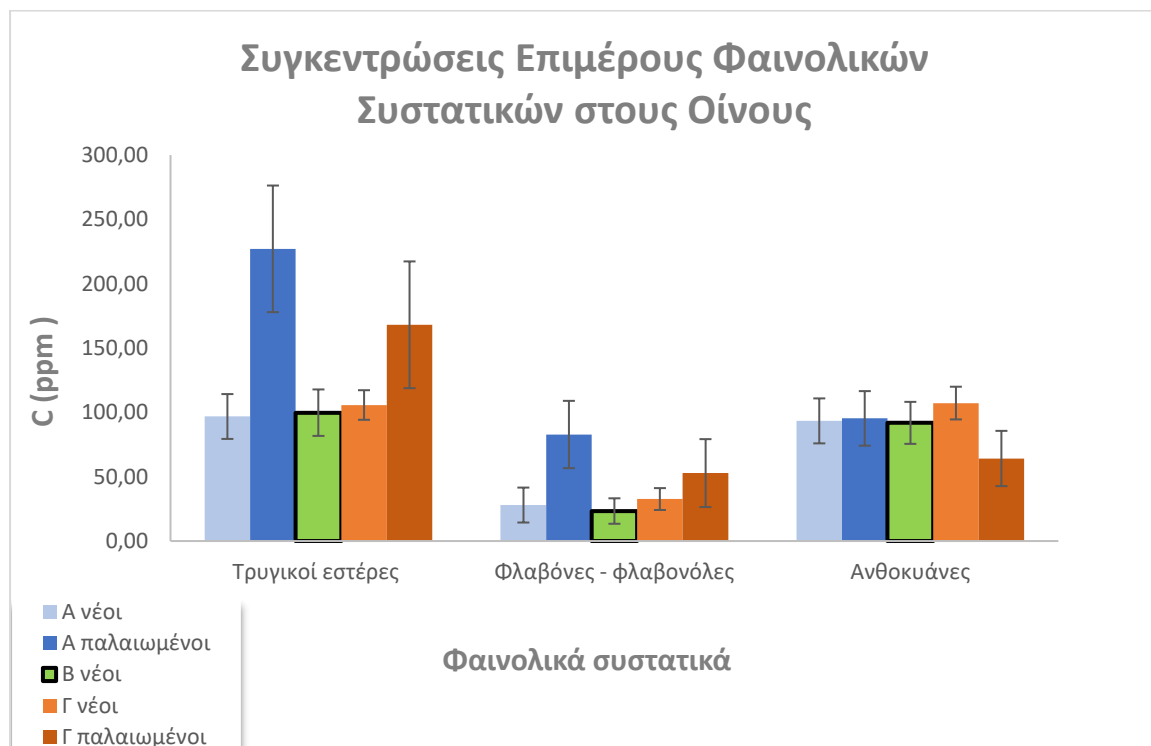
Διάγραμμα 28: ppm ολικών φαινολών στον οίνο

Η πρώτη παρατήρηση που μπορεί να γίνει είναι τα πολύ υψηλά επίπεδα συγκέντρωσης φαινολών στον οίνο του Ξινόμαυρου γενικώς, συγκεκριμένα η μέση τιμή των φρέσκων υπολογίζεται στα 1967 ppm. Σχετικές πληροφορίες υπάρχουν και από έρευνες του παρελθόντος (π.χ. Καρίμαλη Δ., 2018; Καραμανίδου, 2008) οι οποίες κατατάσσουν την ποικιλία ως αυτή με το πλουσιότερο φαινολικό περιεχόμενο μεταξύ άλλων σημαντικών

Ελληνικών ερυθρών ποικιλιών. Στα δείγματα φρέσκων οίνων παρατηρείται κατανομή όμοια με αυτή των μούστων τους με πολύ μικρότερες, όμως, διαφορές οι οποίες και πάλι δεν είναι στατιστικά σημαντικές. Στα δείγματα (Α) και (Γ) των οποίων εξετάστηκαν και οι αντίστοιχοι παλαιωμένοι οίνοι, είναι εμφανής η έντονα αυξημένη περιεκτικότητά τους σε ολικές φαινόλες. Η αύξηση αυτή, όταν πρόκειται για διαστήματα παλαίωσης μέχρι και ενός έτους, δεν αποτελεί ιδιαιτερότητα του Ξινόμαυρου, καθώς έχει παρατηρηθεί και σε άλλες έρευνες ελληνικών και μη, ερυθρών ποικιλιών (Μυλωνά, 2011; Gomez et al., 2000).

-Φωτομετρικός προσδιορισμός των επί μέρους φαινολικών ενώσεων του οίνου

Η μέθοδος εφαρμόστηκε σε όλα τα δείγματα οίνου αφού υπέστησαν κατάλληλες αραιώσεις και τα αποτελέσματα κατόπιν των απαραίτητων υπολογισμών παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 29.



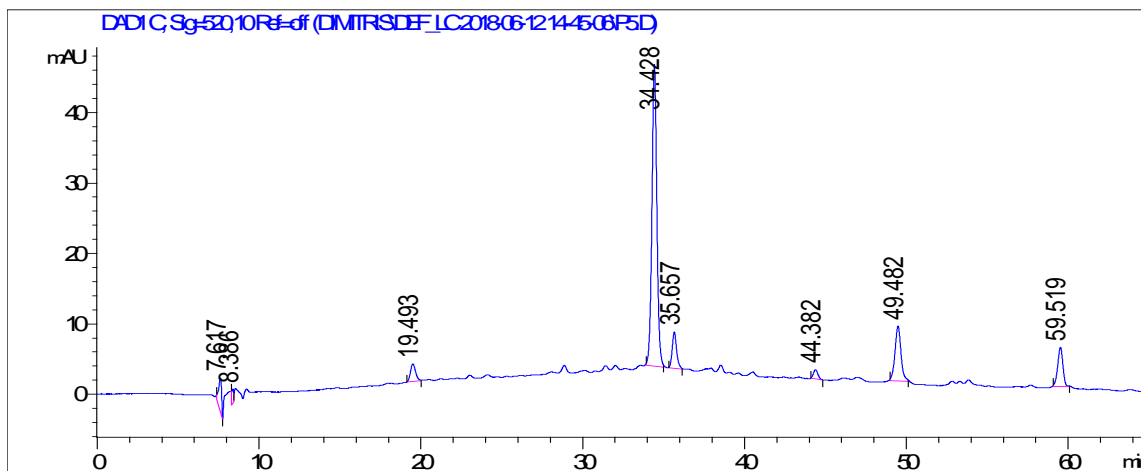
Διάγραμμα 29: ppm επιμέρους φαινολικών συστατικών στον οίνο

Συγκρίνοντας τους νέους οίνους μεταξύ τους δεν εμφανίζονται σημαντικές διαφορές στα περιεχόμενά τους στα επί μέρους φαινολικά συστατικά. Συγκρίνοντας, όμως, στα δείγματα αμπελοτοπιών (Α) και (Γ) τους φετινούς με τους παλαιωμένους οίνους φαίνεται σημαντική αύξηση στις περιεκτικότητες σε τρυγικούς εστέρες και σε φλαβόνες στα δείγματα των παλαιωμένων. Όσον αφορά τις ανθοκυάνες, δεν μπορεί να διεξαχθεί κάποιο γενικό

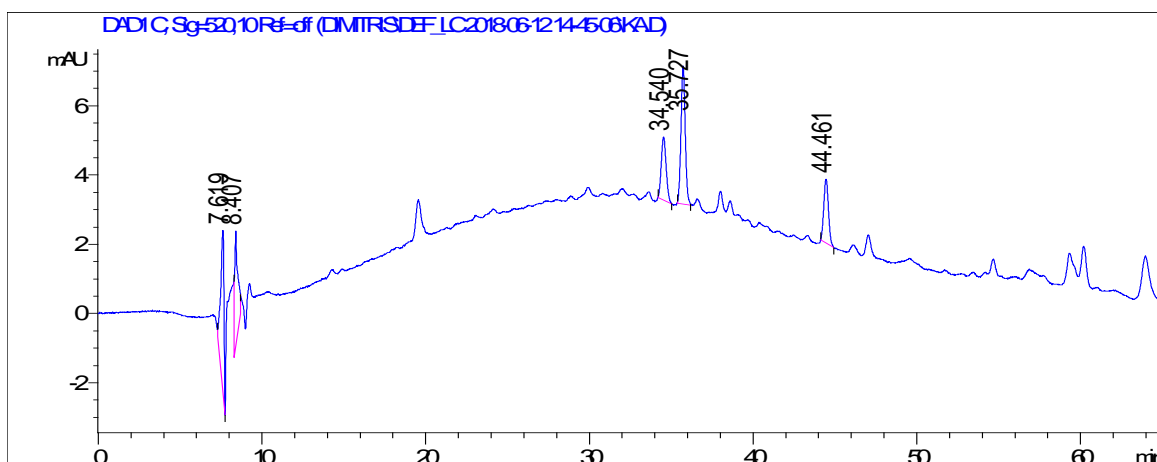
συμπέρασμα καθώς δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές και είναι γνωστό για τις ανθοκυάνες ότι πολυμερίζονται ή συμπλοκοποιούνται κατά την παλαίωση.

-HPLC, Ανθοκυάνες

Τα δείγματα νέων και παλαιών οίνων αναλύθηκαν με τη μέθοδο στα 520 nm. Στα δείγματα παλαιωμένων οίνων, η ανάλυση δεν έδωσε προσοδοφόρα αποτελέσματα κάτι το οποίο αποδίδεται, όπως έχει προαναφερθεί, στη συμπλοκοποίηση των ανθοκυανών με την πάροδο του χρόνου. Για σύγκριση, παρουσιάζονται ένα χρωματογράφημα νέου και ένα παλαιωμένου οίνου προερχόμενων από το αμπελοτόπι (A).



Γράφημα 1: Χρωματογράφημα νέου οίνου (A) στα 520 nm

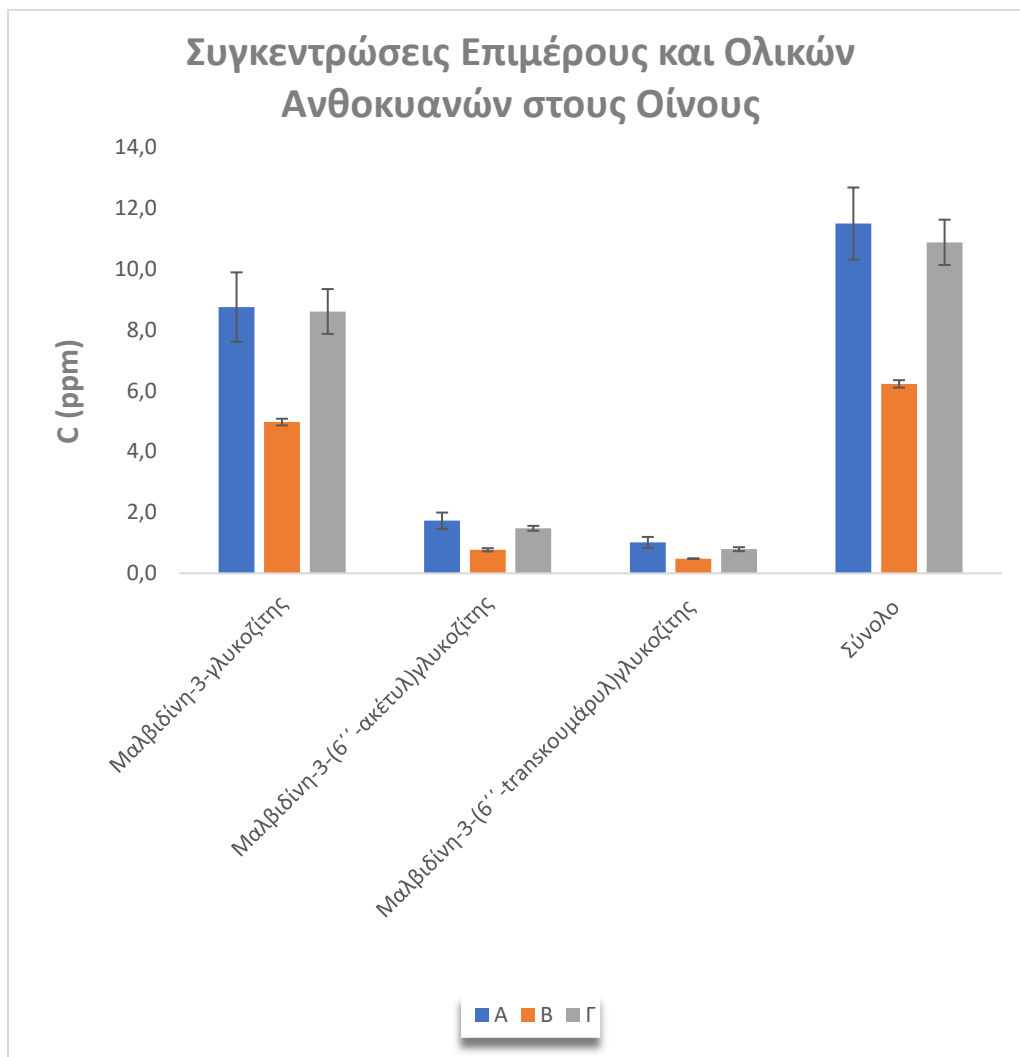


Γράφημα 2 : Χρωματογράφημα παλαιωμένου οίνου (A) στα 520 nm

Παρατηρώντας τα δύο παραπάνω χρωματογραφήματα, πρόκειται για δύο εντελώς διαφορετικές εικόνες. Στο πρώτο, του νέου οίνου, παρακολουθούμε μία σχεδόν ευθεία πορεία του γραφήματος, πλην των κορυφών. Αντίθετα, στο χρωματογράφημα του παλαιωμένου οίνου σχηματίζεται αυτό που χαρακτηρίζεται ως “βουνό” στο γράφημα. Αιτία του φαινομένου αυτού είναι η απόκριση στην HPLC των πολυμερών φαινολικών συστατικών

του οίνου (Versari et al., 2007). Στη διαδικασία του πολυμερισμού έχουμε αναφερθεί επανειλημμένα παραπάνω, συνεπώς δεν προκαλεί έκπληξη η εικόνα.

Από τις κορυφές που εμφανίζονται στα χρωματογραφήματα των 520 nm των νέων οίνων, τα οποία μπορούν να μελετηθούν περαιτέρω, (Παράρτημα, Εικόνες 7α, 7β, 7γ) ακολουθήθηκε η γνωστή διαδικασία για την εξαγωγή αριθμητικών συμπερασμάτων σχετικά με τις ανθοκυάνες και τις συγκεντρώσεις τους στους οίνους. Συνεπώς, στο Διάγραμμα 30 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη μελέτη μετά από κατάλληλες αραιώσεις των δειγμάτων και τους αντίστοιχους υπολογισμούς.

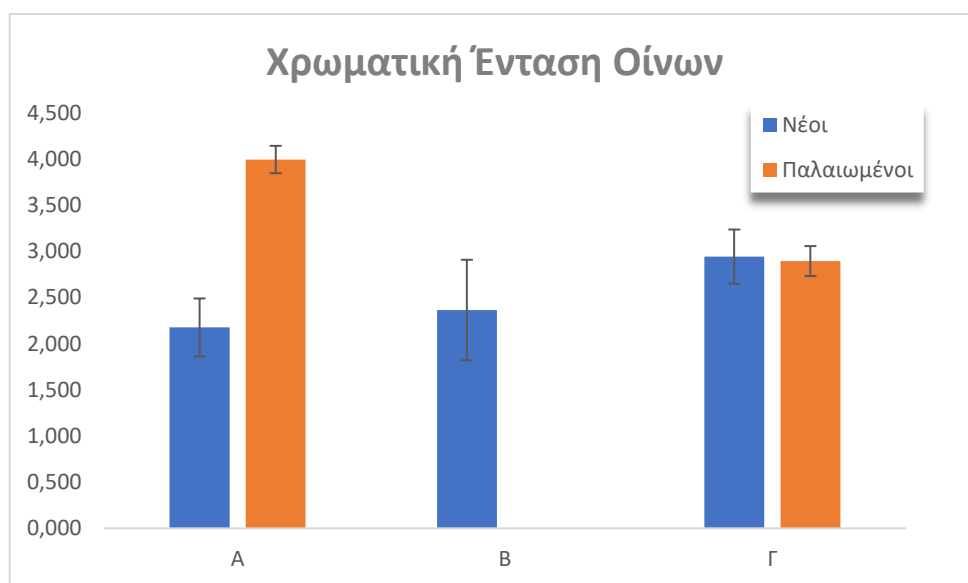


Διάγραμμα 30: ppm επιμέρους και ολικών ανθοκυανών στους οίνους

Αρχική παρατήρηση είναι η μείωση του αριθμού των ελεύθερων ανθοκυανών που ταυτοποιούνται, συγκριτικά με τους αντίστοιχους μούστους. Ακόμη, η έντονη μείωση των συγκεντρώσεων των επιμέρους και ολικών ανθοκυανών· τέλος, η παραμονή του 3-γλυκοζιτη-μαλβιδίνης ως κυρίαρχη ανθοκυάνη και η εξακολούθηση της ύπαρξης των τριών βασικών

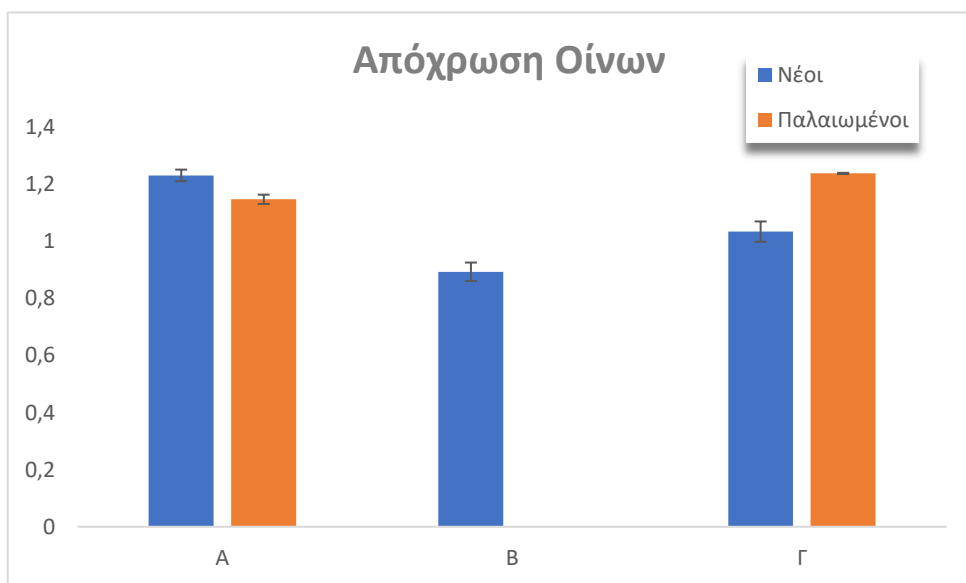
ελεύθερων ανθοκυανών (3-γλυκοζίτη μαλβιδίνης, 3-(6''-transκουμαρυλ)- γλυκοζίτη της μαλβιδίνης και 3- (6''-ακετυλ)γλυκοζίτη μαλβιδίνης) ενώ οι υπόλοιπες που προϋπήρχαν έχουν σταδιακά συμπλοκοποιηθεί. Ενδιαφέρον παρουσιάζεται στην έντονη μεταβολή στην κατάταξη των αμπελοτεμαχίων ως προς τις αθροιστικές συγκεντρώσεις των ελεύθερων ανθοκυανών του οίνου, αν συγκριθεί με την αντίστοιχη κατάταξη στους μούστους. Συγκεκριμένα, η ακολουθία $(\Gamma) = (B) > (A)$ που παρατηρήθηκε στους μούστους, αντικαθίσταται στους οίνους από ακολουθία $(A) = (\Gamma) > (B)$.

-Χρωματομετρήσεις



Διάγραμμα 31: Χρωματική ένταση οίνων

Συγκρίνοντας τα δεδομένα του Διαγράμματος 31 για τους φρέσκους οίνους, καταλήγουμε στο ότι μεγαλύτερη χρωματική ένταση εμφανίζουν οι οίνου (Γ), ακολουθούμενοι από τους οίνους (B) και (A) οι οποίοι μεταξύ τους δεν εμφανίζουν σημαντική στατιστική διαφορά. Παρατηρώντας την εξέλιξη της χρωματικής έντασης κατά την παλαίωση, στους οίνους αμπελώνα (A) εμφανίζεται μεγαλύτερη τιμή από αυτή του αμπελώνα (Γ). Η υπεροχή των παλαιωμένων οίνων (A) σε χρωματική ένταση ταυτίζεται με την υπεροχή τους σε ολικές φαινόλες έναντι αυτών που προέρχονται από τον αμπελώνα (Γ). Μπορεί, από τα παραπάνω να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι στα συγκεκριμένα δείγματα οι οίνου με υψηλότερες συγκεντρώσεις ολικών φαινολών, έχουν μεγαλύτερες χρωματικές εντάσεις, άρα πιο σκουρόχρωμους οίνους.



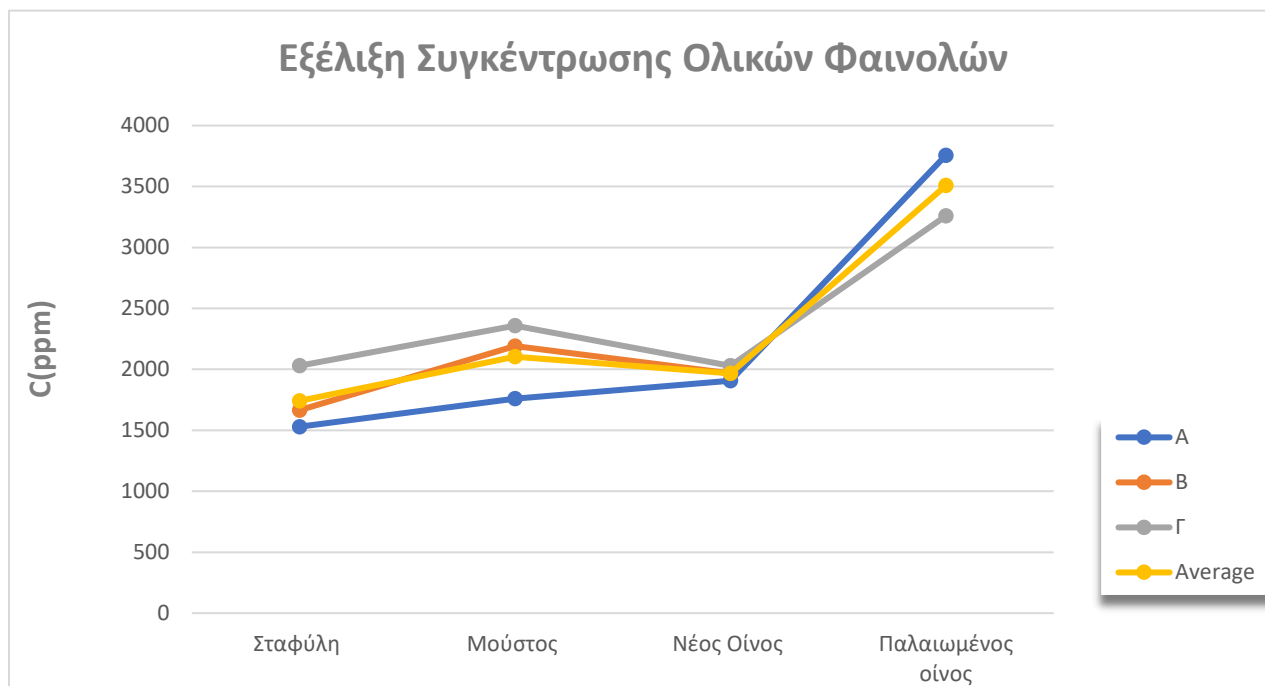
Διάγραμμα 32: Απόχρωση οίνων

Όσον αφορά τους φρέσκους οίνους, σε απόχρωση υπερέχουν αυτοί του αμπελώνα (Α), ακολουθούμενοι από (Γ) και (Β), κατάταξη η οποία προσομοιάζει αυτή των ολικών ανθοκυανών των αντίστοιχων δειγμάτων. Όσον αφορά την εξέλιξη της απόχρωσης και την τελική τιμή της, συγκρίνοντας τα δείγματα παλαιωμένων (Α) και (Γ), δεν υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά. Όμως, ενώ στο δείγμα (Γ) έχουμε υψηλότερη τιμή από τον αντίστοιχο φρέσκο οίνο, στο δείγμα (Α) εμφανίζεται χαμηλότερη. Αυτό μας οδηγεί στην υπόθεση πως κατά την παλαίωσή τους οι οίνοι (Γ) αποκτώντας εντονότερη τιμή απόχρωσης, μετατρέπουν το χρώμα τους σε πιο έντονα καφέ τόνους. Γνωρίζοντας πως οι καφέ τόνοι δεν αποτελούν επιθυμητή ένδειξη στην οπτική εξέταση ενός οίνου που έχει παλαιώσει για μικρό χρονικό διάστημα, όπως αυτοί που μελετάμε, καταλήγουμε στο ότι προτιμότερη είναι η εξέλιξη της απόχρωσης των οίνων από αμπελώνες (Α) από αυτούς των αμπελώνων (Γ).

Αναμφίβολα, το χρώμα και η μεταβολή του αποτελούν σημαντικά αισθητηριακά κριτήρια εκτίμησης του οίνου (Revilla et al., 2001). Οι μελετώμενοι οίνοι προορίζονται για διάθεση στην αγορά μετά από παλαίωση, οπότε εξετάζοντας τα στοιχεία των παλαιωμένων οίνων οδηγούμαστε σε συμπέρασμα σχετικά με το χρωματικό τους προφίλ. Και από τις δύο οπτικές μετρήσεις συνδυαστικά, καταλήγουμε στο ότι βέλτιστο επιθυμητό οπτικό αποτέλεσμα παρουσιάζουν οι οίνοι προερχόμενοι από τον αμπελώνα (Α) μετά από έναν χρόνο παλαίωσης έναντι αυτών του αμπελώνα (Γ), αφού αποτελούν οίνους με “βαθύτερο” και πιο “νεαρό” χρώμα.

4. Εξελικτικά στοιχεία

Βασιζόμενη στα δεδομένα των παραπάνω υποκεφαλαίων της ενότητας, ενδεικτικά, στα Διαγράμματα 33 και 34 φαίνεται η εξέλιξη των ολικών φαινολών και των ανθοκυανών του Ξινόμαυρου Νάουσας των τριών αμελοτοπιών ξεκινώντας από την πρώτη ύλη και εξετάζοντας τα προϊόντα κατόπιν των βασικών σταδίων της οινοποίησης.

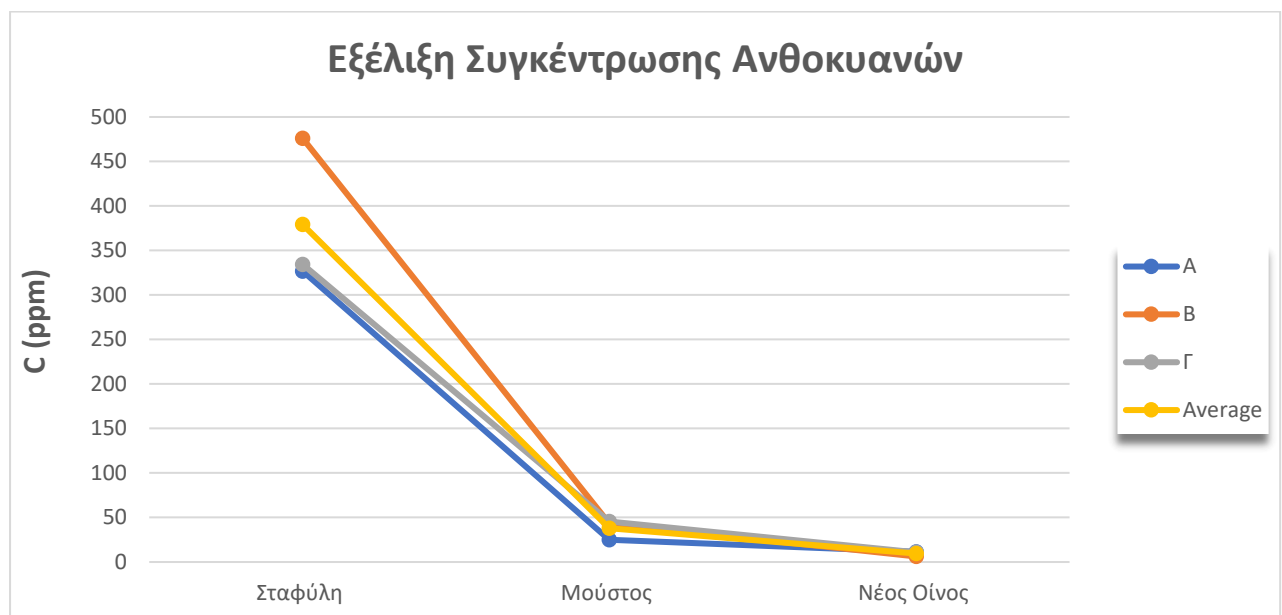


Διάγραμμα 23: Εξέλιξη συγκέντρωσης ολικών φαινολών

Όπως παρατηρείται, η τάση είναι γενικά αυξητική. Η πρώτη αύξηση στην τιμή, που εμφανίζεται από το σταφύλι στον μούστο, θα ήταν αδικαιολόγητο να συμβαίνει στην πραγματικότητα (δεν έχει γίνει προσθήκη επιπλέον φαινολικών, ούτε είναι δυνατόν να “πολλαπλασιαστούν” οι φαινόλες του αρχικού προϊόντος). Όμως, υπάρχουν πολλοί πιθανοί λόγοι οι οποίοι εξηγούν αυτή την εικονική αύξηση, καθώς το εν ζυμώσει γλεύκος αποτελεί ιδιαίτερα πολύπλοκο μίγμα. Ενδεικτικά αναφέρονται δύο. Πρώτον, οι συσκευές αποβοστρύχωσης πρακτικά δεν είναι δυνατόν να αφαιρούν το 100% των βοστρύχων, οι οποίοι περιέχουν φαινόλες που εκχυλίζονται στο γλεύκος επιπρόσθετα αυτών που προέρχονται από τα τμήματα της ράγας. Δεύτερον, όπως έχει προαναφερθεί στην περιγραφή της αρχής της μεθόδου Folin, με τη χρήση της μετράται η συνολική αναγωγική ικανότητα ενός δείγματος. Συνεπώς, στην περίπτωση του γλεύκους, προσμετρώνται εκτός των φαινολικών και τα αζύμωτα ανάγοντα σάκχαρα. Στη δεύτερη αύξηση, που παρατηρείται στη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών μεταξύ των φρέσκων και των παλαιωμένων οίνων, συμβάλλουν φαινόλες που έχουν εκχυλιστεί από το ξύλο των βαρελιών, όπως υδρολυόμενες τανίνες και κουμαρίνες (Παναγόπουλος, 2018). Είναι δυνατό να εκχυλιστούν στο κρασί έως και 300 mg ισοδύναμα γαλλικού οξέος ανά L υγρού μετά από παλαίωση σε

βαρέλι για έναν χρόνο (Pocock et al., 1994). Ακόμη, όπως έχει προαναφερθεί, οι συγκρίσεις μεταξύ των νέων και των παλαιωμένων οίνων δεν είναι άμεσες καθώς πρόκειται για διαφορετικές εσοδείες συγκομιδής το οποίο συνεπάγεται διαφορές στο τελικό προϊόν οι οποίες πολλές φορές είναι ιδιαίτερα σημαντικές. Σε αυτούς τους παράγοντες αποδίδεται η αυξημένη συγκέντρωση φαινολών που εμφανίζουν οι παλαιωμένοι οίνοι. Η σύσταση σε φαινολικά συστατικά επιδρά σημαντικά στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (χρώμα, γεύση, στυφάδα) του κρασιού και στις δυνατότητες παλαίωσής του. Για τον λόγο αυτό οι οινοποιητικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται και οι παράμετροι τους επιλέγονται με κύριο σκοπό να αποδώσουν μια επιθυμητή φαινολική σύσταση στο τελικό προϊόν (Kennedy et al., 2003).

Όσον αφορά τις ανθοκυάνες, η εξέλιξη, όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 34, έχει αντίθετη πορεία. Ο λόγος μείωσης της συγκέντρωσής τους από το σταφύλι στον μούστο είναι πως κατά την στιγμή της δειγματοληψίας (πρώτες ώρες μετά την προσθήκη ηκτηνολυτικού ενζύμου) η εκχύλισή τους στον υγρό όγκο βρίσκεται σε πολύ πρώιμο στάδιο. Η περαιτέρω μείωση που ακολουθεί από τον μούστο στον οίνο οφείλεται στην συμπλοκοποίηση των ελεύθερων ανθοκυανών η οποία συμβαίνει κατά την πορεία του χρόνου.



Διάγραμμα 24: Εξέλιξη συγκέντρωσης ανθοκυανών

Συμπεράσματα

Από τις αναλύσεις στα δείγματα Ξινόμαυρου των τριών αμπελώνων της Νάουσας για την εσοδεία του 2017 εξάγονται κάποια γενικά συμπεράσματα. Όσον αφορά τις κατά μέσο όρο ολικές φαινόλες στα μέρη της ράγας και κατ'επέκτασιν στο γλεύκος (μούστο) και τους παραγόμενους οίνους, εμφανίζονται σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις, χαρακτηριστικό της ποικιλίας. Συγκεκριμένα, οι συγκεντρώσεις αυτές ανέρχονται σε επίπεδο 1742 ppm επί σταφυλής, εκ των οποίων το 88% οφείλεται σε συμβολή των φλοιών που έχουν συγκέντρωση ολικών φαινολικών 1531 ppm επί νωπών φλοιών (25692 ppm επί ξηρών φλοιών), 7% παρέχεται από τη σάρκα με 153 ppm φαινολικών επί νωπής σαρκός και 5% αποδίδεται από τα γίγαρτα με συγκέντρωση 55502 ppm φαινολικών επί νωπών γιγάρτων, η οποία είναι η υψηλότερη των συγκεντρώσεων από τα τρία διαφορετικά τμήματα, και ποσοστό μεγαλύτερο του 50% αυτής αποδίδεται στις τανίνες των γιγάρτων. Στο νεοπαραληφθέν γλεύκος αμέσως μετά τη σύνθλιψη των σταφυλιών η μέση συγκέντρωση των ολικών φαινολών είναι 178,8 ppm. Μετά την προσθήκη σε αυτό του μείγματος θειϊκού αμμωνίου και πηκτινολυτικών ενζύμων, τα οποία καταλύουν την εκχύλιση των φαινολών από τα στερεά τμήματα σταφυλιού στο γλεύκος, η συγκέντρωση αυτή αυξάνεται κατά ποσοστό περί το 1125% σε 2103 ppm. Στους παραχθέντες οίνους οι ολικές φαινόλες έχουν μέση συγκέντρωση 1967 ppm και στους οίνους εσοδείας 2016 που έχουν παλαιώσει για διάστημα 12 μηνών σε δρύινα βαρέλια η συγκέντρωση αυτή ανέρχεται σε 3508 ppm, κατά 78% υψηλότερη.

Όσον αφορά τα επί μέρους φαινολικά συστατικά, οι ανθοκυάνες κατά κύριο λόγο παραλαμβάνονται στο γλεύκος (και κατ'επέκτασιν εξελίσσονται στον οίνο) από τους φλοιούς. Η μελέτη των ελεύθερων ανθοκυανών με τη μέθοδο της HPLC κατέδειξε πως η μέση συγκέντρωσή τους επί ξηρών φλοιών είχε ιδιαίτερα υψηλή τιμή, περί τα 6516 ppm (αντίστοιχα, 1864 ppm επί νωπών φλοιών), οι οποίες οφείλονται σε συμβολή 11 διαφορετικών ενώσεων με κυρίαρχους ποσοτικά τους 3-γλυκοζίτες της μαλβιδίνης (περί το 89% του συνόλου). Ανάγοντας την τιμή αυτή σε συγκέντρωση των ανθοκυανών επί σταφυλής, διαμορφώνεται σε 379 ppm επί νωπής σταφυλής ενώ στο γλεύκος διαμορφώνεται σε 37,94 ppm και στον οίνο σε 9,53 ppm. Η σταδιακή μείωση που παρατηρείται οφείλεται στον πολυμερισμό των ανθοκυανών προς δημιουργία συμπλόκων. Στη δημιουργία αυτών των συμπλόκων παίρνουν μέρος οι φλαβόνες, οι οποίες ταυτοποιήθηκαν με HPLC στους φλοιούς υπό την μορφή 5 διαφορετικών ενώσεων, με ποσοτικά κυρίαρχες αυτές της κερκετίνης (67% του συνόλου), δημιουργώντας συγκέντρωση ολικών φλαβονών επί ξηρών φλοιών στο ύψος των 666 ppm που αντιστοιχούν σε 179 ppm επί νωπών φλοιών.

Τέλος, συγκρίνοντας τα προϊόντα των τριών διαφορετικών αμπελοτοπιών (Α), (Β) και (Γ) μεταξύ τους, εντοπίστηκαν σε ορισμένα σημεία σημαντικές διαφοροποιήσεις. Τα σταφύλια από τον αμπελώνα (Α) έχουν κατά 12% χαμηλότερη συγκέντρωση ολικών φαινολών και κατά 46% χαμηλότερη συγκέντρωση φλαβονών στους φλοιούς τους και μόνο δύο ενώσεις φλαβονών αντί των άλλων δειγμάτων στα οποία εντοπίστηκαν πέντε είδη. Οι μούστοι των σταφυλιών (Α) υστερούν κατά 23% σε ολικές φαινόλες και κατά 44% σε ολικές ανθοκυάνες έναντι των άλλων δύο. Όμως, στους παλαιωμένους οίνους (Α) εμφανίστηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις ολικών φαινολών και ποιοτικότερα αποτελέσματα στις χρωματομετρήσεις έναντι των παλαιωμένων (Γ). Η διαφοροποίηση του αμπελώνα (Α) συγκριτικά με τους άλλους

δύο είναι το υψηλότερο υψόμετρό του. Συγκεκριμένα, βρίσκεται στα 180 m ενώ οι αμπελώνες (B) και (Γ) βρίσκονται αντίστοιχα στα 123 m και 140 m. Ακόμη, χωρίς να υποδηλώνεται σχέση αιτίου-αποτελέσματος, αναφέρεται πως ο τρύγος του αμπελώνα (A) προηγήθηκε κατά 8 h του τρύγου (Γ) και κατά 24 h του τρύγου (B). Όσον αφορά τα σταφύλια (B), υπερτερούν κατά 72% σε συγκέντρωση ολικών ανθοκυανών στους φλοιούς τους και κατά 44% σε συγκέντρωση ανθοκυανών επί σταφυλής, όμως υστερούν κατά 44% σε συγκέντρωση ελεύθερων ανθοκυανών στους οίνους. Ο αμπελώνας (B) διαφοροποιείται σε σχέση με τους άλλους δύο ως προς τον προσανατολισμό του. Ενώ οι αμπελώνες (A) και (Γ) έχουν νοτιοανατολικό προσανατολισμό, ο αμπελώνας (B) είναι βορειοανατολικός. Τα σταφύλια (Γ) είναι αυτά τα οποία υπερτερούν σε ποσοστό περί του 27% έναντι των άλλων δύο σε περιεκτικότητα ολικών φαινολών και από αυτά παράγονται το γλεύκος αλλά και ο οίνος με τις υψηλότερες τιμές συγκεντρώσεων ολικών φαινολών. Ακόμη, οι παραγόμενοι οίνοι (Γ) είναι αυτοί οι οποίοι συγκέντρωσαν την υψηλότερη βαθμολογία στην οργανοληπτική εξέταση αξιολόγησης της τυπικότητας Ξινόμαυρου (Παράρτημα, Εικόνες 8α, 8β, 8γ), όπως αυτή έγινε από εξειδικευμένο προσωπικό της εταιρείας Μπουτάρη.

Βιβλιογραφία

- Boulton R. B., Singleton V. L., Bisson L. F., Kunkee R. E., (1996), *Principles and Practices of Winemaking*, Springer science and business media inc., USA.
- Bramley R. G. V., (2010), Precision viticulture: managing vineyard variability for improved quality outcomes. Managing wine quality: Viticulture and wine quality, *Encyclopedia of agriculture and food systems*, Davis CA USA, pp. 445-480.
- Butler A. E., (1981), The specificity of proanthocyanidin-protein interactions, *The Journal of Biological Chemistry*, 256: pp. 4494-4497.
- Cacho J., Fernandez P., Ferreira V., Catell J. E., (1992), Evolution of five anthocyanidin-3-glucosides in the skin of Tempranillo, Moristel, and Granacha grape varieties and influence of climatological variables, *American Journal of Enology and Viticulture*, 43: pp. 244-248.
- Castillo-Muñoz N., Fernández-González M., Gómez-Alonso S., García-Romero E., Hermosín Gutiérrez I., (2009), Red-color related phenolic composition of Garnacha Tintorera (*Vitis vinifera* L.) grapes and red wines, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: pp. 7883–7891.
- Cliff M. A., King M. C., Schlosser J., (2006), Anthocyanin, phenolic composition, colour measurement and sensory analysis of BC commercial red wines, *Food Research International*, 40: pp. 92–100.
- Clingeffer P. R., Sommer K. J., Walker R.R., (1999), Holistic system approach for sustainable vineyard management for grape and wine quality, *10th Australian Wine Industry Technical Conference*, Sydney, New South Wales.
- Downey M. O., Mazza M., (2007), Development of a stable extract for anthocyanins and flavonols from grapes skin, *American journal of enology and viticulture*.
- Garrido J., Borges F., (2011), Wine and grape polyphenols-A chemical perspective, *Food Research International*, 44: pp. 3134-3148.
- Gómez A. M., López C., de la Ossa M. E., (1996), Recovery of grape seed oil by liquid and supercritical carbon dioxide extraction: a comparison with conventional solvent extraction, *The Chemical Engineering Journal and the Biochemical Engineering Journal*, 61: pp. 227-231.
- Gómez-Plaza E., Gil-Muñoz R., López-Roca J. M., Martínez A., (2000), Color and phenolic compounds of a young red wine. Influence of wine-making techniques, storage, temperature and length of storage time, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: pp. 736–741.
- Hall A., Lamb D., Holzapfel B., Louis J., (2002), Optical remote sensing applications in viticulture – A review, *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 8: pp. 36-47.

- Hall A., Louis J. P., Lamb D. W., (2008), Low – resolution remotely sensed images of winegrape vineyards map spatial variability in panimetric canopy area instead of leaf area index, *Australian Journal of Grape and Wine Reasearch*, 14: pp. 9-17.
- Hamilton R.P., (2007), Terroir and precision viticulture: Are they compatible?, *Journal International des Sciences de la Vigne et du vin*, 41: pp. 1-8.
- Harbertson J. F. E. A., (2003), Measurement of Polymeric Pigments in Grape Berry Extract and Wines Using a Protein Precipitation Assay Combined with Bisulfite Bleaching, *American Journal of Enology and Viticulture*, 54: pp. 301-306.
- Hartmann H. T., Kester D. E., Davies F. T. Jr., (1990), *Plant Propagation Principles and Practices*, Englewood Cliffs, New Jersey, Prentice Hall.
- Kapasakalidis P.G., Rastall R., (2006), Extraction of polyphenols from processed blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) residues, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: pp. 4016-4021.
- Keller M., (2005), Deficit irrigation and vine mineral nutrition, *American Journal of Enology and Viticulture*, 56: pp. 267-283.
- Kennedy J. A., (2008), Grape and wine phenolics: Observations and recent findings, *Ciencia e investigación agraria*, 35: pp. 77-90.
- Kennedy J. A., Peyrot des Gachons C., (2003), Direct method for determining seed and skin proanthocyanidin extraction into red wine, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: pp. 5877–5881.
- Koundouras S., Marinos V., Gkoulioti A., Kotseridis Y., Van Leewen 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: pp. 5077-5086.
- Llaudy M. C., R.C., (2004), New Method for Evaluating Astringency in Red Wine, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: pp. 742–746.
- Llobera A. J. C., (2007), Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem, *Food Chemistry*, Elsevier Ltd, pp. 659-666.
- Matese A., Di Gennaro S. F., Zaldei A., Genesio L., Vaccari F. P., (2009), A wireless sensor network for precision viticulture: The NAV system, *Computers and Electronics in Agriculture*, 69: pp. 51-58.
- Monagas M., Gomez-Cordoves C., Bartolome B., (2005), Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. during ageing in bottle, *Food Chemistry*, 95: pp. 405–412.
- Monagas M., Gomez-Cordoves C., Bartolome B., Laureano O., Ricardo Da Silva J. M., (2003), Monomeric, oligomeric and Polymeric Flavan-3-ol Composition of Wines and

Grapes from *Vitis vinifera* L. Cv. Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: pp. 6475-6481.

Pocock K. F., Sefton M. A., Williams P. J., (1994), Taste thresholds of phenolic extracts of French and American oakwood: The influence of oak phenols on wine flavor, *American Journal of Enology and Viticulture*, 45: pp. 429-434.

Revilla I., Gonzalez-SanJose M. L., (2001), Effect of different oak woods on aged wine color and anthocyanin composition, *European Food Research and Technology*, 213: pp. 281-285.

Rice A. C., (1976), Solid-waste generation and by-product recovery potential from winery residues, *American Journal of Enology and Viticulture*, 27: pp. 21-26.

Rowe R. N., (1993), Grapevine devigoration, *The Australian and New Zealand Wine Industry Journal*, 8: pp. 326-328.

Singleton V. L., Esau P., (1969), Phenolic substances in grapes and wines and their significance, *Advances in food research*, 1: pp. 1-261.

Smart R. E., Robinson J. B., Due G. R., Brien C. J., (1985), Canopy microclimate modification of the cultivar Shiraz. Effects on must and wine composition, *Vitis*, 24: pp. 119-128.

Smart R. E., Smith S. M., Winchester R. V., (1988), Light quality and quantity effects on fruit ripening for Cabernet Sauvignon, *American Journal of Enology and Viticulture*, 39: pp. 250-258.

Smith M. H., (2005), Analysis of grape and wine tannins: Methods, applications and challenges, *Australian Journal of Grape and Wine Research*, pp. 205-214.

Sovova H., Kucera J., Jez J., (1994), Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂ - II Extraction of grape oil, *Chemical Engineering Science*, 49: pp. 415-420.

Versari A., Boulton R. B., Parpinello G. P., (2007), A comparison of analytical methods for measuring the color components of red wines, *Food Chemistry*, 106: pp. 397-402.

Walker R.R., Blackmore D.H., Clingeleffer P.R., (1996), Salinity-vine vigour interactions and their effects on fruitfulness and yield of sultana on Ramsey rootstock and own roots, *Australian Dried Fruits Association News*, pp. 16-18.

Wang S., Okamoto G., Hirano K., Lu J., Zhang C., (2001), Effects of restricted rooting volume on vine growth and berry development of Kyoho grapevines, *American Journal of Enology and Viticulture*, 52: pp. 248-253.

Waterhouse A. L., (2005), Determination of total phenolics, *Handbook of food analytical chemistry*, John Wiley & Sons, pp. 463-471.

Αναστασοπούλου Άλκιστη Χ., (2018), Μεταπτυχιακή μελέτη: Επίδραση του ξεφυλλίσματος και του προσανατολισμού των γραμμών φύτευσης στη χημική σύσταση οίνων *Vitis vinifera* L. cv. Αγιωργήτικο, ΓΠΑ, Αθήνα

Βαλιάντζα Ελένη, (2018), Μεταπτυχιακή μελέτη: Επίδραση της άρδευσης στο φαινολικό περιεχόμενο των φλοιών κα των γιγάρτων σταφυλής της ποικιλίας Ξινόμαυρο, ΓΠΑ, Αθήνα.

Βλάχος Μ., (1986), *Αμπελουργία*, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη.

Βογιατζής Ιωάννης, (2005), Μελέτη: Επαναπροσδιορισμός των ζωνών Ο.Π.Α.Π. Νάουσας και Γουμένισσας, Ημαθία.

Γκουλιώτη – Αμπελά Άννα Ι., (2000), Διδακτορική διατριβή: Πτητικές ενώσεις της ποικιλίας σταφυλιών Ξινόμαυρο (Νάουσας). Ταυτοποίηση, ποσοτικός προσδιορισμός και παράγοντες που τις επηρεάζουν, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη.

Δημητρίου Σπύρος, (2015), Πτυχιακή εργασία: Τα φαινολικά συστατικά του κρασιού και η σημασία τους στην παραγωγή και παλαίωσή του, ΤΕΙ Πελοποννήσου, Καλαμάτα.

Δήμου Φ. Ευάγγελος, (2012), Μεταπτυχιακή ερευνητική μελέτη: Μελέτη των πτητικών συστατικών που συμμετέχουν στο άρωμα των οίνων από τις ερυθρές ποικιλίες Ξινόμαυρο και Μαυροτράγανο, ΓΠΑ, Αθήνα.

Καλλή Έλλη, (2008), Πτυχιακή εργασία: Τεχνολογία οίνου σε χώρες της Ευρώπης και τα οφέλη του οίνου στην υγεία του ανθρώπου, ΑΤΕΙ Κρήτης, Σητεία.

Καπόπουλος Βασίλειος, (2013), Πτυχιακή εργασία: Κατασκευή οινοποιείου (Μελέτη και μηχανολογικός εξοπλισμός) για την οινοποίηση σταφυλιών ολοκληρωμένης διαχείρισης στο Ζευγολατιό Μεσσηνίας και ανάπτυξη συστήματος διαχείρισης ποιότητας σύμφωνα με το πρότυπο ISO 9001:200, ΤΕΙ Πελοποννήσου, Καλαμάτα.

Καραμανίδου Ασημένια, (2008), Διπλωματική εργασία: Επίδραση της διαύγασης με χρήση πρωτεϊνών στα αναλυτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ερυθρών οίνων από τις ποικιλίες Αγιωργήτικο και Ξινόμαυρο, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη.

Καραολής Χριστόδουλος, (2017), Μεταπτυχιακή διατριβή: Επίδραση της άρδευσης στη φυσιολογία και στην ωρίμανση τεσσάρων ερυθρών οινοποιήσιμων ποικιλιών αμπέλου, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη.

Καρίμαλη Δέσποινα, (2018), Μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευσης: Χαρακτηρισμός πέντε Ελληνικών ποικιλιών ερυθρών οίνων και διαφοροποίησή τους με ενόργανη ανάλυση και χημειομετρία, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα.

Καρίμαλη Ηλιάνα, (2018), Διπλωματική εργασία: Χαρακτηρισμός τοπικών ποικιλιών σταφυλιών της Ικαρίας και μελέτη της ζύμωσής τους, ΕΜΠ, Αθήνα.

Κουράκου-Δραγωνά Σ., (1998), *Θέματα Οινολογίας*, Εκδόσεις: Τροχαλία.

Κουτσοδήμος Παναγιώτης, (2014), Μεταπτυχιακή διατριβή: Επίδραση θραυσμάτων δρυός στα χρωματικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας Αγιωργήτικο, ΓΠΑ, Αθήνα.

Κυραλέου Μαρία Σ., (2016), Διδακτορική διατριβή: Επίδραση αμπελουργικών τεχνικών στα συστατικά που διαμορφώνουν τον οργανοληπτικό χαρακτήρα των ερυθρών οίνων, ΓΠΑ, Αθήνα.

Μπατζιανούλης Ιωάννης, (2015), Μεταπτυχιακή Διατριβή: Χωρική παραλλακτικότητα φυσιολογικών χαρακτηριστικών και ποιότητας σταφυλής σε αμπελώνα, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

Μπιμπίλας Ανδρέας, (2017), Διδακτορική διατριβή: Επίδραση διεργασιών οινοποίησης στα φαινολικά συστατικά του οίνου, ΕΜΠ, Αθήνα.

Μυλωνά Αικατερίνη – Ευαγγελία, (2011), Διπλωματική εργασία: Μελέτη μεταβολών των ποιοτικών χαρακτηριστικών κατά την ζύμωση και παλαίωση του οίνου, ΕΜΠ, Αθήνα.

Παναγόπουλος Δημήτρης Θ., (2018), Πτυχιακή εργασία: Ο ρόλος της παλαίωσης του κρασιού και η επίδρασή της στα φαινολικά συστατικά, ΤΕΙ Πελοποννήσου, Καλαμάτα.

Ρούμπος Ι., (1996), *Σύγχρονη αμπελουργία. Βιολογική και ολοκληρωμένη αντιμετώπιση των εχθρών και ασθενειών της αμπέλου*, Βόλος, Εκδόσεις: ΩΡΕΣ.

Σαρηγιαννίδη Αλεξάνδρα, (2008), Μεταπτυχιακή διατριβή: Επίδραση του υποκειμένου στις υδατικές σχέσεις της ποικιλίας αμπέλου “Ξινόμαυρο”, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη.

Σουφλερός Ευάγγελος, (2000), *Οινολογία Επιστήμη και Τεχνογνωσία*, Θεσσαλονίκη, Δεύτερη έκδοση βελτιωμένη, Εκδόσεις: Σουφλερός Ηρ. Ευάγγελος.

Σταύρακας Δ., (2001), *Μαθήματα γενικής αμπελουργίας*, Θεσσαλονίκη, Τμήμα Εκδόσεων ΑΠΘ.

Σταύρακας Ευσταθ. Δημήτριος, (2015), *Αμπελογραφία*, Εκδόσεις ΖΗΤΗ, 2^η έκδοση.

Στουγιάννης Γεώργιος, (2009), Μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία: Εφαρμογή τεχνολογιών γεωργίας ακριβείας σε αμπελώνα, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

Τάσκος Γ. Δημήτρης, (2012), Διδακτορική Διατριβή: Αξιολόγηση της αζωτούχου θρέψης και της υδατικής κατάστασης της αμπέλου με την χρησιμοποίηση των σταθερών ισotόπων ¹³C και ¹⁵N και της φασματικής ανάκλασης, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη.

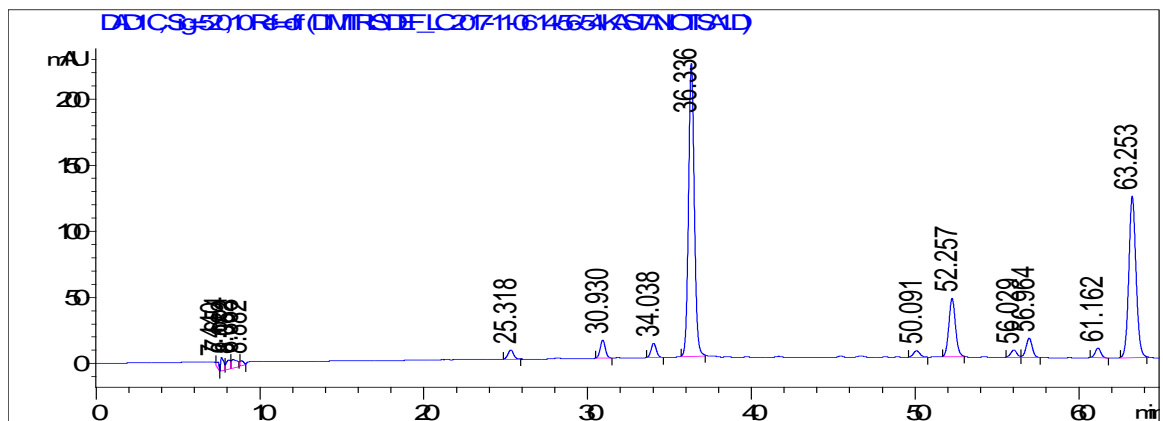
Τζίκος Νικόλαος, (2010), Μεταπτυχιακή διατριβή: Συμπεριφορά στο φυτώριο και τον αμπελώνα της ποικιλίας οινοποιίας “Ξινόμαυρο” εμβολιασμένης σε διάφορα υποκείμενα, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη.

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

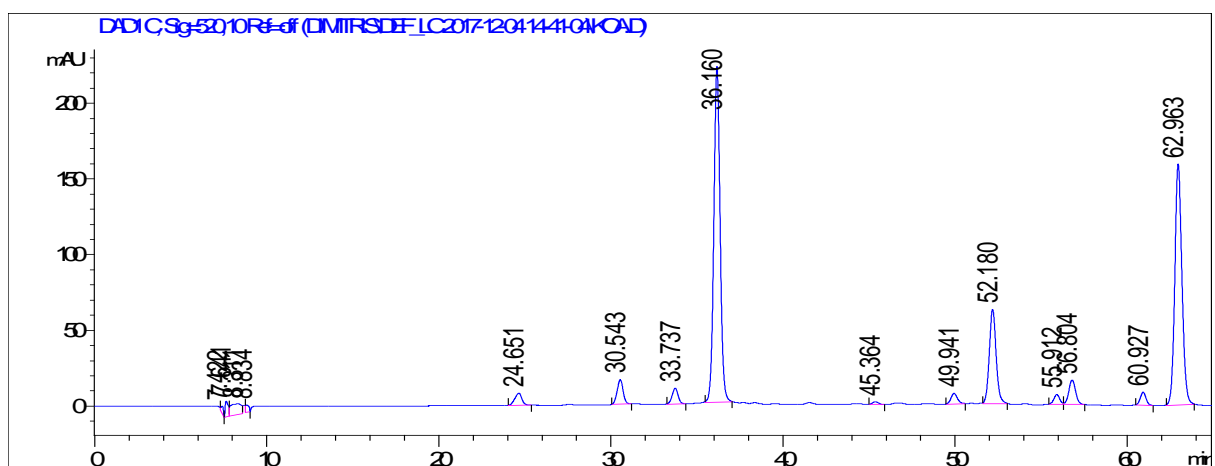
Τσανγκαράτος Γ. Παναγιώτης, (2020), Μεταπτυχιακή μελέτη: Μελέτη οινολογικού δυναμικού κλώνων ελληνικών ποικιλιών αμπέλου, ΓΠΑ, Αθήνα.

Τσέλεπος Άρης, (2015), Διπλωματική εργασία: Μελέτη της εξέλιξης των φαινολικών συστατικών του κρασιού κατά την οινοποίηση και την αποθήκευση σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, ΕΜΠ, Αθήνα.

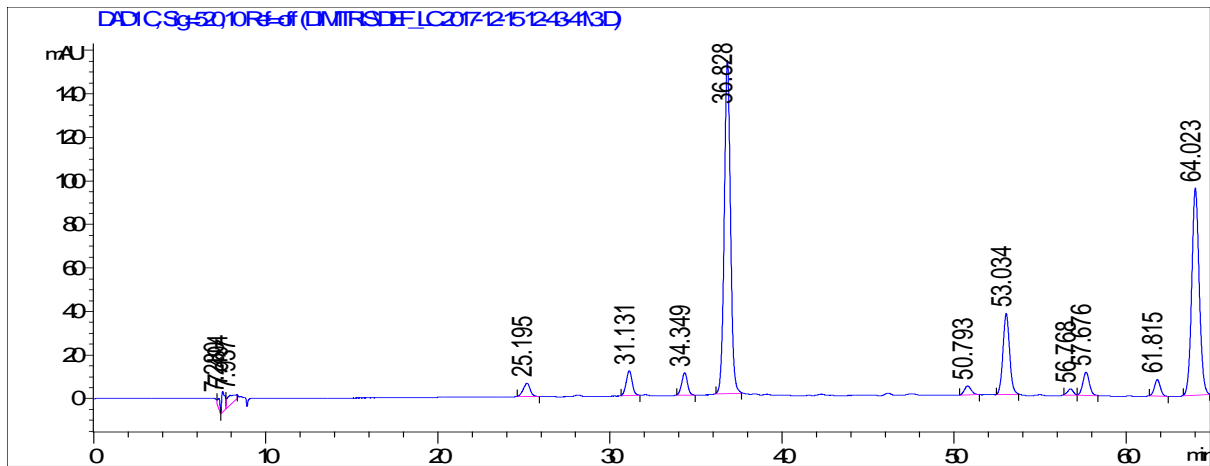
Παράρτημα



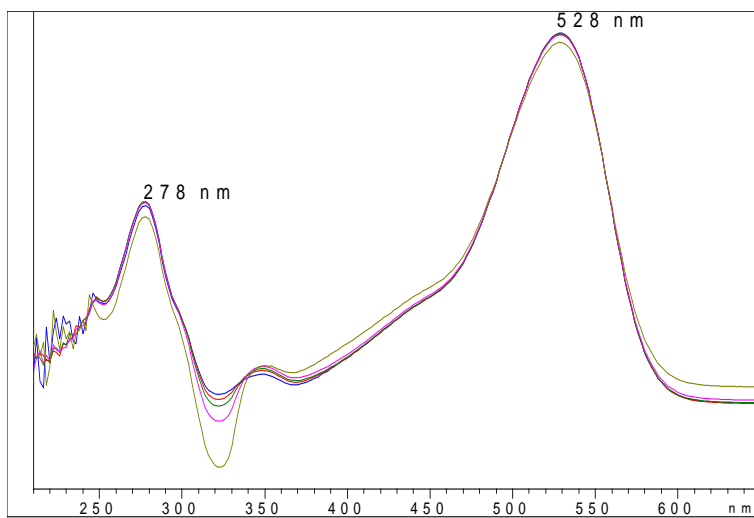
Εικόνα 1α: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm εκχυλίσματος φλοιών (A)



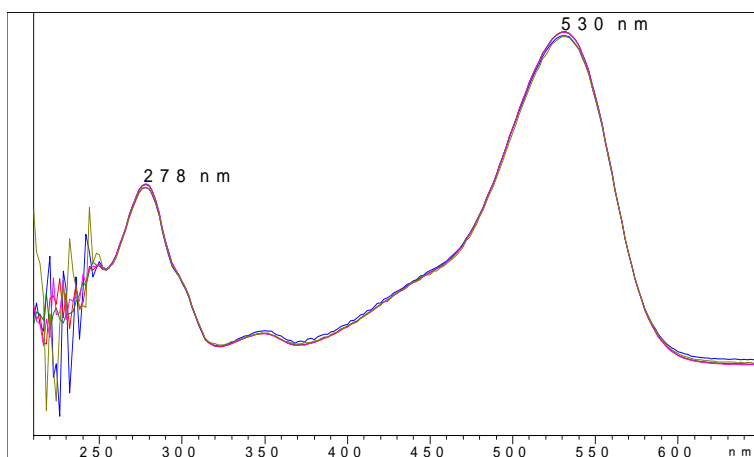
Εικόνα 1β: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm εκχυλίσματος φλοιών (B)



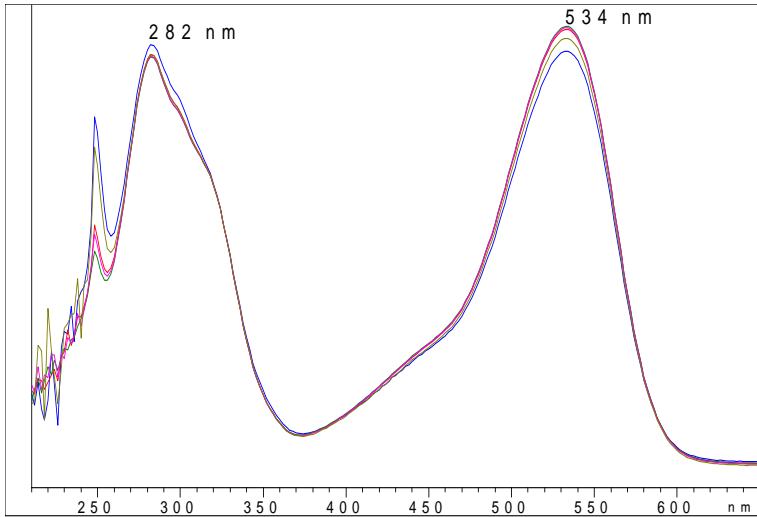
Εικόνα 1γ: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm εκχυλίσματος φλοιών (Γ)



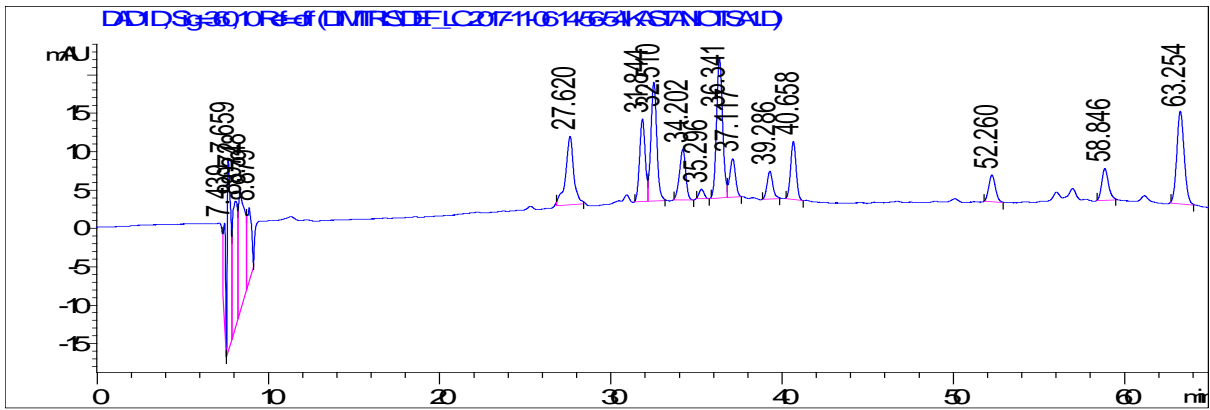
Εικόνα 2α: Φάσμα 3-γλυκοζίτη Μαλβιδίνης στα 37,95 min του δείγματος (Γ)



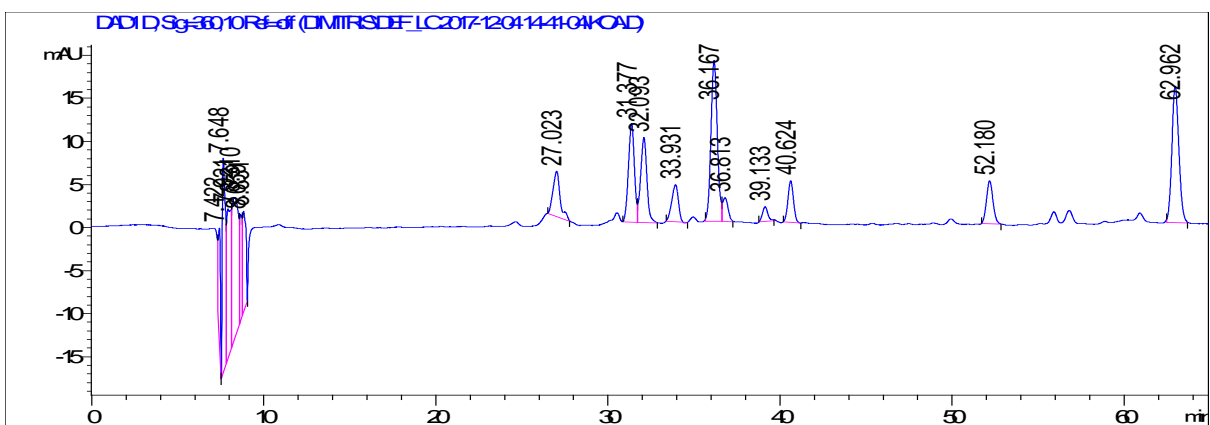
Εικόνα 2β: Φάσμα 3-(6''-καφέυλ)γλυκοζίτη Μαλβιδίνης στα 52,98 min του δείγματος (Γ)



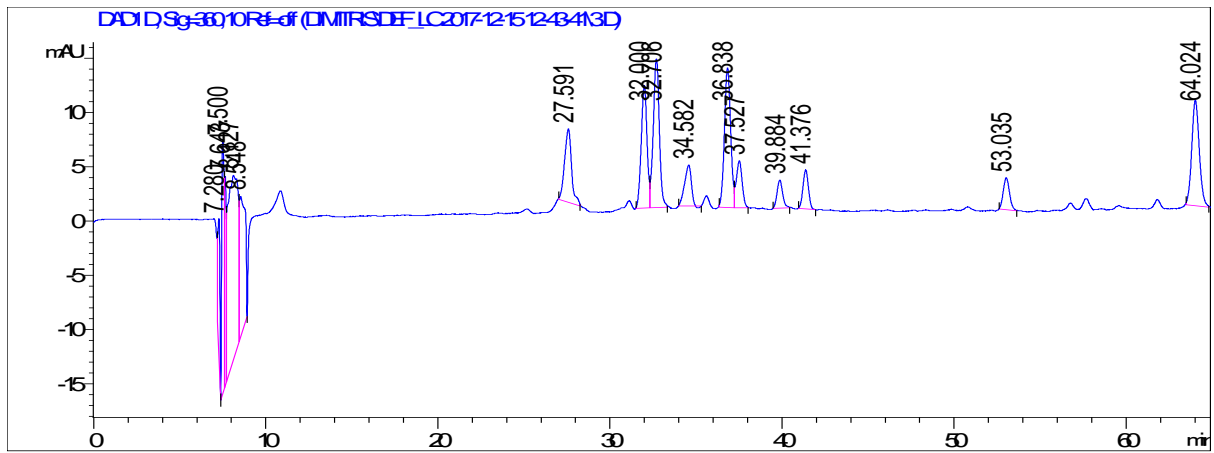
Εικόνα 2γ: Φάσμα 3-(6'' - transκουμάρυλ)γλυκοζιτη Μαλβιδίνης στα 64,03 min του δείγματος (Γ)



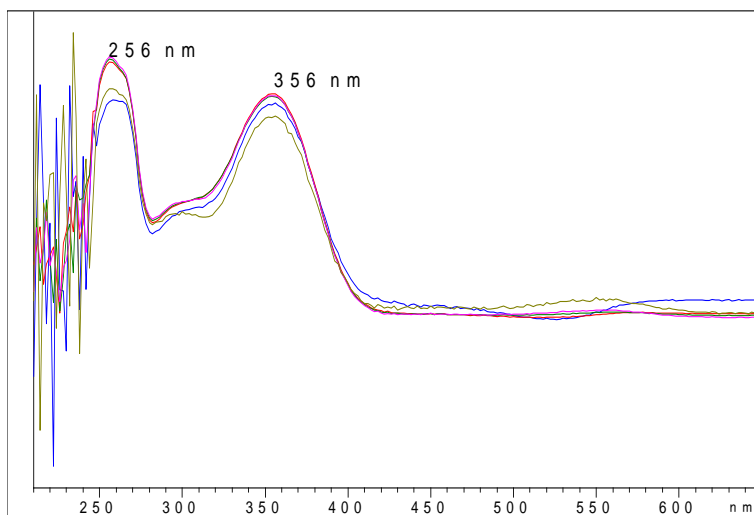
Εικόνα 3α: Χρωματογράφημα HPLC στα 360 nm εκχυλίσματος φλοιών (A)



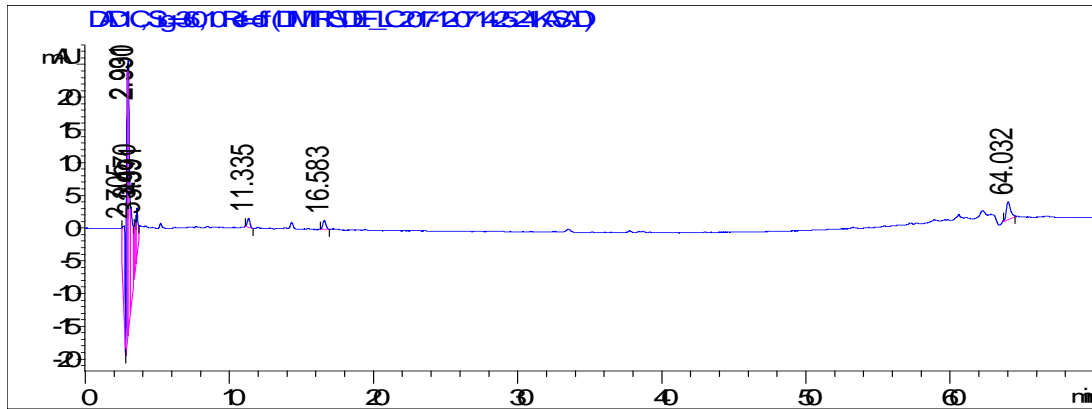
Εικόνα 3β: Χρωματογράφημα HPLC στα 360 nm εκχυλίσματος φλοιών (B)



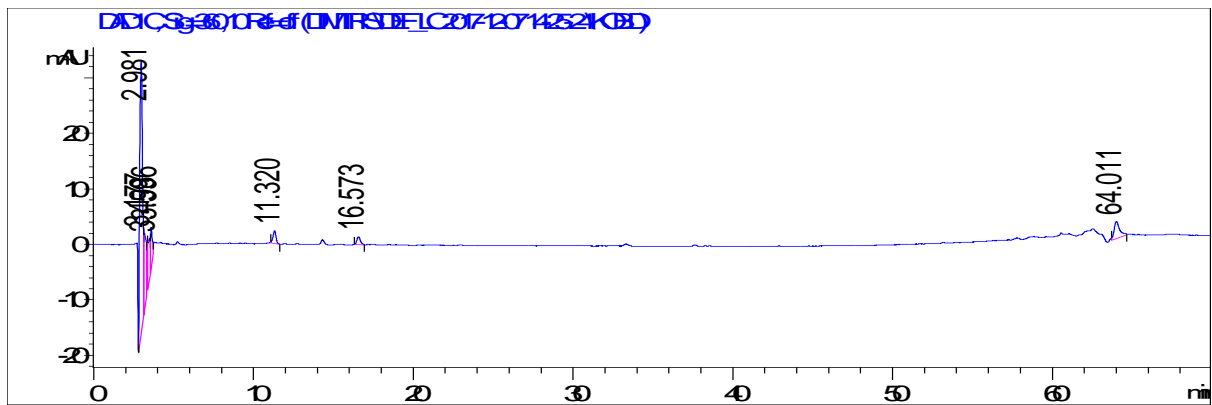
Εικόνα 3γ: Χρωματογράφημα HPLC στα 360 nm εκχυλίσματος φλοιών (Γ)



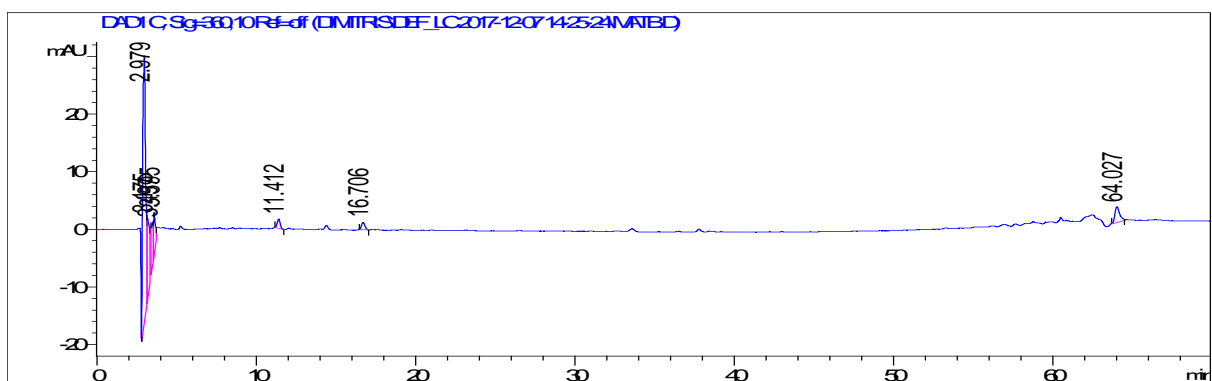
Εικόνα 4: Φάσμα 3- γλυκουρονιδίου Κερκετίνης στα 31,95 min του δείγματος (Γ)



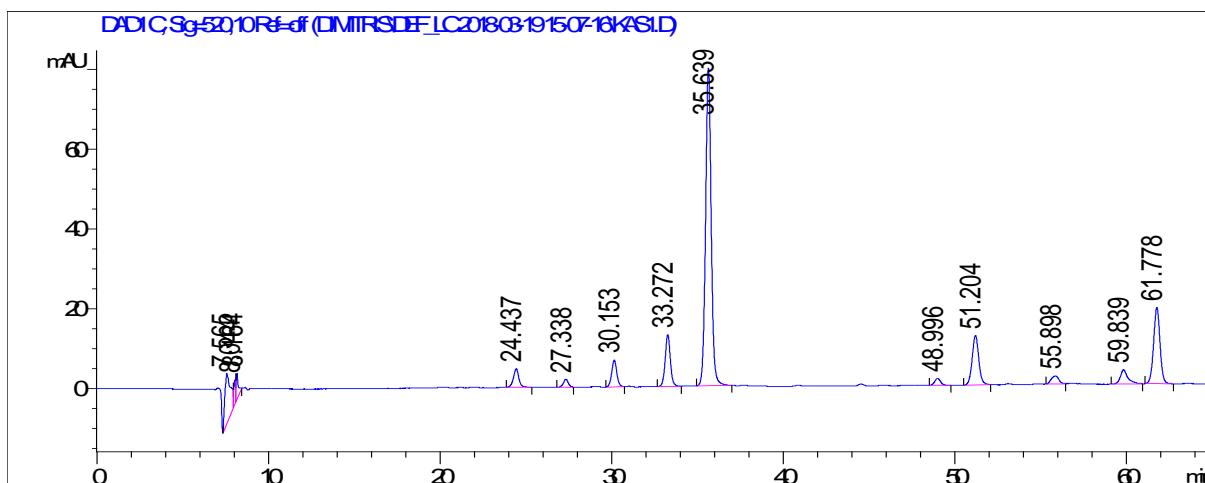
Εικόνα 5α: Χρωματογράφημα HPLC στα 360 nm εκχυλίσματος σάρκας (Α)



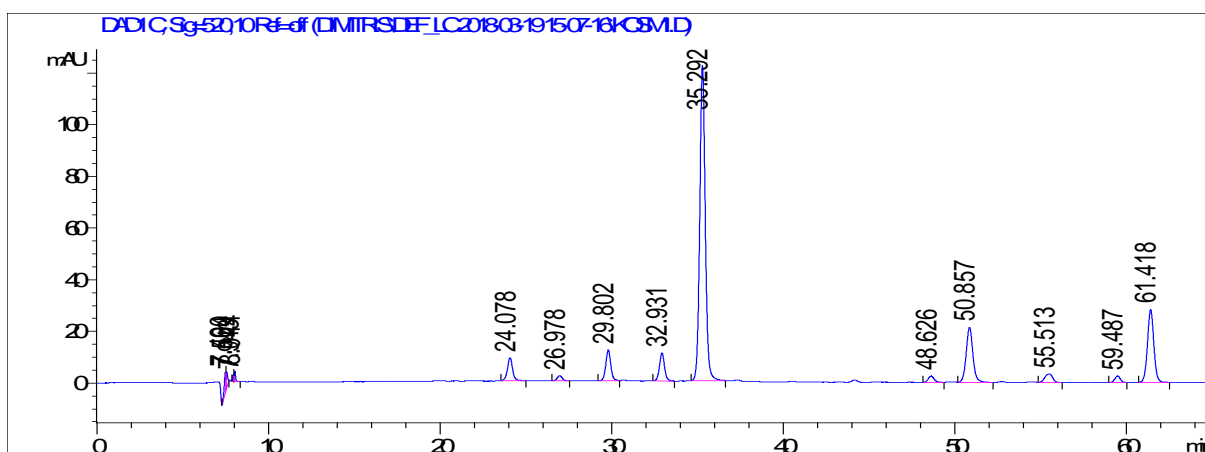
Εικόνα 5β: Χρωματογράφημα HPLC στα 360 nm εκχυλίσματος σάρκας (Β)



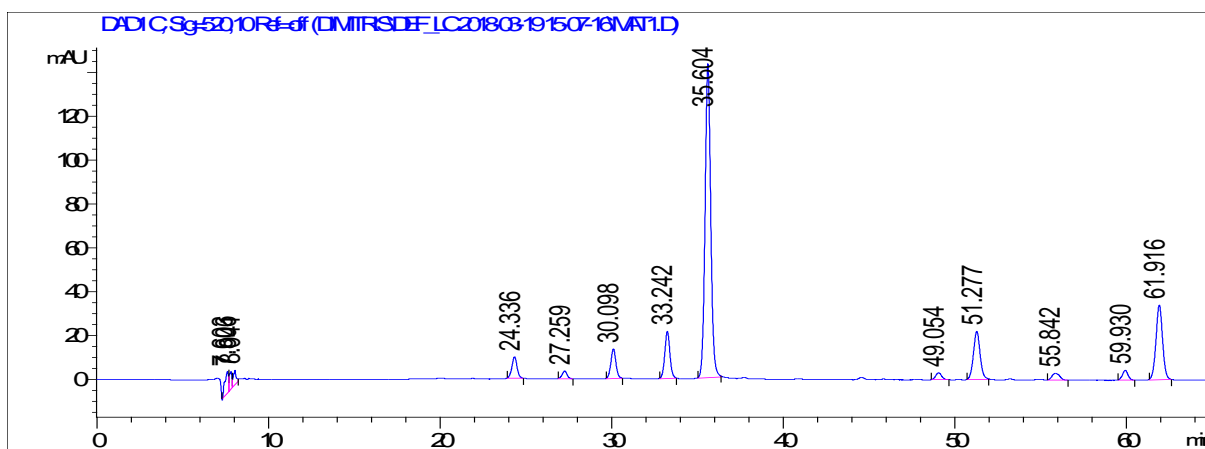
Εικόνα 5γ: Χρωματογράφημα HPLC στα 360 nm εκχυλίσματος σάρκας (Γ)



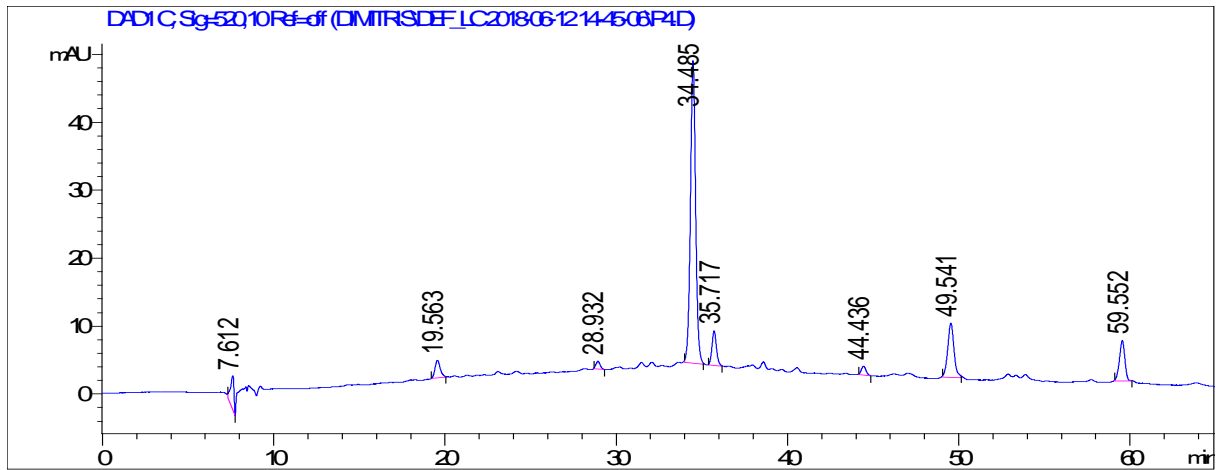
Εικόνα 6α: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm μούστου (Α)



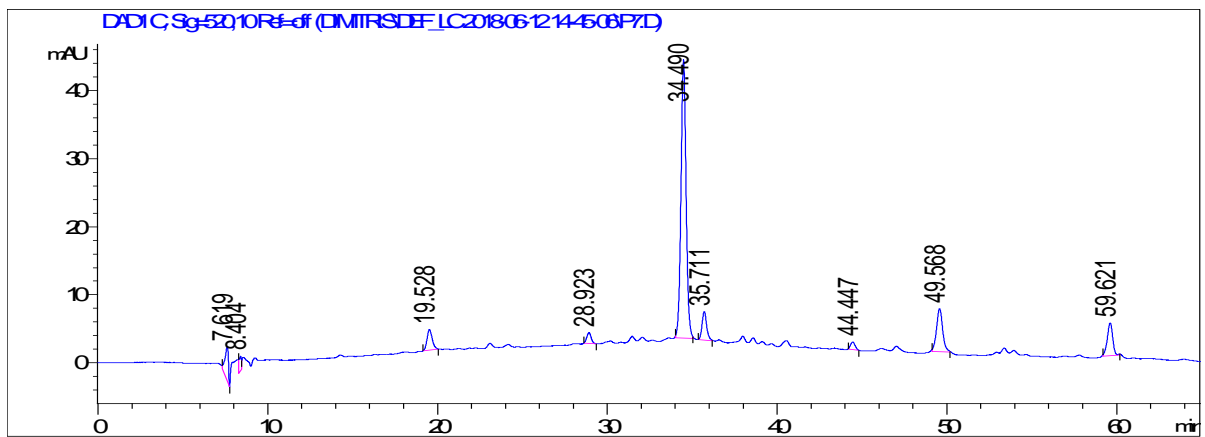
Εικόνα 6β: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm μούστου (Β)



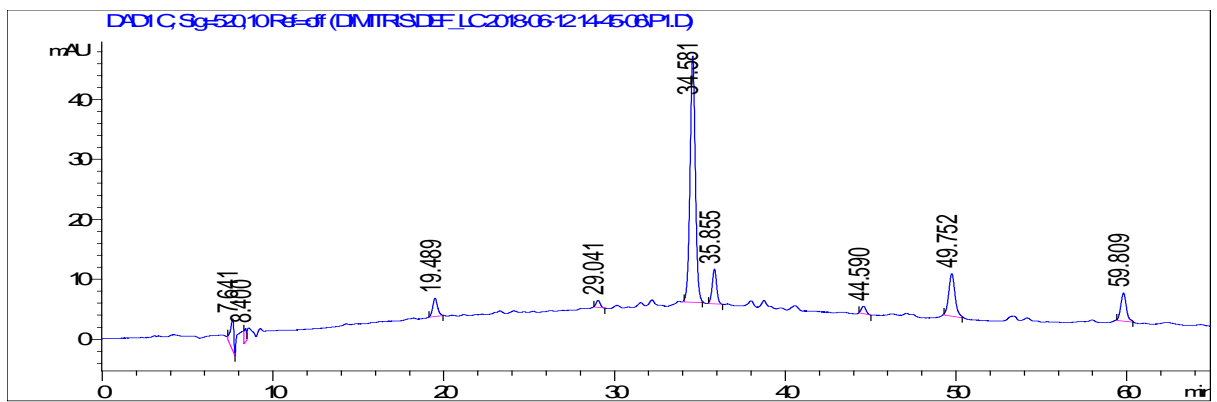
Εικόνα 6γ: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm μούστου (Γ)



Εικόνα 7α: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm οίνου (Α)



Εικόνα 7β: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm οίνου (Β)



Εικόνα 7γ: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm οίνου (Γ)

		Ανεπαρκές	Ικανοποιητικό	Καλό	Πολύ Καλό	Εξαιρετικό
Οπτική εξέταση	Ένταση Χρώματος	2	4	6	8	10
Οσφρητική εξέταση	Φρουτώδεις χαρακτήρας	3	6	9	12	15
	Χορτώδεις χαρακτήρας (όσο πιο χορτώδεις τόσο χαμηλότερη βαθμ)	Πολύ χορταριά 2	Αρκετή χορταριά 4	Μέτρια χορταριά 6	Ήπια χορταριά 8	Καθόλου χορταριά 10
	Χαρακτήρας ΞΙΝΟΜΑΥΡΟΥ (ΤΥΠΚΟΤΗΤΑ)	3	6	9	12	15
	Ένταση	1	2	3	4	5
Γευστική εξέταση	Αντίληψη “άδειας δομής” ⇒ Αντίληψη “γεμάτης δομής”	3	6	9	12	15
	“Στεγνή / στυφή” ⇒ Αντίληψη “απαλής δομής”	2	4	6	8	10
	Διάρκεια	2	4	6	8	10
Γενική εντύπωση	Αρμονία	2	4	6	8	10

ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ 20-40 ΔΕΝ ΠΛΑΙΡΝΕΙ ΚΑΤΑΤΑΣΗ, 41-60 ΚΑΛΟ, 61-80 ΠΟΛΥ ΚΑΛΟ, 81-100 ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΟ

ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ:.....53.....

Δοκιμαστής: ΓΕΩΡΓΙΟΥ – ΤΣΙΛΗΣ -ΤΑΣΚΟΣ

Εικόνα 8α: Βαθμολογία οργανοληπτικής εξέτασης οίνου (Α)

		Ανεπαρκές	Ικανοποιητικό	Καλό	Πολύ Καλό	Εξαιρετικό
Οπτική εξέταση	Ένταση Χρώματος	2	4	6	8	10
Οσφρητική εξέταση	Φρουτώδεις χαρακτήρας	3	6	9	12	15
	Χορτώδεις χαρακτήρας (όσο πιο χορτώδεις τόσο χαμηλότερη βαθμ)	Πολύ χορταριά 2	Αρκετή χορταριά 4	Μέτρια χορταριά 6	Ήπια χορταριά 8	Καθόλου χορταριά 10
	Χαρακτήρας ΞΙΝΟΜΑΥΡΟΥ (ΤΥΠΚΟΤΗΤΑ)	3	6	9	12	15
	Ένταση	1	2	3	4	5
Γευστική εξέταση	Αντίληψη “άδειας δομής” ⇒ Αντίληψη “γεμάτης δομής”	3	6	9	12	15
	“Στεγνή / στυφή” ⇒ Αντίληψη “απαλής δομής”	2	4	6	8	10
	Διάρκεια	2	4	6	8	10
Γενική εντύπωση	Αρμονία	2	4	6	8	10

ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ 20-40 ΔΕΝ ΠΛΑΙΡΝΕΙ ΚΑΤΑΤΑΣΗ, 41-60 ΚΑΛΟ, 61-80 ΠΟΛΥ ΚΑΛΟ, 81-100 ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΟ

ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ:.....80.....

Δοκιμαστής: ΓΕΩΡΓΙΟΥ – ΤΣΙΛΗΣ -ΤΑΣΚΟΣ

Εικόνα 8β: Βαθμολογία οργανοληπτικής εξέτασης οίνου (Β)

		Ανεπαρκές	Ικανοποιητικό	Καλό	Πολύ Καλό	Εξαιρετικό	
Οπτική εξέταση	Ένταση Χρώματος	2	4	6	8	10	
Οσφρητική εξέταση	Φρουτώδες χαρακτήρας	3	6	9	12	15	
	Χορτώδες χαρακτήρας (όσο πιο χορτώδες τόσο χαμηλότερη βαθμ)	Πολύ χορταρίλα	2	4	6	8	10
		Χαρακτήρας ΞΙΝΟΜΑΥΡΟΥ (ΤΥΠΚΟΤΗΤΑ)	3	6	9	12	15
	Ένταση	1	2	3	4	5	
Γευστική εξέταση	Αντίληψη “άδειας δομής” ⇒ Αντίληψη “γεμάτης δομής”	3	6	9	12	15	
	“Στεγνή / στυφή” ⇒ Αντίληψη “απαλής δομής”	2	4	6	8	10	
	Διάρκεια	2	4	6	8	10	
Γενική εντύπωση	Αρμονία	2	4	6	8	10	

ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ 20-40 ΔΕΝ ΠΑΙΡΝΕΙ ΚΑΤΑΤΑΞΗ, 41-60 ΚΑΛΟ, 61-80 ΠΟΛΥ ΚΑΛΟ, 81-100 ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΟ

ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ:.....84.....

Δοκιμαστής: ΓΕΩΡΓΙΟΥ – ΤΣΙΛΗΣ -ΤΑΣΚΟΣ

Εικόνα 8γ: Βαθμολογία οργανοληπτικής εξέτασης οίνου (Γ)