

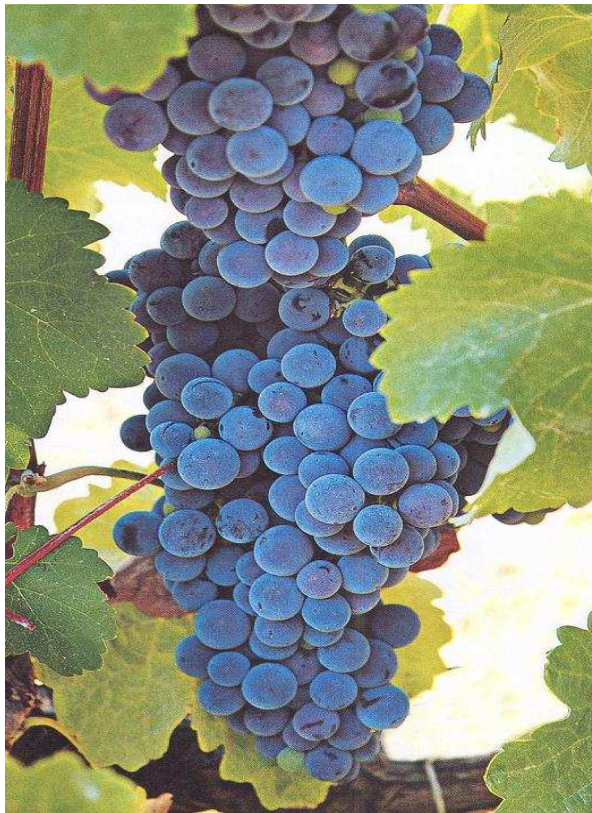


Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο
Σχολή Χημικών Μηχανικών

Τομέας IV: Σύνθεσης και Ανάπτυξης Βιομηχανικών Διαδικασιών
Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μελέτη Μεταβολών των Ποιοτικών Χαρακτηριστικών κατά τη Ζύμωση και
Ωρίμανση του Οίνου



Αικατερίνη-Ευαγγελία Μυλωνά

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:
Βασιλική Ωραιπούλου

ΑΘΗΝΑ, Οκτώβριος 2011

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Τα πειράματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του τομέα Σύνθεσης και Ανάπτυξης Βιομηχανικών Διεργασιών της σχολής Χημικών Μηχανικών του Ε.Μ.Π..

Η επιβλέπουσα καθηγήτρια της εργασίας αυτής ήταν ο κα. Βασιλική Ωραιοπούλου, την οποία θα ήθελα να ευχαριστήσω για την ανάθεση της εργασίας αυτής, για την καθοδήγησή της και τις χρήσιμες υποδείξεις της κατά την ερευνητική μου προσπάθεια.

Ιδιαίτερος θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες προς τον διδάκτορα Δημήτρη Τσιμογιάννη για την πολύτιμη βοήθεια του και την υπομονή του.

Ακόμα οφείλω να ευχαριστήσω και τον οινοπαραγωγό Απόστολο Μούντριχα (Κτήμα Αβαντίς) για την προσφορά της πρώτης ύλης που μελετήθηκε στην παρούσα εργασία (σταφύλια, γλεύκος και οίνος *Μαυροκουντούρας*).

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλο το προσωπικό του εργαστηρίου για την προσφορά της βοήθεια τους όποτε τη χρειάζομαι αλλά και τους συμφοιτητές μου για το εξαιρετικό κλίμα συνεργασίας που υπήρχε. Όπως επίσης και το προσωπικό του Οριζόντιου Εργαστηρίου για τη βοήθεια του κατά την πραγματοποίηση των αναλύσεων στο σύστημα LC-MS.

Τέλος, πρέπει να ευχαριστήσω ιδιαίτερος την οικογένειά μου αλλά και τους φίλους μου, για την δύναμη που πάντα μου δίνουν και τη στήριξη προς την επίτευξη κάθε στόχου μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο οίνος είναι ένα αλκοολούχο ποτό ιδιαίτερου ενδιαφέροντος και αποτελεί προϊόν της ζύμωσης των σταφυλιών ή του χυμού τους. Το ενδιαφέρον για το προϊόν αυτό έγκειται αφενός στο ότι είναι ένα δημοφιλές ποτό που συνοδεύει και ενισχύει ένα ευρύ φάσμα ευρωπαϊκών και μεσογειακών γεύσεων, και αφετέρου γιατί αποτελεί σημαντικό γεωργικό προϊόν αντικατοπτρίζοντας την ποικιλία του εδάφους και το κλίμα ενός τόπου. Επιλέχθηκε ο κλώνος της ποικιλίας *Μανδηλαριάς, Μαυροκουντούρα Κύμης*, τόσο λόγω της ιστορικής της σημασίας για την περιοχή αυτή, όσο και για την μεγάλη θεωρούμενη δυνατότητα παλαίωσης και το έντονο κόκκινο χρώμα της (σχεδόν μαύρο), δείγμα της υψηλής περιεκτικότητάς της σε φαινολικές ενώσεις.

Οι φαινολικές ενώσεις στον οίνο περιλαμβάνουν μία μεγάλη ομάδα ενώσεων οι οποίες επηρεάζουν τη γεύση, το χρώμα και την στυφάδα του οίνου. Διαιρούνται σε δύο κατηγορίες στις φλαβονοειδείς, όπου περιλαμβάνονται οι ανθοκυάνες (χρώμα) και οι ταννίνες (στυφάδα), και στις μη φλαβονοειδείς φαινόλες. Οι ενώσεις αυτές φθάνουν από το σταφύλι στον οίνο μέσω της ζύμωσης του γλεύκους, όπου η χρησιμοποίηση διαφορετικής θερμοκρασίας ή ζύμης θα μπορούσε να επηρεάσει το τελικό προϊόν. Επίσης οι φαινολικές ενώσεις μεταβάλλονται έντονα κατά την ωρίμανση/παλαίωση του οίνου και είναι επιρρεπείς σε οξειδώσεις, και έτσι η χρησιμοποίηση των τροποποιημένων ατμοσφαιρών για τη συσκευασία του οίνου παρουσιάζει μια ενδιαφέρουσα εφαρμογή στην αποθήκευσή του.

Για να προσδιοριστεί το πόσο και πώς συνεισφέρει το κάθε μέρος της ρώγας στο τελικό φαινολικό περιεχόμενο του οίνου, οι φαινολικές ενώσεις εκχυλίστηκαν σε διάλυμα μεθανόλης-μυρμηγκικού οξέος. Μελετήθηκε η διαφοροποίηση των φαινολικών ενώσεων στο τελικό προϊόν του οίνου σε διαφορετική θερμοκρασία ζύμωσης (22°C και 26°C) και με διαφορετικό είδος ζύμης (Fermol, Zymaflore, χωρίς ζύμη) καθώς και η μεταβολή των ενώσεων αυτών κατά την ωρίμανση/παλαίωση (Κενό, CO₂, N₂-CO₂, N₂) συγκεκριμένης παραγωγής οίνου (22°C-Zymaflore). Οι ταννίνες των δειγμάτων καταβυθίστηκαν με αλβουμίνη (BSA). Παραλήφθηκαν οι προανθοκυανιδίνες μέσω όξινης υδρόλυσης. Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο και οι ταννίνες μετρήθηκαν με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος. Τα αναγωγικά σάκχαρα μετρήθηκαν με τη μέθοδο DNS. Μετρήθηκαν οι αλκοολικοί βαθμοί και η πτητική οξύτητα. Οι χρωματομετρήσεις έγιναν μέσω του φάσματος στο ορατό φως των δειγμάτων και με χρωματόμετρο Minolta. Μια πρώτη ταυτοποίηση των ανθοκυανών και ποσοτικοποίηση ως ισοδύναμα μαλβιδίνης έγινε με HPLC. Περαιτέρω ταυτοποίηση των ανθοκυανών/ανθοκυανιδινών έγινε με LC-MS.

Το μέγεθος της ρώγας της *Μαυροκουντούρας* φάνηκε ότι είναι μικρότερο έναντι του σύνηθες για την *Μανδηλαριά* και επίσης βρέθηκε ότι τα γίγαρτα περιέχουν μεγαλύτερο ποσοστό ελαίου. Διαπιστώθηκε ότι οι κύριες ανθοκυάνες που περιέχονται είναι οι Malvidin 3-O-glucoside και Malvidin 3-O-p-coumaroylglucoside, οι οποίες στο σύνολο τους απαντώνται στο φλοιό. Οι ταννίνες διαπιστώθηκε ότι αποτελούνται από κυανιδίνη ("δείκτες μονομερών κατεχινών") και το σύνολο τους απαντάται στα γίγαρτα. Οι σάρκες φάνηκε να είναι γενικά φτωχές σε φαινολικές ενώσεις. Το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο της ρώγας *Μαυροκουντούρας* είναι ιδιαίτερα υψηλό.

Οι διαφορετικές συνθήκες οινοποίησης που εφαρμόστηκαν (θερμοκρασία, ζύμη) φάνηκε να μην επηρεάζουν σημαντικά το χρώμα, τους αλκοολικούς βαθμούς και την πτητική οξύτητα του οίνου. Οι κύριες ανθοκυάνες που παρατηρήθηκαν σε κάθε περίπτωση στον οίνο *Μαυροκουντούρας* ήταν ίδιες με αυτές του σταφυλιού, με μία επιπλέον η οποία διαπιστώθηκε ότι είναι κάποιος γλυκοζίτης της δελφινιδίνης, αποτέλεσμα της δράσης των ζυμών. Η ποσοτική σειρά κατάταξης των κύριων ανθοκυανών βρέθηκε να είναι: Malvidin 3-O-glucoside (20,61-25,88 ppm ισοδύναμα Μαλβιδίνης), Delphinidin glucoside (5,86-7,41 ppm ισοδύναμα Μαλβιδίνης) και Malvidin 3-O-p-coumaroylglucoside (4,50-6,21 ppm ισοδύναμα Μαλβιδίνης).

Κατά την ωρίμανση/παλαίωση του οίνου φάνηκε ότι το χρώμα μεταβάλλεται κατά την αποθήκευση ανάλογα με το χρόνο αποθήκευσης σε κάθε συνθήκη αποθήκευσης (dA%, E μειώνεται, CI αυξάνεται). Το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο σε κάθε περίπτωση στον οίνο *Μαυροκουντούρας* αυξήθηκε κατά την ωρίμανση/παλαίωσή του με διαφορετική πορεία μεταβολής ανάλογα με τη συνθήκη αποθήκευσης, όπως και οι περιεχόμενες ταννίνες. Ο οίνος παρουσίασε μετά την αποθήκευση ιδιαίτερα υψηλό φαινολικό περιεχόμενο σε σχέση με πολλούς τύπους ξένου ή ελληνικού οίνου, ακόμα και άλλων κλώνων της *Μανδηλαριάς*. Όλες οι κύριες ανθοκυάνες στον οίνο μειώθηκαν με τον ίδιο τρόπο ανάλογα με το χρόνο ωρίμανσης/παλαίωσης και ανάλογα με την κάθε συνθήκη αποθήκευσης του. Οι παραπάνω μεταβολές των μελετούμενων φαινολικών ενώσεων και του χρώματος, μπορούν να εξηγηθούν καθώς τα μονομερή των ανθοκυανών μπορούν να συμμετέχουν σε πολλές αντιδράσεις συμπύκνωσης (πολυμερή) κατά την αποθήκευση όπως και σε υδρολυτικές και άλλες αντιδράσεις αποικοδόμησής τους σε μικρότερο βαθμό.

Τα αποτελέσματα της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας μπορούν να βρουν εφαρμογή στα ακόλουθα: ως παράγοντες για την ταυτοποίηση του κλώνου *Μαυροκουντούρα Κύμης*, στην παραγωγή οίνου τόσο από το συγκεκριμένου κλώνο όσο και από άλλες ποικιλίες και κλώνους, αλλά ακόμα και σε εφαρμογές που αφορούν σε άλλους κλάδους πέρα της οινοποιίας, όπως για παράδειγμα της ιατρικής λόγω της πιθανής αντιοξειδωτικής δράσης των περιεχόμενων φαινολικών ενώσεων του οίνου.

Μια μελλοντική ερευνητική προσπάθεια θα μπορούσε να συμπεριλάβει την πλήρη ταυτοποίηση όλων των ανθοκυανών στο σταφύλι και τον οίνο *Μαυροκουντούρα Κύμης*, τη μελέτη της μεταβολής των φαινολικών ενώσεων για μεγαλύτερο χρόνο αποθήκευσης, τη μελέτη του πιθανού διαφορετικού οργανοληπτικού χαρακτήρα του οίνου τόσο σε διαφορετικές περιπτώσεις ζύμωσης όσο και σε διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης (ή και σε συνδυασμό τους). Επίσης θα μπορούσε να μελετηθεί η αντιοξειδωτική δράση των περιεχόμενων φαινολικών ενώσεων στο σταφύλι και τον οίνο *Μαυροκουντούρα Κύμης*. Αντίστοιχη έρευνα θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί για διαφορετικές ποικιλίες και κλώνους σταφυλιών.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1ο: ΑΜΠΕΛΙ-ΣΤΑΦΥΛΙ.....	12
1.1 Ιστορικά Στοιχεία για το Αμπέλι:.....	12
1.2 Κλώνοι:.....	13
1.3 Μορφολογία του Σταφυλιού:.....	13
1.4 Ωρίμανση του σταφυλιού:.....	14
1.5 Βιοχημική εξέταση της ωρίμανσης:.....	15
1.5.1 Αύξηση του μεγέθους της ρώγας:.....	15
1.5.2 Εξέλιξη των σακχάρων:.....	15
1.5.3 Εξέλιξη των οργανικών οξέων:.....	16
1.5.4 Εξέλιξη των ανόργανων συστατικών:.....	16
1.5.5 Εξέλιξη των φαινολικών συστατικών:.....	16
1.6 Υπερωρίμανση:.....	16
1.6.1 Φυσική Υπερωρίμανση:.....	17
1.6.2 Τεχνητή υπερωρίμανση:.....	17
1.6.3 Βιολογική υπερωρίμανση:.....	17
1.6.4 Η ωρίμανση από αμπελουργική σκοπιά:.....	17
1.7 Μορφολογία, Ανατομία και Σύνθεση της Ρώγας:.....	17
1.7.1 Τα μέρη της Ρώγας:.....	19
1.7.1.1 Η Σάρκα:.....	19
1.7.1.2 Ο Φλοιός:.....	19
1.7.1.3 Τα Γιγάρτα:.....	19
1.7.2 Η Εκατοστιαία Σύνθεση της Ρώγας:.....	20
1.8 Χημική Σύσταση:.....	21
1.8.1 Χημική Σύσταση της Σάρκας:.....	21
1.8.2 Χημική Σύσταση του Φλοιού:.....	22
1.8.3 Χημική Σύσταση των Γιγάρτων:.....	22
1.9 Η Ποικιλία Μανδηλαριά:.....	23
1.9.1 Χώρος Καλλιέργειας και Συνώνυμα:.....	23
1.9.2 Χαρακτηριστικά του Φυτού:.....	23
1.9.3 Προϊόν:.....	24
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2ο: ΕΡΥΘΡΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ.....	28
2.1 Ορισμός και Στάδια:.....	28
2.1.1 Έκθλιψη των Σταφυλιών Με ή Χωρίς Αποβοστρύχωση:.....	28
2.1.2 Μεταφορά της σταφυλόμαζας:.....	29
2.1.2 Μεταφορά της σταφυλόμαζας:.....	29
2.1.3 Προζυμωτική Ψυχρή Εκχύλιση:.....	31
2.1.4 Αλκοολική Ζύμωση - Εκχύλιση:.....	31
2.1.4.1 Ανοιχτές Δεξαμενές με Επιπλέοντα Στέμφυλα:.....	31
2.1.4.2 Ανοιχτές Δεξαμενές με Βυθισμένα Στέμφυλα:.....	32
2.1.4.3 Κλειστές Δεξαμενές με Επιπλέοντα Στέμφυλα:.....	32
2.1.4.4 Δεξαμενές με Ειδικό Εξοπλισμό:.....	32
2.1.4 Διαπίστωση του Τέλους της Αλκοολικής Ζύμωσης:.....	33
2.1.5 Διαχωρισμούς του Γλεύκους από τα Στέμφυλα:.....	33
2.1.5 Απομάκρυνση των Στεμφύλων από τις Δεξαμενές:.....	33
2.1.7 Πίεση των Στεμφύλων:.....	33
2.2 Μετάγγιση των Νέων Οίνων:.....	34
2.3 Τύποι Ερυθρών Οίνων:.....	34
2.3.1 Οίνοι πρώιμης κατανάλωσης (nouveau):.....	35
2.3.2 Οίνοι ερυθροί ενός-δύο ετών ζωής:.....	35
2.3.3 Ερυθροί οίνοι προς παλαίωση:.....	35

2.4 Αποθήκευση και Παλαίωση Οίνου:.....	35
2.4.1 Χρησιμοποίηση Ξύλινων Βαρελιών στην Οινοποίηση και Παλαίωση:.....	36
2.4.2 Εμφιάλωση:.....	36
2.4.2.1 Λίγα στοιχεία για την εμφιάλωση:.....	37
2.4.2.1 Παλαίωση σε Φιάλες:.....	37
2.4 Χημική Σύσταση του Οίνου και του Γλεύκους:.....	38
2.4.1 Οργανικά Οξέα:.....	38
2.4.1.1 Ιδιότητες και Περιεκτικότητα των Διαφόρων Οξέων του Οίνου:.....	38
2.4.1.2 Πτητική Οξύτητα:.....	39
2.4.1.3 Ολική και Ενεργός Οξύτητα (pH):.....	39
2.4.2 Αλκοόλες:.....	41
2.4.2.1 Αλκοόλες που Προέρχονται από Μεταβολισμούς που Προκαλούν οι Μύκητες:.....	41
2.4.2.2 Πολυαλκοόλες που Προέρχονται από τα Σάκχαρα:.....	42
2.4.3 Σάκχαρα:.....	42
2.4.4 Πολυσακχαρίτες:.....	42
2.4.5 Αζωτούχα συστατικά:.....	43
2.4.6 Πτητικά και Αρωματικά Συστατικά:.....	43
2.4.6.1 Αρωματικά Συστατικά του Σταφυλιού:.....	43
2.4.6.2 Αρωματικά Συστατικά της Ζύμωσης:.....	44
2.4.6.3 Αρώματα Ωρίμανσης και Παλαίωσης:.....	44
2.4.7 Φαινολικά Συστατικά:.....	44
2.4.8 Ανόργανα Συστατικά:.....	44
2.4.8.1 Ανιόντα:.....	44
2.4.8.3 Κατιόντα:.....	45
2.4.9 CO ₂ (διοξείδιο του άνθρακα ή ανθρακικός ανυδρίτης):.....	45
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3ο: ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΟΥΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ.....	48
3.1 Κατηγορίες Φαινολικών Συστατικών:.....	48
3.1.1 Φαινολικά Οξέα (μη φλαβονοειδείς φαινόλες):.....	48
3.1.2 Φλαβονοειδείς Φαινόλες:.....	49
3.1.2.1 Ανθοκυάνες:.....	49
3.1.2.2 Ταννίνες:.....	50
3.2 Μεταβολές Ανθοκυανινών.....	51
3.2.1 Ισορροπία των Ανθοκυανών Συναρτήσεσι του pH:.....	51
3.2.2 Αναγωγή και Αποχρωματισμός των Ανθοκυανών κατά την Αλκοολική Ζύμωση:.....	52
3.2.3 Δημιουργία Συμπλόκων των Ανθοκυανών με Μέταλλα:.....	52
3.2.4 Ενώσεις Ταννινών με Ανθοκυάνες:.....	52
3.2.5 Επίδραση του Θειώδη Ανυδρίτη:.....	52
3.3 Παράγοντες Εκχύλισης Φαινολικών Συστατικών:.....	52
3.3.1 Επίδραση της Αιθυλικής Αλκοόλης:.....	53
3.3.2 Διάρκεια Παραμονής του Γλεύκους με τα Στέμφυλα:.....	55
3.3.3 Θερμοκρασία:.....	58
3.3.4 Αναλογία Γλεύκους Στεμφύλων:.....	58
3.3.5 Θειώδης Ανυδρίτης:.....	60
3.3.6 Διαβροχή των Στεμφύλων με το Γλεύκος:.....	60
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4ο: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....	62
4.1 Πρώτες Ύλες:.....	62
4.2 Σχεδιασμός Πειραμάτων:.....	63
4.2.1 Εκχύλιση φαινολικών συστατικών των διαφόρων μερών του σταφυλιού:.....	63
4.2.2 Διεργασίες οινοποίησης υπό διαφορετικές συνθήκες:.....	63
4.2.3 Διεργασία αποθήκευσης σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες:.....	64
4.3 Υλικά:.....	64

4.4 Συσκευές:.....	64
4.5 Πειραματικές Τεχνικές:.....	64
4.5.1 Εκχύλιση Φαινολικών Συστατικών των Διαφόρων Μερών του Σταφυλιού:.....	64
4.5.1.1 Διαχωρισμός Μερών της Ρώγας Σταφυλιού:.....	65
4.5.1.2 Απομάκρυνση Λιπιδίων από Κονιοποιημένα Γίγαρτα:.....	66
4.5.1.3 Εκχύλιση Φαινολών από Σκόνη Φλοιών, Απολιπασμένων Γιγάρτων ή Σαρκών:.....	66
4.5.2 Υδρόλυση Ανθοκυανών, λοιπών Φαινολικών Γλυκοζιτών και Ταννινών:.....	66
4.5.3 Καταβύθιση Ταννινών:.....	66
4.5.4 Αποθήκευση σε Τροποποιημένες Ατμόσφαιρες:.....	67
4.5.5 Φαινολικό Περιεχόμενο:.....	67
4.5.6 Μέθοδος Προσδιορισμού Αναγωγικών Σακχάρων (DNS):.....	67
4.5.7 Κατεργασία Εργαστηριακής Ζύμωσης:.....	68
4.5.7 Μέτρηση Αλκολικών Βαθμών και Πτητικής και Ολικής Οξύτητας:.....	68
4.5.8 Χρωματομετρήσεις:.....	68
4.5.9 Μέθοδος Ανάλυσης HPLC:.....	68
4.5.10 Ταυτοποίηση ουσιών με HPLC-MS:.....	69
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5ο: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	70
5.1 Μελέτη Πρότυπων Ανθοκυανιδινών:.....	70
5.1.1 HPLC-DAD:.....	70
5.1.2 LC-MS:.....	70
5.2 Σταφύλι:.....	71
5.2.1 Προκατεργασία:.....	71
5.2.2 Αποτελέσματα Αναλύσεων:.....	72
5.2.2.1 Ταυτοποίηση Ανθοκυανών στα Διάφορα Μέρη των Ρωγών του Σταφυλιού:.....	72
5.2.2.2 Προσδιορισμός της Φύσης των Μονομερών στις Ταννίνες των Σταφυλιών:.....	75
5.2.2.3 Ποσοτικοποιήσεις Φαινολικών Συστατικών στα Μέρη της Ρώγας του Σταφυλιού:.....	81
5.3 Μελέτη της Επίδρασης Συνθηκών Οινοποίησης στα Ποιοτικά Χαρακτηριστικά του Παραγόμενου Οίνου Μαυροκουντούρας:.....	84
5.3.1 Μελέτη Ποιοτικών χαρακτηριστικών:.....	85
5.3.2 Μελέτη Φαινολικών Συστατικών:.....	87
5.4 Μελέτη των Ανθοκυανών και Λοιπών Φαινολικών κατά την Ωρίμανση/Παλαίωση του Πρώιμου Οίνου Μαυροκουντούρας σε Τροποποιημένες Ατμόσφαιρες:.....	90
5.4.1 Μεταβολή του Χρώματος:.....	92
5.4.2 Μεταβολή των Φαινολικών Συστατικών:.....	93
5.4.3 Μεταβολή των Ανθοκυανών:.....	95
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6ο: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	98
Σταφύλι Μαυροκουντούρας:.....	98
Ζύμωση Σταφυλόμαζας Μαυροκουντούρας:.....	98
Αποθήκευση Οίνου Μαυροκουντούρας:.....	98
Μελλοντικές Εφαρμογές:.....	99
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7ο: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	100

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1ο: ΑΜΠΕΛΙ-ΣΤΑΦΥΛΙ**1.1 Ιστορικά Στοιχεία για το Αμπέλι:**

Τα άγρια αμπέλια συνήθως μεγαλώνουν στις κορυφές των δέντρων και έχουν μικρές σκουρόχρωμες ρώγες με πολλούς σπόρους. Με αυτά τρέφονται τα πουλιά τα οποία με τη σειρά τους βοηθούν στη αναπαραγωγή του φυτού διασπείροντας τους σπόρους του. Τα άγρια σταφύλια είναι βασικά δίοικα, υπάρχουν ξεχωριστά αρσενικά (που έχουν τη γύρη, χωρίς να παράγουν φρούτα) και θηλυκά (που παράγουν τα φρούτα) αμπέλια. Πιθανώς το αμπέλι είναι το φυτό που έχει τροποποιηθεί περισσότερο από κάθε άλλο από τον άνθρωπο στην πορεία προσαρμογής του στην γεωργία. Επίσης καθώς είναι βοτανικώς απομονωμένα, τα χαρακτηριστικά των σταφυλιών εξαρτώνται ιδιαίτερος από την περιοχή παραγωγής τους, πολύ περισσότερο από άλλα φυτά καλλιέργειας.

Τα σταφύλια είναι δικοτυλήδονα αγγειόσπερμα. Τα διηνεκή αμπέλια είναι φυλλοβόλα και έχουν αδύναμο ξύλο που δεν είναι ικανό να τα στηρίξει επαρκώς. Σε ένα άγριο αμπέλι στην Ινδιάνα των Η.Π.Α. φάνηκαν με μεγεθυντικό φακό χειρός 126 δαχτυλίδια. Μεγάλωνε σε ένα δευτερογενές δάσος πάνω σε ένα δέντρο με τη μισή του ηλικία ή λιγότερο. Έπεσε και ξαναέβγαλε ρίζες μετά την επαφή του με το χώμα, πιθανώς επειδή το αρχικό δέντρο στο οποίο βρισκόταν ή είχε πεθάνει ή είχε κοπεί. Τα μεγαλύτερα και παλαιότερα άγρια αμπέλια συναντώνται σε αντίστοιχα παλαιά δάση και καθώς έχουν τη δυνατότητα να ξαναβγάζουν ρίζες και να αναγεννώνται φαίνεται να έχουν αέναο χρόνο ζωής.

Τα σταφύλια ανήκουν στο γένος *Vitis*, ένα από τα 11 γένη του της οικογένειας των αμπελοειδών (*Vitaceae*). Τα *Vitaceae* *Leeaceae*, και οι οικογένειες *Rhamnaceae* απαρτίζουν τη τάξη των *Rhamnales*. Το *Vitis* χωρίζεται σε δύο υπο-γένη *Envitis* τα πραγματικά σταφύλια και *Muscadinia*. Το *Muscadinia* (ή *Vitis*) *rotundifolia* και κάποια συγγενικά είδη έχουν 20 χρωμοσώματα και διασταυρώνονται με ιδιαίτερη δυσκολία και ειδικές τεχνικές με το *Envitis* το οποίο έχει 19 χρωμοσώματα. Τα διάφορα είδη του *Envitis* διασταυρώνονται εύκολα όταν γύρη από το ένα είδος φτάνει στον ύπερο κάποιου άλλου πριν από τη γύρη του ίδιου είδους. Για την ακρίβεια τα ερμαφρόδιτα αμπέλια (σχεδόν όλες οι εμπορικές ποικιλίες) γονιμοποιούν τον εαυτό τους. 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.

Άλλα είδη σταφυλιού έχουν χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή κρασιού ή για την παραγωγή υβριδίων με το *V. vinefera*, αλλά παρόλο το τοπικό ενδιαφέρον ή αναγκαιότητα, τα διάσημα κρασιά προέρχονται από το *V. vinefera*. Οι απόγονοι που προέρχονται και από άλλα είδη συνήθως απαιτούν ειδικούς χειρισμούς στον αμπελώνα και στην οινοποιία. Λαμβάνοντας τα ανωτέρω υπόψιν όταν υπάρχουν αναφορές για αμπέλια, εκτός αν σημειώνεται διαφορετικά, αφορά στο *Vitis vinifera*. Η καλλιέργεια αυτού του είδους ξεκίνησε πολύ νωρίς. Η αμπελουργία ήταν η αιτία, όχι μόνο το αποτέλεσμα, των αρχαίων πολιτισμών στις Περσικές, Μεσοποτάμιες, Καυκάσιες και Μεσόγειες περιοχές από όπου προέρχονται οι δυτικοευρωπαϊκοί πολιτισμοί.

Η απεικόνιση των αμπελώνων του *Vitis vinifera* από το 3000 π.Χ. δεν εμφανίζει κάποιο από τα αρσενικά κλήματα που θα περίμενε κανείς σε υψηλά ποσοστά εάν τα αμπέλια είχαν προέλθει από σπόρο άγριων σταφυλιών. Τα αυτο-γονιμοποιήσιμα ερμαφρόδιτα κλήματα προφανώς είχαν επιλεγεί και πολλαπλασιαστεί τόσο αποτελεσματικά που είχαν ήδη αντικαταστήσει τα άγρια είδη. Οι αρχαίοι αγρότες είχαν παρατηρήσει νωρίς ασυνήθιστα κλήματα με μεγαλύτερα, περισσότερα, πιο κόκκινα, άσπρα ή πιο εύγευστα φρούτα. Για να αποκτήσει τόσο συγκεκριμένα χαρακτηριστικά, το κλήμα πρέπει να μετακινηθεί ή να αναπαραχθεί με φυτικό πολλαπλασιασμό. Το προγονικό κλήμα πρέπει να μεταφυτευθεί ή ένα κομμάτι του να ξαναβγάλει ρίζες ή να μπολιαστεί σε ένα άλλο αμπέλι. Εάν σπόροι από το επιθυμητό κλήμα φυτευθούν, κάθε σπόρος παράγει έναν διαφορετικό τύπο αμπελιού. Σχεδόν όλοι οι γόνιοι των φυτεμένων σπόρων δε θα έχουν τα επιθυμητά

χαρακτηριστικά.

Κατά την αρχή της Χριστιανικής εποχής, όπου ήδη η αμπελουργία εξασκούταν για χιλιάδες χρόνια, ο Pliny ο γηραιότερος περιέγραψε λεπτομερώς 90 ποικιλίες σταφυλιού που χρησιμοποιούσαν οι Ρωμαίοι. Πιθανώς περισσότερες από 5000 ποικιλίες του *V. vinifera* και τα αντίστοιχα υβρίδια του με άλλα *Vitis* είδη έχουν αναγνωρισθεί σήμερα. Με τη συνεχή επιλογή κλώνων και τη διασταύρωση τους, οι ποικιλίες μπορεί να συνεχίζουν να αυξάνονται χωρίς όριο.

Όλα τα αξιοσημείωτα επιτραπέζια και επιδόρπια κρασιά του κόσμου οφείλουν τα σημαντικά χαρακτηριστικά τους στην ποικιλία ή στις ποικιλίες των σταφυλιών από τις οποίες παράχθηκαν. Σε κάποιες περιοχές μάλιστα, όπως για παράδειγμα στο *Bordeaux* ή την *Campagne* της Γαλλίας, υπάρχουν ποικιλίες με Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης ώστε να διατηρηθούν τα χαρακτηριστικά αυτά τα οποία καθιστούν σημαντικά αυτά τα κρασιά. Οι λεπτές διαφορές που μπορεί να διαφοροποιούν τα κρασιά ανά αμπελώνα, κλίμα και χρονιά είναι σημαντικές, αλλά μικρότερης βαρύτητας συγκρινόμενα με τις πιθανές διαφορές ανά ποικιλία σταφυλιού. Είναι προφανές ότι η επιλογή της ποικιλίας σταφυλιού είναι ιδιαίτερος κρίσιμη.

(Roger B Boulton et al., 1996)

1.2 Κλώνοι:

Ως κλώνος αναφέρεται (Hartmann et al., 1990) μια ομοιόμορφη ομάδα ατόμων (αμπελιών) που προέρχονται από ένα μεμονωμένο άτομο (αμπέλι) από αγνή πολλαπλασιασμό (όπως μοσχεύματα κ.ά.). Όλες οι ποικιλίες σταφυλιών πολλαπλασιάζονται με αγνή 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). Έτσι με αυτό το τρόπο ένας νέος κλώνος γεννιέται και του δίνεται ένα νούμερο ή συγκεκριμένο όνομα για να ξεχωρίζει από τους υπολοίπους κλώνους. Να σημειωθεί ότι οι διαφορές μεταξύ των κλώνων είναι μικρότερες από αυτές μεταξύ των ποικιλιών.

Ο φαινότυπος των διαφόρων κλώνων όπως είναι φυσικό διαφέρει μεταξύ τους. Κάποιες φορές τα χαρακτηριστικά που δημιουργούν αυτή τη διαφοροποίηση μπορεί να είναι λιγότερο ή περισσότερο εμφανή. Τέτοια μπορεί να είναι ο χρόνος ωρίμανσης, η αρχιτεκτονική του σταφυλιού, η παραγωγή φρούτων, η ποιότητα των καρπών ή άλλα χαρακτηριστικά.

Πρακτικά αυτό σημαίνει ότι υπάρχουν περισσότερες από μία *Μανδηλαριά*, όπως είναι η *Μαύρη Κουντούρα* (*Μαυροκουντούρα*) *Κύμης* που θα μας απασχολήσει στην συγκεκριμένη διπλωματική.

(Ed Hellman, 2007)

1.3 Μορφολογία του Σταφυλιού:

Το σταφύλι αποτελείται από το βόστρυχο και τις ρώγες. Προέρχεται από την ταξιανθία της αμπέλου, η οποία ανήκει στις σύνθετες βοτριάδες ταξιανθίες, φόβη (σύνθετος βότρυς και σύνθετος βοτρουστάχυς) γι' αυτό ο καρπός της αμπέλου καλείται βότρυς, κοινώς σταφύλι.

Ο βόστρυχος του σταφυλιού, κοινώς κοτσάνι, αποτελεί το σκελετό του, ο οποίος απαρτίζεται από τον κεντρικό άξονα της ταξιανθίας, που καλείται ράχη και διακλαδίζεται σε δευτερεύοντες και τριτεύοντες άξονες. Από τις τελευταίες διακλαδώσεις εκφύονται δύο έως πέντε ποδίσκοι, στην άκρη των οποίων προσφύεται ο πραγματικός καρπός που είναι οι ρώγες.

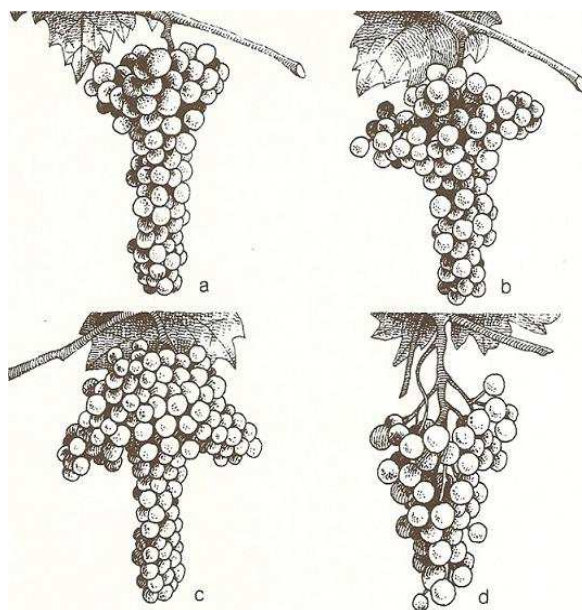
Ο βόστρυχος αποκτά τις οριστικές διαστάσεις κατά τον περκασμό, δηλαδή κατά την έναρξη της ωρίμανσης των ρωγών, και στη συνέχεια δεν μεταβάλλεται. Το τελικό μέγεθος του σταφυλιού εξαρτάται ουσιαστικά από το μέγεθος που αποκτά σ' αυτή τη φάση ο βόστρυχος και συγκεκριμένα ο κεντρικός άξονας της ταξιανθίας.

Το μέγεθος του σταφυλιού κρινόμενο από οινολογικής πλευράς, δεν αποτελεί, τουλάχιστον για τις

γηγενείς ερυθρές ποικιλίες, δείκτη οινικής ποιότητας. Όμως ο χαρακτήρας αυτός της ποικιλίας έχει έμμεση επίπτωση στην ποιότητα ορισμένων αμπελουργικών περιοχών της χώρας, λόγω της προτίμησης του Έλληνα αμπελουργού στις ποικιλίες με μεγάλα σταφύλια (ωραίος καρπός, εύκολη συγκομιδή, μεγάλη στρεμματική απόδοση).

Εκτός από το μέγεθος, ο βόστρυχος διαμορφώνει με τις διακλαδώσεις του το σχήμα του σταφυλιού (κυλινδρικό, κωνικό, πτερυγωτό, διπλό, κλαδωτό κ.λπ.) και την πυκνότητά του. Ειδικότερα η πυκνότητα του σταφυλιού εξαρτάται από το μήκος των ποδίσκων· εάν είναι λεπτοί και μακρείς, τότε οι ρώγες έχουν αραιή διάταξη και το σταφύλι χαρακτηρίζεται ως αραιό. Το αντίθετο συμβαίνει στα πυκνά σταφύλια. Ενδιάμεση κατάσταση αποτελούν τα σταφύλια μέσης πυκνότητας.

Η πυκνότητα του σταφυλιού έχει οινολογική σημασία μόνο εάν εξετασθεί από πλευρά υγιεινής των σταφυλιών που φθάνουν στη σταφυλοδόχο των οινοποιιών. Γιατί όσο πιο πυκνόραγο είναι ένα σταφύλι τόσο πιο δύσκολη η προστασία του από διάφορες κρυπτογαμικές ασθένειες και κυρίως από τη φαιά σήψη (*Botrytis cinerea*). (Κουράκου-Δραγωνά, 1998, Σαρίκα-Χατζηνικολάου, 1998)



Σχήμα 1-1: Ωριμα Σταφύλια διαφορετικού σχήματος και Πυκνότητας: Κυλινδρικό Πυκνό (a), Κωνικό Μέτριας Πυκνότητας (b), Πτερυγωτό Μέτριας Πυκνότητας (c), Κλαδωτό Αραιό (d)

1.4 Ωρίμανση του σταφυλιού:

Κατά τη διάρκεια της πρώτης περιόδου, που αρχίζει από τον σχηματισμό του καρπού, η ρώγα είναι πράσινη χάρη στη χλωροφύλλη που περιέχει και η σάρκα της σκληρή και συνεκτική. Είναι η περίοδος που ο καρπός (ρώγα) είναι μικρός και συμπεριφέρεται σαν όργανο, που επεξεργάζεται και αφομοιώνει άμυλο, λειτουργώντας σαν ένα είδος φύλλου. Σε όλη αυτή την περίοδο έχουμε αύξηση του βάρους και του όγκου. Τα οξέα που περιέχει αυξάνονται στα 20 g/1000 g σταφυλιού. Τα σάκχαρα παραμένουν σταθερά και είναι στο ίδιο περίπου ποσοστό με τα οξέα.

Η δεύτερη περίοδος (περκασμός) είναι η περίοδος που η ρώγα αλλάζει χρώμα, φουσκώνει και γίνεται ελαστική. Τα κουκούτσια (γίγαρτα) αλλάζουν όψη και δομή. Οι ερυθρές χρωστικές εμφανίζονται στις ρώγες των ερυθρών ποικιλιών και οι αντίστοιχες χρωστικές στις λευκές ποικιλίες. Το φαινόμενο είναι απότομο. Μια ρώγα παίρνει χρώμα σε μια μέρα. Οι ρώγες των σταφυλιών μιας περιοχής σε 15 μέρες περίπου. Έχουμε πτώση της οξύτητας και ξεκίνημα της συσσώρευσης των σακχάρων με απότομη αύξηση τους.

Περίοδος ωρίμανσης είναι η περίοδος, που ακολουθεί μετά την αλλαγή του χρώματος της ρώγας μέχρι την πλήρη ωρίμανση. Είναι δύσκολο να δώσουμε τον ορισμό της ωρίμανσης. Μπορούμε πιο εύκολα να ορίσουμε διάφορες παραμέτρους, όπως ο όγκος παραγωγής, οπότε, ωρίμανση ορίζεται η χρονική στιγμή που ο μέσος όγκος των ρωγών είναι μέγιστος. Μπορεί ακόμη να οριστεί με βάση τη

χρονική στιγμή που τα σάκχαρα φτάνουν τη μέγιστη περιεκτικότητα. Στις θερμές περιοχές που επιδιώκουμε υψηλή περιεκτικότητα σε οξέα είναι δυνατόν να τρυγήσουμε πρώιμα, δηλαδή πριν από τη χρονική στιγμή που τα σάκχαρα φτάνουν στο μέγιστο. Αντίθετα στις ψυχρές περιοχές είναι δυνατόν να τρυγήσουμε αργοπορημένα (όψιμα), με σκοπό να πετύχουμε ελαφριά συμπύκνωση των σακχάρων λόγω μερικής εξάτμισης του νερού της ρώγας και μείωσης της οξύτητας λόγω μερικής καύσης του μηλικού οξέος. Από τις δύο αυτές περιπτώσεις προκύπτει η έννοια της τεχνολογικής ή βιομηχανικής ωρίμανσης που είναι η χρονική στιγμή, που επιλέγουμε για την πραγματοποίηση της συλλογής των σταφυλιών (τρυγητός, τρύγος). Ακόμη υπάρχει η ωρίμανση, που ορίζεται με βάση την περιεκτικότητα των φαινολικών συστατικών, καθώς και των αρωματικών που φτάνει στο μέγιστο σε διαφορετική χρονική στιγμή γιατί προέρχονται από διαφορετικούς βιολογικούς μηχανισμούς. Η ωρίμανση λοιπόν δεν είναι μία, ούτε σταθερή, αλλά υπάρχουν διάφορες ωριμάνσεις.

Η πρόβλεψη και ο προσδιορισμός της ημέρας έναρξης τρυγητού απαιτεί δειγματοληψία και ανάλυση από την περίοδο αλλαγής του χρώματος και τη σύγκριση με δεδομένα παλαιότερων ετών για την ίδια περιοχή ή σε συνάρτηση με τις κλιματολογικές συνθήκες. Η δειγματοληψία μπορεί να γίνει κόβοντας 250 ρώγες από 250 κλήματα, από σταφύλια που βρίσκονται σε διαφορετικά ύψη από το έδαφος, και έχουν διαφορετικό προσανατολισμό. Η κατάσταση ωρίμανσης του σταφυλιού τη στιγμή του τρυγητού είναι ένας από τους κυριότερους παράγοντες που επιδρούν στην πορεία της οινοποίησης. Η δουλειά του οινολόγου αρχίζει με τον έλεγχο της πορείας ωρίμανσης. Η τελική επιλογή της ημερομηνίας έναρξης του τρυγητού, που πρέπει να παίρνει υπόψη και τη χρονική διάρκεια που μεσολαβεί μέχρι το μάζεμα όλων των σταφυλιών, είναι κατά κάποιο τρόπο επιλογή των συστατικών που περιέχει το σταφύλι τη στιγμή εκείνη και φυσικά συνάρτηση του τύπου κρασιού (οίνου) που θέλουμε να φτιάξουμε.

Η σχέση των σακχάρων προς τα οξέα (ένδειξη ωρίμανσης) είναι ο πιο απλός δείκτης για τον καθορισμό του σημείου ωρίμανσης. Επίσης σαν δείκτης ωρίμανσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί το πηλίκον της συγκέντρωσης του τρυγικού οξέος προς το άθροισμα των συγκεντρώσεων του τρυγικού και μηλικού οξέος, το οποίο πλησιάζει τη μονάδα όσο πιο προχωρημένη είναι η ωρίμανση.

Η περίοδος της ωρίμανσης διαρκεί 40 με 50 μέρες. Σε αυτή την περίοδο η ρώγα δεν παίρνει τίποτα από τα φύλλα. Συνεχίζει να αυξάνει σε μέγεθος και μαλακώνει. Τα οξέα μειώνονται σημαντικά. Έχουμε αύξηση της περιεκτικότητας των σακχάρων. Αυξάνει η φρουκτόζη, μειώνεται η γλυκόζη και η σχέση γλυκόζης προς φρουκτόζη φτάνει κοντά στο 0,95.

(Τσακίρης, 1988)

1.5 Βιοχημική εξέταση της ωρίμανσης:

1.5.1 Αύξηση του μεγέθους της ρώγας:

Είναι ένα συνεχές φαινόμενο, που διαρκεί από την περίοδο σχηματισμού της μέχρι την πλήρη ωρίμανση. Πρόκειται για αύξηση ακανόνιστη και κατά στάδια. Παράγοντες που επηρεάζουν την αύξηση είναι οι καιρικές συνθήκες και ιδίως οι βροχοπτώσεις, η άρδευση, η ποικιλία του κλήματος. Όλες οι ρώγες δεν ωριμάζουν ταυτόχρονα και μεταξύ τους παρατηρούνται σημαντικές διαφορές στο βάρος και τη χημική σύσταση.

1.5.2 Εξέλιξη των σακχάρων:

Τα κύρια σάκχαρα του σταφυλιού, γλυκόζη και φρουκτόζη, σχηματίζονται χάρη στη φωτοσύνθεση που γίνεται στα φύλλα και τα πράσινα μέρη του φυτού. Η συσσώρευσή τους στη ρώγα είναι κατά κάποιο τρόπο το πλεόνασμα της διατροφής των κουκουτσιών, που είναι τα όργανα της εγγενούς αναπαραγωγής του φυτού. Στο πρώτο στάδιο ωρίμανσης, η περιεκτικότητα σε σάκχαρα είναι 10 με 15 g/1000 g πράσινων σταφυλιών. Στην ωρίμανση φτάνει γύρω στα 200 g/1000 g σταφυλιών.

1.5.3 Εξέλιξη των οργανικών οξέων:

Τα κυριότερα οξέα του σταφυλιού, μηλικό και τρυγικό, σχηματίζονται από τη γλυκόζη στις ρίζες και στα φύλλα. Η εξέλιξή τους είναι συνδεδεμένη με τα αναπνευστικά φαινόμενα της ρώγας και εξαρτάται από τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Για θερμοκρασίες μεταξύ 20 και 30°C το μηλικό οξύ μειώνεται, ενώ το τρυγικό μένει σταθερό. Για θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 30°C έχουμε μείωση και για το τρυγικό οξύ. Το μηλικό οξύ μειώνεται συνεχώς σε όλη την περίοδο της ωρίμανσης. Αυτή η ελάττωση είναι πολύ γρήγορη στην αρχή της ωρίμανσης ενώ γίνεται αργή στο τέλος της. Το τρυγικό οξύ μειώνεται κατά τρόπο ανώμαλο ανάλογα με τη θερμοκρασία και τις βροχοπτώσεις. Η σχέση τρυγικού προς μηλικό οξύ είναι μικρότερη της μονάδας στη μέση της περιόδου αλλαγής χρώματος των ρωγών για να γίνει μεγαλύτερη της μονάδας κατά την περίοδο ωρίμανσης. Η περιεκτικότητα σε κιτρικό οξύ είναι σταθερή σ' όλη την περίοδο ωρίμανσης. (σχ. 1-2)

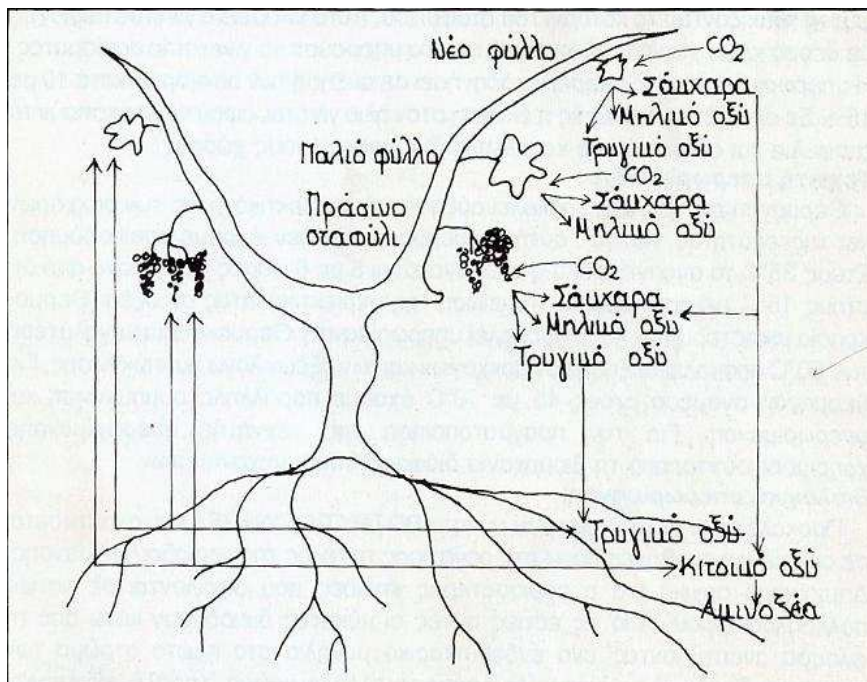
1.5.4 Εξέλιξη των ανόργανων συστατικών:

Τα ανόργανα συστατικά προέρχονται από το έδαφος. Η περιεκτικότητά τους αυξάνει από την περίοδο αλλαγής χρώματος της ρώγας μέχρι την ωρίμανση. Η αύξηση της περιεκτικότητας σε κάλιο εξαρτάται από τις κλιματολογικές συνθήκες. Για το ασβέστιο και το μαγνήσιο η τελική περιεκτικότητα είναι σταθερή από την περίοδο αλλαγής χρώματος της ρώγας μέχρι την πλήρη ωρίμανση.

1.5.5 Εξέλιξη των φαινολικών συστατικών:

Οι ανθοκυάνες σχηματίζονται στη ρώγα. 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 ταννίνες είναι σταθερή κατά την περίοδο αλλαγής χρώματος και κατά την ωρίμανση, με αυξομειώσεις που οφείλονται στις μεταβολές της θερμοκρασίας και στην ηλιοφάνεια. Οι ταννίνες των κουκουτσιών 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)



Σχήμα 1-2: Σύνθεση και Μετακίνηση των Σακχάρων και των Οξέων στο Κλήμα

1.6 Υπερωρίμανση:

Υπερωρίμανση είναι η περίοδος που ακολουθεί την πλήρη ωρίμανση και κατά τη διάρκεια της οποίας οι ανταλλαγές συστατικών της ρώγας με το υπόλοιπο φυτό είναι σχεδόν ανύπαρκτες. Έχουμε απώλεια νερού και συμπύκνωση του χυμού.

1.6.1 Φυσική Υπερωρίμανση:

Είναι η υπερωρίμανση που γίνεται με την επίδραση του ηλίου. Για τον σκοπό αυτό αφήνεται το σταφύλι όσο το δυνατόν πιο πολύ πάνω στο κλήμα εμποδίζοντας την επικοινωνία μεταξύ σταφυλιού και υπόλοιπου φυτού τσακίζοντας το κοτσάνι του σταφυλιού. Αυτό μπορεί να γίνει σε περιοχές με θερμό κλίμα χωρίς πολύ υγρασία που θα μπορούσε να γίνει αιτία σαπίσματος. Η υπερωρίμανση αυτή μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση των σακχάρων κατά 10 με 15%. Σε ορισμένες περιοχές η έκθεση στον ήλιο γίνεται αφού πρώτα κοπούν τα σταφύλια και απλωθούν σε κατάλληλα διαμορφωμένους χώρους.

1.6.2 Τεχνητή υπερωρίμανση:

Θέρμανση στους 60°C προκαλεί αύξηση της περιεκτικότητας των σακχάρων και της οξύτητας γιατί σε αυτή τη θερμοκρασία δεν έχουμε αποικοδόμηση. Στους 35°C τα αναπνευστικά φαινόμενα είναι 5 με 6 φορές πιο έντονα από ότι στους 15°C με αποτέλεσμα τη μείωση περιεκτικότητας σε οξέα. Θερμοκρασία μικρότερη των 45°C προκαλεί υπερωρίμανση. Θερμοκρασία μεγαλύτερη των 50°C προκαλεί αύξηση των σακχάρων και των οξέων λόγω συμπύκνωσης. Για θέρμανση ανάμεσα στους 45 με 50°C έχουμε παράλληλα συμπύκνωση και υπερωρίμανση. Για την πραγματοποίηση της τεχνητής υπερωρίμανσης χρησιμοποιούνται από τη βιομηχανία διάφοροι τύπου μηχανημάτων.

1.6.3 Βιολογική υπερωρίμανση:

Προκαλείται από τη δράση του μύκητα *Botrytis Cinerea* που αναπτύσσεται σε ορισμένες συνθήκες πάνω στη ρώγα προς το τέλος της περιόδου ωρίμανσης. Δημιουργεί αρχικά μια ή περισσότερες κηλίδες που οφείλονται σε εστίες πολλαπλασιασμού. Από τις εστίες αυτές οι μύκητες διεισδύουν κάτω από τη φλούδα αναπτύσσοντας ένα ενδοκυτταρικό μυκήλιο στο πρώτο στρώμα των κυττάρων. Σταδιακά τυλίγεται όλη η ρώγα και αλλάζει χρώμα. Χαμηλή υγρασία και υψηλή θερμοκρασία κατά την περίοδο αυτή έχει σαν αποτέλεσμα την αποξήρανση της ρώγας. Πρόκειται για ευγενή σήψη. Αυτή είναι δυνατόν να γίνει σε πολύ λίγα μέρη του κόσμου όπου η υγρασία η οποία ευνοεί την ανάπτυξη του μύκητα είναι αποτέλεσμα πρωινής ομίχλης και όχι βροχής. Συνέπεια της ευγενούς σήψης στη σύσταση της ρώγας είναι η μείωση του όγκου παραγωγής, αύξηση των σακχάρων μέχρι 350 g/L, μεταβολή της περιεκτικότητας σε οξέα, τροποποίηση της περιεκτικότητας σε ανόργανα ιόντα, μείωση του περιεχόμενου αζώτου και τέλος σχηματισμός της γλυκάνης που είναι ένας πολυσακχαρίτης.

Αντίθετα όταν η υγρασία είναι υψηλή και η θερμοκρασία χαμηλή έχουμε μεγάλη ανάπτυξη μυκηλίων με αποτέλεσμα την εμφάνιση πάνω στη ρώγα των καρποφοριών του μύκητα χρώματος άσπρου μέχρι φαιού. Πρόκειται για το σάπισμα του σταφυλιού το οποίο έχει αρνητικές επιπτώσεις στην ποιότητα του κρασιού που πρόκειται να παραχθεί.

1.6.4 Η ωρίμανση από αμπελουργική σκοπιά:

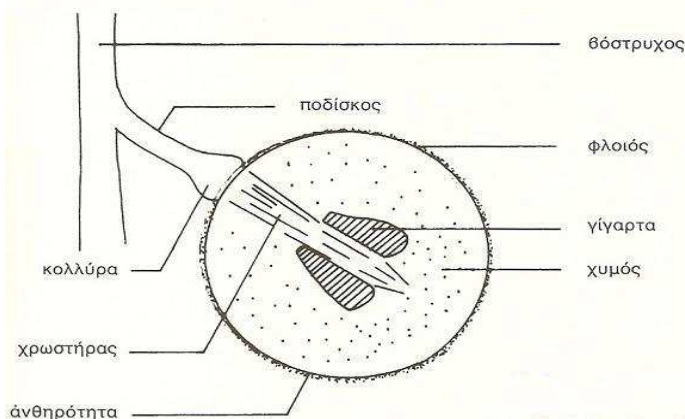
Οι ποικιλίες που δίνουν σταφύλια κατάλληλα για οινοποίηση χωρίζονται ανάλογα με την εποχή ωρίμανσης σε τρεις κατηγορίες: πρώιμες, μεσοπρώιμες και όψιμες. Βάσει των κλιματολογικών συνθηκών κάθε περιοχής γίνεται η επιλογή των κατάλληλων ποικιλιών έχοντας υπόψιν ότι σε κάθε περιοχή πρέπει να χρησιμοποιούμε κατά το δυνατόν πιο όψιμες ποικιλίες για να πετύχουμε τη μεγαλύτερη γευστική λεπτότητα του κρασιού που πρόκειται να παράγουμε. Επίδραση στην ποιότητα του κρασιού έχει το είδος του κλαδέματος και η λίπανση, επειδή επηρεάζουν το ύψος της παραγωγής. Κοντό κλάδεμα και κανονική λίπανση βελτιώνουν την ποιότητα. (Τσακίρης, 1988)

1.7 Μορφολογία, Ανατομία και Σύνθεση της Ρώγας:

Η ρώγα αποτελείται από τρία μέρη:

- τη σάρκα, που αποτελείται από το μεσοκάρπιο και το ενδοκάρπιο
- το φλοιό, που αποτελεί το περικάρπιο
- τα γίγαρτα, κοινώς κουκούτσια, που περιβάλλει το ενδοκάρπιο

Αξίζει να σημειωθεί ότι στην εξωτερική επιφάνεια των φλοιών των ρωγών υπάρχει ένα ασπριδερό κηρώδες στρώμα, το οποίο ονομάζεται ανθηρότητα και προστατεύει τη ρώγα από την είσοδο μικροοργανισμών στο εσωτερικό της.



Σχήμα 1-3: Σχηματική Παρουσίαση Ρώγας Σταφυλιού

Το μέγεθος της ρώγας μετριέται στο στάδιο της βιομηχανικής ωριμότητας και εκφράζεται συμβατικά με το μέσο όρο του μήκους της ρώγας, η οποία χαρακτηρίζεται ως:

- πολύ μεγάλη, όταν η διάμετρος υπερβαίνει τα 25 mm,
- μεγάλη από 18 mm και άνω,
- μέτρια, από 12 mm και άνω,
- μικρή, από 8 mm και άνω,
- πολύ μικρή, κάτω από 8 mm.

Οι περισσότερες ελληνικές ποικιλίες χαρακτηρίζονται από ρώγες μετρίου μεγέθους, που πλησιάζει το όριο των 18 mm (Πίν. 1-1 και 1-2).

Πίνακας 1-1: Βάρος και Σύνθεση Σταφυλιού Ελληνικών και Γαλλικών Ερυθρών Ποικιλιών (Βλάχου, Αμπελογραφία, 1986)

Ποικιλίες	Μέσο βάρος g	Διαστάσεις cm	Σύνθεση % ράγες	Σύνθεση % θόστρυχοι
Ελληνικές				
φιλέρι	750,0	24,0 x 12,0	97,0	3,0
φωκιανό	550,0	–	97,0	3,0
άγιωργίτικο	500,0	17,0 x 11,0	95,5	4,5
σέφκα	424,2	–	97,0	3,0
μανδηλαριά	320,0	–	94,0	6,0
ξινόμαυρο	261,0	–	94,0	6,0
ρωμέικο	252,0	–	94,7	5,3
θερτζαμί	232,0	20,0 x 15,0	94,5	5,5
κοτσιφάλι	220,0	–	96,7	3,3
λημνιό	150,0	–	95,0	5,0
μαυροδάφνη	150,0	–	92,5	7,5
Γαλλικές				
cinsaut	527,0	–	97,5	2,5
merlot	194,0	–	95,0	5,0
syrah	157,0	–	94,0	6,0
pinot noir	154,0	–	94,0	6,0
cabernet franc	130,0	–	97,0	3,0
cabernet Sauvignon	120,0	–	95,0	5,0

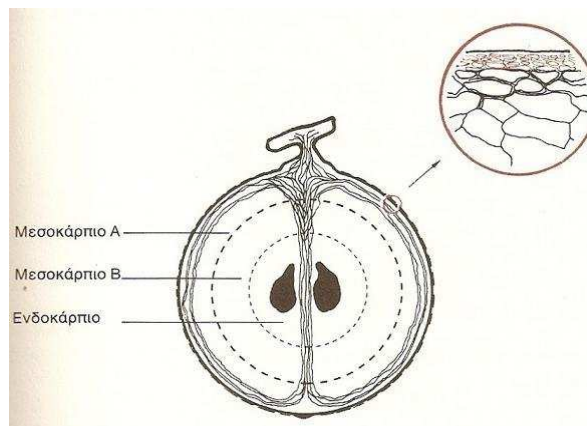
Πηγή: Τά στοιχεία προέρχονται από την Αμπελογραφία του ΒΛΑΧΟΥ 1986 και άφορου ποικιλίες που καλλιεργούνται στον άμπελώνα του Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.

Όπως όμως προαναφέρθηκε, το μέγεθος αυτό είναι συμβατικό. Από οινολογικής πλευράς είναι πιο ενδιαφέρον το μέγεθος που βασίζεται στο βάρος 100 ρωγών. Το μικρό μέγεθος των ρωγών είναι ιδιαίτερος σημαντικό για τις ερυθρές ποικιλίες, γιατί έτσι η σταφυλόμαζα έχει κατά την ερυθρή οينوποίηση αυξημένη ποσότητα φλοίων, στους οποίους ενυπάρχουν οι χρωστικές και γενικά τα φαινολικά παράγωγα, καθώς και το μεγαλύτερο μέρος των αρωματικών συστατικών που συμβάλλουν στη διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτήρων της οινικής ποιότητας. Για αυτό έχει επικρατήσει η οινολογική άποψη ότι, οι ερυθρές ποικιλίες ποιότητας είναι οι μικρόρραγες. Αυτό όμως δε σημαίνει ότι κάθε μικρόρραγη ερυθρή ποικιλία μπορεί να δώσει οίνους ποιότητας· πρέπει κατ' αρχήν η ποικιλία να είναι γενετικά προικισμένη με συστατικά που διαμορφώνουν την ποιότητα των οίνων.

1.7.1 Τα μέρη της Ρώγας:

1.7.1.1 Η Σάρκα:

Η σάρκα, που αντιπροσωπεύει το μεγαλύτερο ποσοστό της ρώγας, αποτελείται από 20-25 ή και περισσότερες στιβάδες πενταγωνικών ή εξαγωνικών κυττάρων με πολύ λεπτές μεμβράνες. Όπως φαίνεται στο σχήμα 1-4 στη σάρκα διακρίνονται τρεις ζώνες κυττάρων χωρίς σαφή διαχωριστικά όρια· αποτελούν το μεσοκάρπιο (εξωτερική και μεσαία ζώνη) και το ενδοκάρπιο (εσωτερική ζώνη).



Σχήμα 1-4: Σχηματική Παρουσίαση των Μερών της Σάρκας Ρώγας Σταφυλιού

Τα κύτταρα της σάρκας αυξάνονται κατά το χρόνο ανάπτυξης της ρώγας σε διάμετρο 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· 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 ρώγα τροφοδοτείται από το φυτό χάρη σε ένα δίκτυο από βιβλαγγειώδεις δέσμες που διασχίζουν το μίσχο, το βόστρυχο, τους ποδίσκους και εισέρχονται στη ρώγα 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 ρώγα προσλαμβάνει ειδικότερα τα σάκχαρα από τα φύλλα και τις ανόργανες ουσίες από τις ρίζες.

1.7.1.2 Ο Φλοιός:

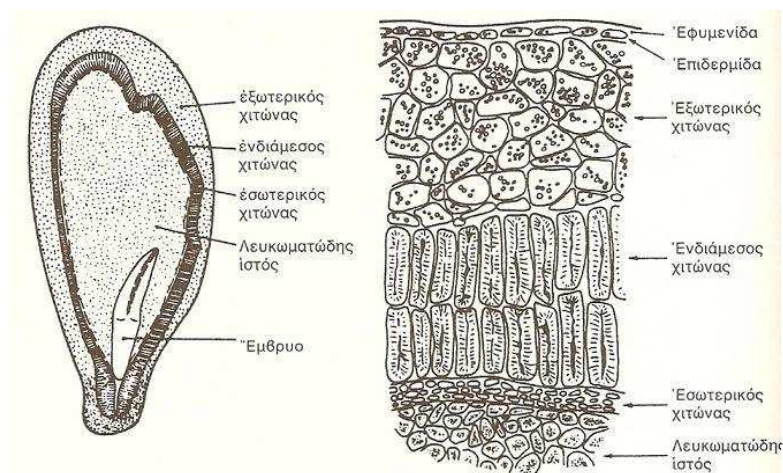
Ο φλοιός αποτελείται από την επιδερμίδα και την υποδερμίδα που απαρτίζουν το μεμβρανώδες και ελαστικό περικάρπιο της ρώγας. Η επιδερμίδα αποτελείται από μία-δύο στιβάδες λεπτών πεπλατυσμένων κυττάρων με μεμβράνες μάλλον παχιές και ανθεκτικές ενώ βαθύτερα υπάρχουν 6-

10 στιβάδες κυττάρων μεγαλύτερων διαστάσεων από εκείνα της επιδερμίδας, τα οποία αποτελούν την υποδερμίδα.

1.7.1.3 Τα Γιάρτα:

Το γιάρτο, κοινώς κουκούτσι, είναι ο σπόρος της αμπέλου. Συνήθως απαντώνται 1-3 και μόνο σπάνια 4 γιάρτα ανά ρώγα, ενώ υπάρχουν και ρώγες που δεν περικλείουν κανένα. Πρέπει να σημειωθεί ότι, ο αριθμός των γιάρτων ανά ρώγα επηρεάζεται -εκτός από την ποικιλία- και από τις κλιματολογικές συνθήκες κατά την ανθοφορία, για αυτό ο αριθμός τους μπορεί να διαφέρει σημαντικά από έτος σε έτος, ειδικότερα δε σε περιοχές που επικρατούν πολλές φορές δυσμενείς συνθήκες κατά την περίοδο της ανθοφορίας.

Στην εγκάρσια τομή ενός γιάρτου (σχ. 1-5) διαπιστώνεται ότι αυτό αποτελείται από τη σάρκα ή λευκωματώδη ιστό που προστατεύεται εξωτερικά από το κέλυφος ή επισπέρμιο και εμπεριέχει το έμβρυο.



Σχήμα 1-5: Εγκάρσια Διατομή Γιάρτου και Δομή Κελύφους, κατά Levadoux 1951

Η σάρκα του γιάρτου, ή λευκωματώδης ιστός, είναι πλούσια σε αποθησαυριστικές ουσίες που εξασφαλίζουν την αύξηση του εμβρύου κατά τη βλάστηση του γιάρτου. Το οποίο έμβρυο αποτελείται από κύτταρα πλούσια σε αλατούχες ουσίες. Ενώ το κέλυφος ή επισπέρμιο αποτελείται από τρεις χιτώνες (σχ. 1-5) όπου κατά τη διάρκεια της περιόδου ωρίμανσης εμπλουτίζεται σε φαινορικά παράγωγα.

1.7.2 Η Εκατοστιαία Σύνθεση της Ρώγας:

Στις μελέτες αμπελογραφικού ενδιαφέροντος, στις οποίες ο φλοιός και τα γιάρτα διαχωρίζονται από τη σάρκα με το χέρι, τα τρία αυτά μέρη της ρώγας αντιπροσωπεύουν το ποσοστό επί του βάρους της, το οποίο εξαρτάται αποκλειστικά από την ποικιλία, όταν βέβαια όλοι οι άλλοι φυσικοί παράγοντες και οι καλλιεργητικές επεμβάσεις δε διαφέρουν.

Ως παράδειγμα της εκατοστιαίας σύνθεσης της ρώγας και των διαφορών που παρουσιάζονται από ποικιλία σε ποικιλία, παρουσιάζονται στον Πίνακα 1-2 τα σχετικά στοιχεία για έντεκα ελληνικές και έξι ξένες ερυθρές ποικιλίες που καλλιεργούνται στον αμπελώνα του Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης (Κουράκου-Δραγωνά, 1998). Όπως προκύπτει από τα στοιχεία του πίνακα αυτού:

- ◆ Το ποσοστό των φλοιών επί του βάρους της ρώγας 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 *ζινόμαυρο*, 3,8 για το *cinsaut* και 12% για το *cabernet Sauvignon*).
- ◆ Το μέσο ποσοστό των γιάρτων επί του βάρους της ρώγας είναι 2,5% και 4,6% για τις ελληνικές και τις ξένες ποικιλίες αντίστοιχα, αλλά και εδώ οι διαφορές είναι μεγάλες, κυρίως για τις ξένες ποικιλίες.

- ◆ Όσο για τη σάρκα που προκύπτει από τη διαφορά όταν από το ολικό βάρος αφαιρεθούν ο φλοιός και τα γίγαρτα, αυτή αντιπροσωπεύει ποσοστό κυμαινόμενα μεταξύ 79% και 96,8% κατά βάρος, ανάλογα με την ποικιλία.

Πίνακας 1-2: Συγκριτικά Μέσα Μεγέθη Ραγών Ελληνικών και Γαλλικών Ερυθρών Ποικιλιών

Ποικιλίες	Βάρος 100 ραγών (g)	Βάρος ραγός (g)	Διαστάσεις ραγός (mm)	Σύνθεση ραγός %		
				φλοιός	γίγαρτα	χυμός ή σάρκα
Ελληνικές						
φιλέρι	620,0	6,2	26,0 x 22,0	2,0	1,2	96,8
σέφκα	360,0	3,6	21,0 x 19,3	3,9	2,9	93,2
φωκιανό	340,0	3,4	20,0 x 19,0	4,5	1,2	94,3
άγιωργίτικο	280,0	2,8	17,0 x 15,5	7,0	2,2	90,8
μανδηλαριά	280,0	2,8	16,5 x 16,0	5,0	2,5	92,5
κοτσιφάλι	250,0	2,5	16,5 x 14,3	1,6	1,7	96,7
βερτζαμί	210,0	2,1	16,6 x 16,0	11,9	4,3	83,8
ξινόμαυρο	200,0	2,0	14,3 x 13,9	13,5	2,5	84,0
λημινό	200,0	2,0	20,0 x 16,0	6,1	4,1	89,8
μαυροδάφνη	175,0	1,75	14,4 x 14,4	8,3	2,7	89,0
ρωμέικο	150,0	1,5	16,5 x 15,6	5,1	2,2	92,7
Γαλλικές						
cinsaut	326,0	3,26	19,3 x 16,5	3,8	1,5	94,7
merlot	150,0	1,5	12,0 x 12,0	7,0	4,0	89,0
cabernet franc	150,0	1,5	12,5 x 12,5	8,0	4,0	88,0
syrah	140,0	1,4	13,3 x 12,5	4,5	3,5	92,0
cabernet Sauvignon	120,0	1,2	11,7 x 11,6	12,0	5,6	82,4
pinot noir	100,0	1,0	11,5 x 11,0	12,0	9,0	79,0

Πηγή: Τά στοιχεία έχουν συγκεντρωθεί από την *Άμπελογραφία* του ΒΛΑΧΟΥ 1986 και αφορούν ποικιλίες που καλλιεργούνται στο αγρόκτημα του Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.

Όμως, στην πράξη, δεδομένου ότι ο χυμός που αποτελεί το γλεύκος προέρχεται αποκλειστικά από τα κύτταρα της σάρκας, το ποσοστό που αντιπροσωπεύει επί του συνολικού βάρους της ρώγας εξαρτάται όχι μόνο από την ποικιλία, αλλά και από τα γλυκοποιητικά μηχανήματα και το βαθμό πίεσης των σταφυλιών, μπορεί δε να κυμαίνεται από από 50% (χωρική οινοποίηση) μέχρι και 93%. Σε αυτές τις περιπτώσεις, τα στέμφυλα (φλοιοί και γίγαρτα) παρουσιάζουν ανάλογες ποσοστιαίες διακυμάνσεις και είναι περισσότερο ή λιγότερο πλούσια σε κυτταρικές στιβάδες της εξωτερικής ζώνης του μεσοκαρπίου, καθώς και του ενδοκαρπίου, γιατί ο πρώτος χυμός που ρέει προέρχεται από τα μεγάλα κύτταρα της μεσαίας ζώνης της σάρκας.

Πρέπει να σημειωθεί ότι οι λεπτές κυτταρικές μεμβράνες, καθώς και οι επίσης πολύ λεπτές αγγειακές δεσμίδες που συμμετέχουν στο σχηματισμό της "μπούρμπας" (λάσπης), μόλις φθάνουν το 0,5% κατά βάρος. Ως εκ τούτου, στην πράξη δε γίνεται διάκριση μεταξύ γλεύκους και σάρκας, ούτε ως προς το εκατοστιαίο ποσοστό, ούτε ως προς τη χημική σύσταση.

(Κουράκου-Δραγωνά, 1998)

1.8 Χημική Σύσταση:

1.8.1 Χημική Σύσταση της Σάρκας:

Όπως προαναφέρθηκε, το γλεύκος είναι ουσιαστικά η ίδια η σάρκα της ρώγας δεδομένου ότι ο χυμός των κυττάρων αποτελεί το 99,5%, οι δε κυτταρικές μεμβράνες το 0,5%. Επομένως, η χημική σύσταση της σάρκας είναι ίδια με εκείνη του γλεύκους. Πρόκειται για αραιό υδατικό διάλυμα πολύ σύνθετο, που η σύστασή του ποικίλει ανάλογα με την ποικιλία της αμπέλου, την περιοχή καλλιέργειάς της, το βαθμό ωριμότητας των σταφυλιών και την υγιεινή κατάστασή τους. Συνήθως περιέχει: νερό 75-80%, ζυμώσιμα σάκχαρα 17-25%, οργανικά οξέα, αζωτούχες ενώσεις, ανόργανα άλατα, πηκτινικές ουσίες, καθώς και ελάχιστες ταννίνες, ανθοκυάνες και αρωματικές ουσίες, όμως πολύ λιγότερες από το φλοιό ή τα γίγαρτα, είναι φτωχή σε φαινολικά συστατικά και ως εκ τούτου

και σε ανθοκυάνες (Κουράκου-Δραγωνά, 1998, Jorge Garrido & Fernanda Borges, 2011).

Τα κύρια συστατικά της σάρκας είναι τα ζυμώσιμα σάκχαρα και τα οργανικά οξέα. Οι ουσίες αυτές, παρόλο που δεν προσδίδουν στον οίνο της ιδιαιτερότητες που διαχωρίζουν τους οίνους από ευγενείς και κοινές ποικιλίες αμπέλου -όπως συμβαίνει με της ουσίες του φλοιού- του εξασφαλίζουν την υδροαλκοολική δομή του και τον πρωταρχικό χαρακτήρα ποιότητας.

1.8.2 Χημική Σύσταση του Φλοιού:

Παρόλο που ο φλοιός αντιπροσωπεύει μικρό ποσοστό επί του βάρους της ρώγας, είναι το μέρος του σταφυλιού όπου απαντώνται οι ειδικές εκείνες οργανικές ουσίες που χαρακτηρίζουν τις διάφορες ποικιλίες αμπέλου και διαμορφώνουν τους οργανοληπτικούς χαρακτήρες των διαφόρων κρασιών.

Πρόκειται για τις κίτρινες και ερυθρές χρωστικές, τις αρωματικές ουσίες και τις ουσίες εκείνες που χαρακτηρίζονται ως πρόδρομοι των αρωματικών ουσιών του οίνου. Ο φλοιός περιέχει περισσότερες πολυφαινόλες από το βόστρυχο, είναι δε δύο φορές πιο πλούσιος στις περιπτώσεις ερυθρών ποικιλιών σε σύγκριση με τις λευκές. Συγκεκριμένα, στο φλοιό των ερυθρών σταφυλιών βρίσκονται όλες οι ανθοκυάνες (Jorge Garrido & Fernanda Borges, 2011) (εκτός από κάποιες μη ελληνικές σπάνιες ευρωπαϊκές ποικιλίες, "βαφικές", όπως η *Alicante-Bouschet* όπου η σάρκα τους είναι έγχρωμη καθώς υπάρχουν ανθοκυάνες στα χυμοτόπια του ενδοκαρπίου) οι οποίες καταλαμβάνουν συνήθως 3-4 σειρές κυττάρων κάτω από την επιδερμίδα. Αξίζει να σημειωθεί ότι η μαλβιδίνη είναι η αντιπροσωπευτική ανθοκυανιδίνη γενικώς των *V. Vinifera* ποικιλιών σταφυλιού (Castillo-Muñoz et al., 2009). Συγκεκριμένα οι γλυκοζίτες της μαλβιδίνης Malvidin 3-O-p-coumaroylglucoside και Malvidin 3-O-glucoside είναι αυτοί που εμφανίζονται συνηθέστερα στους φλοιούς των σταφυλιών (Castillo-Muñoz et al., 2009, Ortega-Regules et al., 2006, Río Segade et al., 2009, M. Figueiredo-González et al., 2011). Οι άλλες χρωστικές (χλωροφύλλη, ξανθοφύλλη, καροτένια κ.λπ.) που υπάρχουν σε αξιόλογη ποσότητα όταν τα σταφύλια είναι πράσινα, δεν υπάρχουν παρά μόνο σε πολύ μικρές ποσότητες όταν πια η ρώγα είναι ώριμη. Οι ταννίνες στους φλοιούς βρίσκονται σε μηδενική περιεκτικότητα (James A. Kennedy, 2008).

Όσο για τις αρωματικές ουσίες, ο φλοιός προμηθεύει τον οίνο περισσότερο από το ήμισυ των αρωματικών συστατικών που αποτελούν το πρωτογενές άρωμα της ρώγας.

Εκτός από τα εξειδικευμένα αυτά συστατικά, ο φλοιός (Κουράκου-Δραγωνά, 1998):

- ◆ είναι πλούσιος σε κυτταρίνη, περίπου 20-25% κατά βάρους ξηρού φλοιού,
- ◆ περιέχει πολλές αδιάλυτες πηκτίνες, περίπου 10-15% κατά βάρος ξηρού προϊόντος,
- ◆ έχει μικρές ποσότητες σακχάρων και λίγα οξέα (λίγο τρυγικό, σχεδόν καθόλου μηλικό στην ωριμότητα, επικρατέστερο το κιτρικό), τα οποία βρίσκονται κυρίως εξουδετερωμένα, για αυτό το pH του χυμού των φλοιών είναι υψηλό,
- ◆ περιέχει πολλά ανόργανα συστατικά, κυρίως κάλιο.

1.8.3 Χημική Σύσταση των Γιγάρτων:

Η εκατοστιαία κατά βάρος χημική σύσταση των γιγάρτων έχει ως εξής (Κουράκου Δραγωνά, 1998):

◆ 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

Όταν τα γιγάρτα ωριμάσουν (φυσιολογική ωριμότητα των σταφυλιών), αρχίζουν να χάνουν το άζωτο προς όφελος της σάρκας της ρώγας, μπορεί δε να χάσουν υπό μορφή αμμωνιακού αζώτου, μέχρι και το 1/5 του αζώτου που περιέχουν υπό μορφή αζωτούχων ενώσεων. Εξάλλου, από τα συστατικά των γιγάρτων, ορισμένα διαχέονται μερικώς στο ζυμούμενο γλεύκος κατά την οινοποίηση παρουσία στεμφύλων, όπως είναι τα φαινολικά παράγωγα, οι αζωτούχες ενώσεις και οι

ανόργανες ουσίες, εμπλουτίζοντας το με χρήσιμα συστατικά.

Για αυτό ποικιλίες που οι ρώγες τους περιέχουν μεγάλο αριθμό γιγάρτων, όπως είναι το ξινόμαυρο, δίνουν γλεύκη πολύ πλούσια σε αζωτούχες ουσίες και αμμωνιακό άζωτο, οι δε οίνοι που παράγονται από αυτές έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε ταννοειδείς ουσίες όπως συμβαίνει με τους οίνους της Νάουσας που παράγονται από την ποικιλία ξινόμαυρο. Να αναφερθεί εδώ ότι τα γίγαρτα έχουν μηδενική περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες σε αντίθεση με την υψηλή περιεκτικότητά τους σε ταννίνες σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Jorge Garrido & Fernanda Borges, 2011).

Αντίθετα, άλλες ουσίες και ιδιαίτερα ελαιώδεις ουσίες που απαντούν στα κύτταρα του λευκωματώδους ιστού, ευτυχώς δε διαχέονται. Για να περάσουν στο γλεύκος πρέπει να σπάσει ο κερατοειδής χιτώνας και αυτό συνέβαινε μόνο την εποχή που χρησιμοποιούνταν κακής ποιότητας γλευκοποιητικά μηχανήματα. Εάν από κακή έκθλιψη και πίεση των στεμφύλων σπάσει μέρος των γιγάρτων, τότε ελαιώδεις ουσίες, λιπαρά οξέα και κακής ποιότητας ταννίνες, περνούν στο γλεύκος και αλλοιώνουν τους οργανοληπτικούς χαρακτήρες του παραγόμενου οίνου.

Εδώ αξίζει να σημειωθεί, όπως αναφέρθηκε ότι τα γίγαρτα είναι πλούσια σε ελαιούχες ουσίες. Όπως φαίνεται από τη βιβλιογραφία (Gomez et al., 1996, Rice et al., 1976 και Sonova et al., 1994) το ποσοστό της μέσης μάζας ελαίου ως προς τα γίγαρτα είναι 8-15%. Το γιγαρτέλαιο περιέχει μεγάλη ποσότητα λινολεϊκού οξέος (60-70%) και γενικά είναι πλούσιο σε ακόρεστα λιπαρά οξέα (85%), ιδιότητα που του προσδίδει υψηλό αντιχοληστερικό δυναμικό. Εξάλλου, λόγω μικρής 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. 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.

1.9 Η Ποικιλία *Μανδηλαριά*:

Η αμπελογραφική περιγραφή των ειδών και των ποικιλιών της αμπέλου είναι σημαντική για το διαχωρισμό τους. Έτσι στον πίνακα 1-3 φαίνεται η αμπελογραφική περιγραφή ελληνικών ποικιλιών αμπέλου σύμφωνα με το Κώδικας Αμπελογραφικής Περιγραφής (ΚΑΠ) (πίν. 1-4) όπου φυσικά φαίνονται και σε σύγκριση η αμπελογραφική περιγραφή της *Μανδηλαριάς* έναντι άλλων ελληνικών ποικιλιών αμπέλου.

1.9.1 Χώρος Καλλιέργειας και Συνώνυμα:

Η ποικιλία *Μανδηλαριά* είναι μία από τις πλέον βαθύχρωμες ελληνικές ποικιλίες αμπέλου, γηγενής του αιγαιοπελαγίτικου χώρου. Καλλιεργούνταν αρχικά στις Κυκλάδες, τη Ρόδο και την Κρήτη, περιοχές από τις οποίες επεκτάθηκε η καλλιέργειά της. Σήμερα καλλιεργείται στην Πάρο, όπου καταλαμβάνει το 80% των εκτάσεων των αμπελώνων, στη Θήρα, όπου καταλαμβάνει το 20% των εκτάσεων, στην Κρήτη, στην Εύβοια, στη Βοιωτία και στην Αττική, σε έκταση που ξεπερνάει τα 15.000 στρ. Αναφέρεται από τον Michelle Carlucci (1909) ως *Koundoura* και από τον Rovasenda (1877) ως *Kontori black*. Ο Κριμπάς (1943α), αν και περιγράφει ξεχωριστά τις ποικιλίες *Μανδηλαριά* και *Κουντούρα μαύρη*, επισημαίνει ότι πρόκειται για μία και την αυτή ποικιλία. Η χρήση βιοχημικών μεθόδων (Σταυρακάκης 1982) επιβεβαίωσε την άποψη αυτή.

Είναι γνωστή και ως *Μανδηλάρι*, *Μαντηλάρι*, *Κουντούρα μαύρη*, *Δουμπραίνα μαύρη* και *Αμοργιανό*. Από την εποχή του Πausανία, η *Μανδηλαριά* συμμετείχε ήδη στην παραγωγή του φημισμένου χιώτικου Αριούσιου οίνου. Ακόμη, με το συνώνυμο *Παριανό* αναφέρεται ο πλέον γνωστός κλώνος της ποικιλίας. Στη Σαντορίνη απαντάται μια λευκή ποικιλία που ονομάζεται *Ασπρομαντηλαριά*.

Η καλλιέργεια της ποικιλίας *Μανδηλαριά* συνιστάται για τα αμπελουργικά διαμερίσματα των Δωδεκανήσου, Κρήτης και Κυκλάδων, Ν.Α. Αττικής, Αθηνών και Πειραιώς, για τους νομούς Εύβοιας, Μαγνησίας, Λακωνίας και Λέσβου και επιτρέπεται στους νομούς Μεσσηνίας, Σάμου και Χίου.

1.9.2 Χαρακτηριστικά του Φυτού:

Είναι πολύ εύρωστο, ζωηρό, παραγωγικό, πολύ ευαίσθητο στον περονόσπορο, το βοτρυτή και την όξινη σήψη, και ανθεκτικό στην ξηρασία. Παρουσιάζει καλή συγγένεια με τα περισσότερα υποκείμενα που έχουν χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν, καθώς και με αυτά που χρησιμοποιούνται σήμερα στην Ελλάδα. Διαμορφώνεται σε κύπελλο και γραμμικό αμφίπλευρο κορδόνι (*Royat*) και δέχεται κλάδεμα κοντό στα 2-3 μάτια και όσο το δυνατό ελαφρό κορφολόγημα, για μια ικανοποιητική, σταθερή κάθε χρόνο, παραγωγή. Το κλάδεμα πρέπει να είναι προσαρμοσμένο στη ζωηρότητα του κάθε φυτού (λιγότερα μάτια από αυτά τα οποία το φυτό έχει την ικανότητα να θρέψει οδηγούν στην έκπτυξη πολλών άγονων οφθαλμών από το παλιό ξύλο, ενώ περισσότερα σε ατελή ωρίμανση της παραγωγής).

Λόγω της μεγάλης του ζωηρότητας πρέπει να προτιμούνται αποστάσεις φύτευσης μεγαλύτερες του 1,20 m (φυτό από φυτό). Προτιμά εδάφη ελαφρά, ξηρά, περιοχών με χαμηλό υψόμετρο και ζεστά καλοκαίρια.

Ξεκινά τη βλάστηση στα τέλη του Μάρτη (πρώτο δεκαήμερο του Απρίλη στη βόρεια Ελλάδα) και ωριμάζει όσιμα, τέλη Σεπτέμβρη με αρχές Οκτώβρη. Κάθε καρποφόρα κληματίδα φέρνει 1-2 σταφύλια, μέτρια έως μεγάλα, που ξεπερνούν τα 350 g, κωνικά, πολύ πυκνόρραγα, που κόβονται δύσκολα. Οι ρώγες είναι μέτριας διαμέτρου, 16 mm, και σχετικά μεγάλης μάζας, 2,8 g, σχεδόν σφαιρικές, με φλοιό παχύ, κυανομέλανου χρωματισμού, στυφό και σάρκα άχρωμη, μαλακή, εύχυμη, γλυκιά ως ελαφρά υπόξινη, με 2-3 μεγάλα γίγαρτα. Οι ρώγες αντιπροσωπεύουν το 94% του βάρους του σταφυλιού, ενώ οι φλοιοί μαζί με τα γίγαρτα το 7,5% του βάρους των ρωγών.



Φωτογραφία 1-1: Φωτογραφίες Ενδεικτικών Αμπέλων Μανδηλαρίας

1.9.3 Προϊόν:

Η *Μανδηλαριά* δίνει κρασιά μέσου έως χαμηλού αλκοολικού τίτλου, μέτριας οξύτητας, πλούσια σε χρώμα, επίσης είναι επιδεκτικό μεγάλης παλαιώσης. Συμμετέχει μαζί με το *Κοτσιφάλι* στην παραγωγή των ερυθρών ξηρών κρασιών Ονομασίας Προελεύσεως "Πεζά" και "Αρχάνες" και μαζί με τη Μονεμβασιά στην παραγωγή των ερυθρών ξηρών κρασιών Ονομασίας Προελεύσεως "Πάρος", ενώ μόνη της δίνει τον ερυθρό ξηρό Οίνο Ονομασίας Προελεύσεως "Ρόδος", και επίσης το "Μ" *Μανδηλαριά* του κτήματος Αβαντίς. Χρησιμοποιείται επίσης σε αναμείξεις για την παραγωγή ορισμένων Τοπικών Οίνων (Δωδεκανησιακός, Ηρακλειώτικος, Θραψανών, κ.ά.).

Πίνακας 1-3: Αμπελογραφική Περιγραφή Ελληνικών Ποικιλιών Αμπέλου Σύμφωνα με το ΚΑΠ

Κωδικός αριθμός	Αγρωγίτικο	Αυγουσιάτης	Βερέζαμι	Θραψαθήρι	Κοτσιφάλι	Λαδικινό	Λημιό	Λημιώνα	Λιάτικο	Μανδηλαριά	Μαυροδάφνη	Νεγκόσκα	Ξινόμαυρο	Ροδίτης	Ρομαίικο	Φωκιανό
001	5	7	7	5	6	5	5	7	7	6	6	5	7	5	6	7
003	1	3	3	3	3	6	7	7	4	6	3	5	1	4	5	3
004	6	7	6	7	5	5	5	5	7	6	6	5	7	3	7	1
011	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
015	3	1	3	1	1	4	7	7	1	1	1	1	5	7	1	1
016	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
051	2	1	6	2	3	7	7	7	2	4	1	1	1	2	4	2
065	7	5	5	7	7	6	5	6	7	7	6	6	6	6	7	6
067	3	3	3	3	4	1	3	4	1	4	4	1	1	3	1	5
068	4	4	2	3	5	3	3	3	3	3	3	3	2	2	3	3
072	1	1	1	1	1	1	1	1	9	1	1	9	9	1	1	1
073	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
075	3	3	4	5	3	3	1	3	4	3	3	3	3	1	4	1
080	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
081	1	1	1	1	3	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
084	5	5	5	6	4	1	5	1	5	6	4	4	5	1	6	1
085	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	5	1	1
086	5	5	5	5	3	1	1	1	5	5	4	4	5	1	5	1
087	1	1	5	7	5	5	9	7	1	1	1	1	1	1	7	1
202	6	7	4	7	5	5	5	5	6	5	6	6	6	9	7	7
204	6	7	6	6	6	6	7	6	7	7	6	4	4	4	6	3
206	1	1	1	3	1	1	1	3	1	3	3	1	3	3	1	1
220	5	5	5	5	5	5	5	5	5	7	5	5	5	5	5	5
223	3	3	3	6	6	3	3	3	7	3	2	3	3	3	3	4
241	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

Πίνακας 1-4: Μερικοί Αμπελογραφικοί Χαρακτήρες του ΚΑΠ

Κωδικός	Αμπελογραφικός χαρακτήρας	Βαθμολογική κλίμακα
001	Σχήμα κορυφής νεαρής βλάστησης	3: κλειστό, 5: μετρίως ανοικτό, 7: ανοικτό
003	Ένταση ανθοκυάνης στην κορυφή νεαρής βλάστησης	1: απουσία, 3: αδύνατη, 5: μέτρια, 7: δυνατή, 9: πολύ δυνατή
004	Πυκνότητα ερπύων τριχιδίων στην κορυφή νεαρής βλάστησης	1: απουσία, 3: αραιά, 5: μέτρια, 7: πυκνά, 9: πολύ πυκνά
011	Πυκνότητα όρθιων τριχιδίων στους κόμβους ποώδους βλαστού	1: απουσία, 3: αραιά, 5: μέτρια, 7: πυκνά, 9: πολύ πυκνά
015	Ένταση ανθοκυάνης στους οφθαλμούς ποώδους βλαστού	1: απουσία, 3: αδύνατη, 5: μέτρια, 7: δυνατή, 9: πολύ δυνατή
016	Κατανομή ελίκων στο βλαστό	1: διαλείπουσες, 2: συνεχείς
051	Χρώμα άνω επιφάνειας νεαρού φύλλου	1: πράσινο, 2: πράσινο με χαλκόχρωες κηλίδες, 3: κίτρινο, 4: κίτρινο με χαλκόχρωες κηλίδες, 5: κίτρινο χαλκόχροο, 6: χαλκόχροο, 7: ερυθρωπό
065	Μέγεθος ώριμου φύλλου	1: πολύ μικρό, 3: μικρό, 5: μέτριο, 7: μεγάλο, 9: πολύ μεγάλο
067	Σχήμα ελάσματος ώριμου φύλλου	1: σφηνοειδές, 2: καρδιοσχημο, 3: πενταγωνικό, 4: κυκλικό, 5: νεφροειδές
068	Αριθμός λοβών ώριμου φύλλου	1: κανείς, 2: τρεις, 3: πέντε, 4: επτά, 5: περισσότεροι από επτά
072	Ανωμαλίες του ελάσματος ώριμου φύλλου	1: απουσία, 9: παρουσία
073	Κυματισμός ελάσματος μεταξύ κύριων και δευτερευουσών νευρώσεων ώριμου φύλλου	1: απουσία, 2: στο μισχικό σημείο, 3: παντού
075	Πομφολύγωση στην άνω επιφάνεια του ελάσματος ώριμου φύλλου	1: απουσία, 3: αδύνατη, 5: μέτρια, 7: δυνατή, 9: πολύ δυνατή
080	Σχήμα βάσης μισχικού κόλπου ώριμου φύλλου	1: U, 2: V
081	Ιδιαιτερότητα μισχικού κόλπου ώριμου φύλλου	1: καμία, 2: νεύρωση στο μισχικό σημείο, 3: οδούς
084	Πυκνότητα ερπύων τριχιδίων μεταξύ των νευρώσεων της κάτω επιφάνειας του φύλλου	1: απουσία, 3: αραιά, 5: μέτρια, 7: πυκνά, 9: πολύ πυκνά
085	Πυκνότητα όρθιων τριχιδίων μεταξύ των νευρώσεων της κάτω επιφάνειας του ώριμου φύλλου	1: απουσία, 3: αραιά, 5: μέτρια, 7: πυκνά, 9: πολύ πυκνά
086	Πυκνότητα ερπύων τριχιδίων πάνω στις κύριες νευρώσεις της κάτω επιφάνειας του ώριμου φύλλου	1: απουσία, 3: αραιά, 5: μέτρια, 7: πυκνά, 9: πολύ πυκνά
087	Πυκνότητα όρθιων τριχιδίων πάνω στις κύριες νευρώσεις της κάτω επιφάνειας του ώριμου φύλλου	1: απουσία, 3: αραιά, 5: μέτρια, 7: πυκνά, 9: πολύ πυκνά
202	Μέγεθος σταφυλής	1: πολύ μικρή, 3: μικρή, 5: μέτρια, 7: μεγάλη, 9: πολύ μεγάλη
204	Πυκνότητα σταφυλής	1: πολύ αραιόρραγη, 3: αραιόρραγη, 5: μέτριας πυκνότητας, 7: πυκνόρραγη, 9: πολύ πυκνόρραγη
206	Μήκος ποδίσκου σταφυλής	1: πολύ κοντός, 3: κοντός, 5: μέτριος, 7: μακρύς, 9: πολύ μακρύς
220	Μέγεθος ράγας	1: πολύ μικρή, 3: μικρή, 5: μέτρια, 7: μεγάλη, 9: πολύ μεγάλη
223	Σχήμα ραγών	1: πεπλατυσμένο, 2: δισκοειδές, 3: σφαιρικό, 4: ελλειψοειδές, 5: ωσειδές, 6: κολουρο, 7: αντωσειδές, 8: κυλινδρικό, 9: ατρακτοειδές, 10: γαμψό
241	Παρουσία γιγάρτων	1: απουσία, 2: υποτυπώδη, 3: παρουσία

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2ο: ΕΡΥΘΡΗ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

Ανάλογα με τον τρόπο που εργάζεται ο οινοποιός, το υδραλκοολικό διάλυμα που σχηματίζεται κατά την αλκοολική ζύμωση εμπλουτίζεται, λιγότερο ή περισσότερο, με τα συστατικά του φλοιού και των γιγάρτων. Κατά την αρχαιότητα, τον μεσαίωνα και την αναγέννηση, τότε που η έκθλιψη γινόταν με τα πόδια, ο χυμός είχε ένα ανοιχτό κόκκινο χρώμα, όσο είχε προφτάσει να πάρει από την επαφή με τους φλοιούς των σταφυλιών. Έτσι παράγονταν τα κόκκινα κρασιά, χωρίς ζύμωση παρουσία στεμφύλων και χωρίς την εκχυλισματική δράση του θειώδη ανυδρίτη, ο οποίος αγνοείτο τα χρόνια εκείνα ως οινολογική ουσία.

Να διευκρινιστεί, ακόμη, ότι ο όρος μέθοδος "κλασικής ερυθρής οινοποίησης" χρησιμοποιείται μόνο κατά τα τελευταία χρόνια, σε αντιδιαστολή με τις μεθόδους "ανθρακικής αναεροβίωσης" και "θερμοοινοποίησης", με τις οποίες παράγονται επίσης ερυθροί οίνοι, αλλά με τελείως διαφορετικές τεχνικές.

2.1 Ορισμός και Στάδια:

Κλασική μέθοδος ερυθρής οινοποίησης ονομάζεται η τεχνική, κατά την οποία διεξάγονται ταυτόχρονα δύο φαινόμενα:

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

Η κλασική μέθοδος ερυθρής οινοποίησης αποτελείται από έξι στάδια:

- Έκθλιψη των σταφυλιών με ή χωρίς αποβοστρύχωση.
- Μεταφορά της σταφυλόμαζας στα δοχεία οινοποίησης (δεξαμενές, βαρέλια) με ταυτόχρονη θείωση.
- Αλκοολική ζύμωση των σακχάρων του χυμού του σταφυλιού παρουσία των στερεών μερών της, οπότε πραγματοποιείται ταυτόχρονα και η εκχύλιση των συστατικών των μερών αυτών.
- Διαχωρισμός του ημιζυμωμένου ή αποζυμωμένου γλεύκους από τα στερεά μέρη (στέμφυλα) προς αναγωγή οίνου εκροής.
- Εκκένωση των δεξαμενών από τα στέμφυλα.
- Πίεση των στεμφύλων προς αναγωγή του οίνου πίεσης.

Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι, τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιείται και η προζυμωτική ψυχρή εκχύλιση.

Όλα τα παραπάνω θα εξετασθούν αναλυτικότερα παρακάτω.

2.1.1 Έκθλιψη των Σταφυλιών Με ή Χωρίς Αποβοστρύχωση:

Έκθλιψη των σταφυλιών καλείται το σπάσιμο των ρωγών, οπότε ο χυμός που βρίσκεται στα χυμοτόπια των κυττάρων της σάρκας ελευθερώνεται και έρχεται σε επαφή με τα στερεά μέρη του σταφυλιού και με τα σπόρια των ζυμών και βακτηρίων που επικάθονται στο φλοιό της ρώγας. Η έκθλιψη που γινόταν άλλοτε με τα πόδια, πραγματοποιείται σήμερα με ειδικά μηχανήματα που ονομάζονται θλιπτήρια, κοινώς σπαστήρες.

Υπάρχουν σε χρήση διάφορα είδη θλιπτηρίων (σπαστήρων):

- ◆ θλιπτήρια με δύο κυλίνδρους που περιστρέφονται κατά την αντίθετη φορά με ρυθμιζόμενη ταχύτητα και σε ρυθμιζόμενη απόσταση,
- ◆ θλιπτήρια με έναν κύλινδρο σε περιστροφή που σπάει το σταφύλι πάνω σε μια πλάκα με αυλάκια,
- ◆ θλιπτήρια με δύο κυλίνδρους σε σχήμα σταυρού,
- ◆ θλιπτήρια φυγοκεντρικά τα οποία πραγματοποιούν ταυτόχρονο απορραγισμό που όμως έχουν το μειονέκτημα της βίαιης έκθλιψης.

Απορραγισμός (αποβοστρύχωση) καλείται η απομάκρυνση από το σταφυλοπολλτό των βοστρύχων

(τσάμπουρα). Πρόκειται για μια μηχανική κατεργασία του σταφυλιού της οποίας η χρησιμότητα αμφισβητείται σε πολλές περιπτώσεις ιδίως στην περίπτωση των καλά ώριμων σταφυλιών των οποίων τα τσάμπουρα περιέχουν ταννίνες καλής ποιότητας. Έχει το πλεονέκτημα να μειώνει κατά 30% περίπου τον όγκο του υπό κατεργασία σταφυλοπολτού με αποτέλεσμα τη μείωση του αναγκαίου όγκου δεξαμενών και την πίεση των στεμφύλων που πρέπει να πιέσουμε.

Υπάρχουν διάφοροι τρόποι μηχανικού απορραγισμού. Ένα τέτοιο σύστημα δεν πρέπει να αφήνει ρώγες πάνω στα τσάμπουρα καθώς επίσης δεν πρέπει να τα διαβρέχει με γλεύκος καθώς τα απομακρύνει, πρέπει να αποφεύγεται η βίαιη μεταχείριση των τσαμπούρων γιατί είναι δυνατό να παραλάβουμε χυμό που περιέχεται στα κύτταρά τους και ο οποίος είναι πλούσιος σε πικρά και στυφά συστατικά.

Όσο αφορά στα υλικά κατασκευής των μηχανημάτων αυτών, τα μεταλλικά μέρη κατασκευάζονται σήμερα από ανοξείδωτο χάλυβα, ενώ οι κύλινδροι του θλιπτηρίου κατασκευάζονται από καουτσούκ κατάλληλο για να έρχεται σε επαφή με τρόφιμα.

Η επιλογή του τύπου του θλιπτηρίου ή και απορραγιστηρίου εξαρτάται ουσιαστικά από τον όγκο της ημερήσιας παραλαβής των σταφυλιών και τη διάταξη του συγκροτήματος παραλαβής και επεξεργασίας των σταφυλιών του κάθε οινοποιείου. Όμως όποιου τύπου θλιπτήριο και αν επιλεγεί, πρέπει να ανταποκρίνεται στις εξής προδιαγραφές:

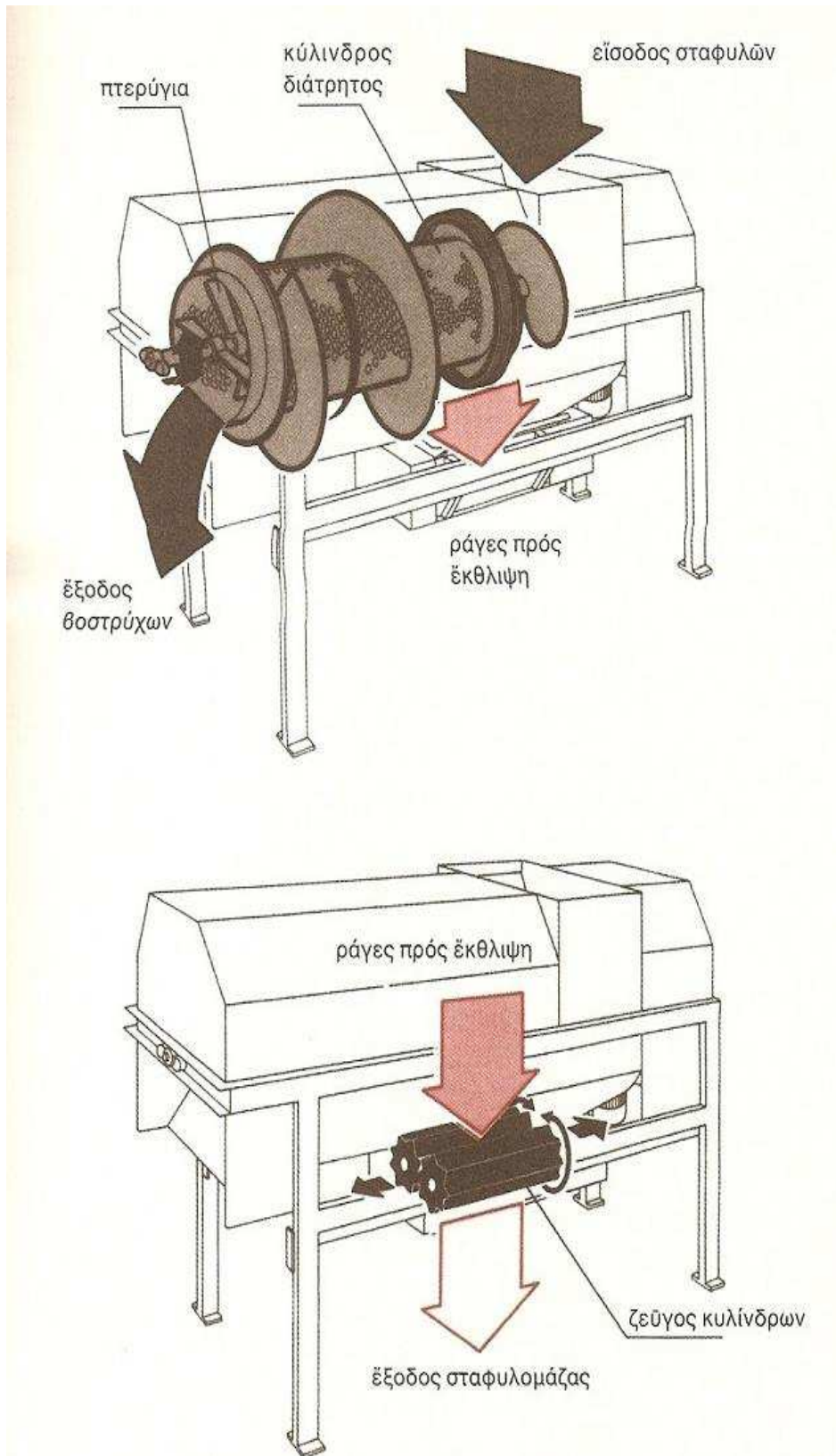
- ◆ η μηχανική κατεργασία πρέπει να μην είναι βίαιη, ώστε οι φλοιοί και οι βόστρυχοι να μη "μασιούνται" και τα γίγαρτα να μη σπάζουν, γιατί τότε το ποσοστό των οινοπλαστών είναι υψηλό, το δε γλεύκος επιβαρύνεται με ουσίες, επιβλαβείς για την ποιότητα του οίνου (κακής ποιότητας ταννίνες, ελαιούχες ουσίες, εξανόλη και παράγωγα που δίνουν χορτώδη γεύση),
- ◆ τα υλικά κατασκευής του μηχανήματος να μην εμπλουτίζουν το γλεύκος με μέταλλα και να είναι κατάλληλα για τρόφιμα,
- ◆ ο μηχανισμός να παρέχει τη δυνατότητα ρύθμισης των αποστάσεων μεταξύ των κυλίνδρων ανάλογα με το μέγεθος των σταφυλιών ή των ρωγών και να υπάρχει σύστημα ασφαλείας για περιπτώσεις εισόδου ξένου σώματος (πέτρες, ξύλα κ.λπ.), ώστε να αποφεύγονται οι βλάβες,
- ◆ η λειτουργία του να είναι αθόρυβη για την προστασία των εργαζομένων από την ηχορύπανση.

Παρακάτω (σχ. 2-1) παρουσιάζεται ένα σύγχρονο θλιπτήριο-αποβοστρυχωτήριο αποτελούμενο από δύο μέρη, τα οποία απεικονίζονται χωριστά, ώστε να γίνει αντιληπτός ο διπλός τρόπος λειτουργίας του. Στο πάνω μέρος, που λειτουργεί ως απορραγιστήριο, υπάρχει μια χοάνη παραλαβής των σταφυλιών όπου ένας ατέρμονας κοχλίας τα εισάγει σε διάτρητο κύλινδρο, στο κέντρο του οποίου περιστρέφεται με αργή περιφερειακή ταχύτητα, ένας άξονας με περύγια. Προς την ίδια φορά περιστρέφεται και ο κύλινδρος, ώστε να αποφεύγονται τριβές και τεμαχισμός των βοστρύχων, αλλά έχει μικρότερη ταχύτητα. Οι βόστρυχοι ωθούνται προς την έξοδο του μηχανήματος, ενώ οι ρώγες περνούν από τις οπές του κυλίνδρου και πέφτουν στο κάτω μέρος του μηχανήματος, το οποίο λειτουργεί σαν θλιπτήριο. Αποτελείται από τους δύο γνωστούς κυλίνδρους, οι οποίοι κινούνται αργά με την ίδια ταχύτητα κατά αντίστροφη φορά. Οι σπασμένες ρώγες εξέρχονται από το κάτω μέρος του θλιπτηρίου και μεταφέρονται με ατέρμονα κοχλίας ή άλλα μέσα μεταφοράς, σε δεξαμενές ζύμωσης.

2.1.2 Μεταφορά της σταφυλόμαζας:

Η σταφυλόμαζα που βγαίνει από τα θλιπτήρια μεταφέρεται στις "δεξαμενές οινοποίησης" ή τους "οινοποιητές" με ή χωρίς τα τσάμπουρα, ανάλογα με την τύπο του θλιπτηρίου που χρησιμοποιήθηκε. Ταυτόχρονα γίνεται θείωση με τη βοήθεια θειοδομετρητών. Η μεταφορά πραγματοποιείται συνήθως με ειδική αντλία που ονομάζεται στην πράξη "αντλία τρύγου" προς διαφοροποίησή της από τις άλλες αντλίες του οινοποιείου. Όταν όμως το θλιπτήριο είναι τοποθετημένο ψηλότερα από την οροφή των δεξαμενών, η μεταφορά γίνεται με ατέρμονα κοχλίας ή μεταφορική ταινία ή απλώς με τη βαρύτητα. Στις μικρές μονάδες το θλιπτήριο είναι φορητό και

τοποθετείται στην οροφή της δεξαμενής ή πάνω από το άνοιγμα των ξύλινων κάδων της ερυθής οινοποίησης.



Σχήμα 2-1: Σύγχρονο Θλιπτήριο - Αποβοστρυχωτήριο Σταφυλών

2.1.3 Προζυμωτική Ψυχρή Εκχύλιση:

Η προζυμωτική ψυχρή εκχύλιση γίνεται κατά προτίμηση σε αναερόβιες συνθήκες υπό ανάδευση σε θερμοκρασίες 4 με 15°C για 2 έως 7 ημέρες, παρόλο που κάποιοι οινοποιοί επιμηκύνουν αυτό το διάστημα ακόμα και στις 10 ή 14 ημέρες. Η διατήρηση της χαμηλής θερμοκρασίας είναι πρωταρχική για τη μείωση της πιθανότητας να προσβληθεί το κρασί από μικροοργανισμούς (π.χ. *Acetobacter*, *Brettanomyces*, *Kloeckera/Hanseniaspora* κ.ά.). Σύμφωνα με τις έρευνες φαίνεται ότι η μέγιστη εκχύλιση των φαινολικών συστατικών επιτυγχάνεται μετά από 2-5 ημέρες. Οι μικρότερες θερμοκρασίες εκχύλισης όπως έχει φανεί οδηγούν συνήθως σε πιο αρωματικά κρασιά αλλά με πιο ασθενές χρώμα και μικρότερο φαινολικό περιεχόμενο. Παρόλα αυτά πρέπει να σημειωθεί ότι ο υπολογισμός της θερμοκρασίας και του χρόνου της ψυχρής εκχύλισης εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την ποικιλία και την κατάσταση των σταφυλιών προς οινοποίηση.
(Ben Rotter, 2009)

2.1.4 Αλκοολική Ζύμωση - Εκχύλιση:

Κατά την αλκοολική ζύμωση αποικοδομούνται, ως γνωστόν, τα σάκχαρα του χυμού του σταφυλιού με σχηματισμό αιθυλικής αλκοόλης, διοξειδίου του άνθρακα και μικρών ποσοτήτων ενός μεγάλου αριθμού άλλων ουσιών, που καλούνται "δευτερεύοντα προϊόντα" της αλκοολικής ζύμωσης.

Το δεύτερο φαινόμενο αυτού του σταδίου, που είναι, όπως προαναφέρθηκε, η εκχύλιση των συστατικών των στερεών μερών του σταφυλιού, επηρεάζεται από της συνθήκες που επικρατούν κατά τη διεξαγωγή του σταδίου και ειδικότερα από τους εξής παράγοντες: σχηματιζόμενη αιθυλική αλκοόλη, θερμοκρασία, διάρκεια παραμονής του ζυμούμενου γλεύκους με τα στέμφυλα, αναλογία γλεύκους και στεμφύλων, ρυθμός διαβροχής των στεμφύλων με το γλεύκος, θειώδης ανυδρίτης.

Στο κεφάλαιο 3 εξετάζεται ο ρόλος αυτών των παραγόντων στην εκχύλιση των φαινολικών παραγόντων, τα οποία διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση του χρώματος και των οργανοληπτικών χαρακτήρων των ερυθρών οίνων, καθώς και την αντοχή τους στην παλαιώση.

Όλα τα στερεά που περιέχει ο σταφυλοπολτός ενώνονται σε μια μάζα (καπέλο) αρκετά συνεκτική, η οποία καταλαμβάνει το επάνω μέρος της δεξαμενής ζύμωσης, κάτι το οποίο οφείλεται στην ισχυρή πίεση που ασκείται από το διοξείδιο του άνθρακα που εκλύεται.

Η εκλογή του είδους της δεξαμενής ερυθρής οινοποίησης εξαρτάται κυρίως από τον επιθυμητό χρόνο εκχύλισης καθώς επίσης και με το γεγονός ότι μετά το τέλος της έντονης ζύμωσης τα στέμφυλα πρέπει να είναι προστατευμένα από την επαφή με τον αέρα εφόσον η έκλυση CO₂ μειώνεται σημαντικά. Η μεγάλη σε όγκο και πορώδης επιφάνεια των στεμφύλων, με την επίδραση του οξυγόνου του αέρα που αρχίζει να διεισδύει στη δεξαμενή, ευνοεί την ανάπτυξη των βακτηρίων, σε τόσο μεγαλύτερο βαθμό όσο μεγαλύτερη επιφάνεια επαφής με το εξωτερικό περιβάλλον διαθέτει και όσο ο χρόνος εκχύλισης είναι μεγαλύτερος.

Μια δεξαμενή με μεγάλο άνοιγμα οροφής προσφέρεται για ευκολότερη απώλεια παραγόμενης θερμότητας, η οποία αποτελεί παρεμποδιστικό (ανασταλτικό) παράγοντα στην πλήρη ζύμωση των σακχάρων. Επίσης η σύντομη παραμονή στη δεξαμενή υποδοχής του σταφυλοπολτού έχει σαν συνέπεια την επιβράδυνση της αλκοολικής ζύμωσης, χάρη στο γεγονός ότι απαλλάσσεται το γλεύκος από ένα σημαντικό μέρος των μυκήτων, και έτσι γίνεται εφικτή η μείωση της θερμοκρασίας ενώ συγχρόνως απομακρύνεται μεγάλο μέρος των οξικών βακτηρίων.

Έχουμε τέσσερα βασικά είδη δεξαμενών οινοποίησης:

- ◆ ανοιχτές δεξαμενές με επιπλέοντα στέμφυλα
- ◆ ανοιχτές δεξαμενές με βυθισμένα στέμφυλα
- ◆ κλειστές δεξαμενές με επιπλέοντα στέμφυλα
- ◆ δεξαμενές με ειδικό εξοπλισμό,

τα οποία εξηγούνται περαιτέρω παρακάτω.

2.1.4.1 Ανοιχτές Δεξαμενές με Επιπλέοντα Στέμφυλα:

Είναι ιδιαίτερα χρήσιμες για οινοποίηση σε θερμές χώρες και για γλεύκη με αυξημένη

περιεκτικότητα σε σάκχαρα. Αυτό γιατί επιτρέπει την καλύτερη επαφή με τον αέρα, η θερμοκρασία ζύμωσης είναι πιο χαμηλή λόγω έκλυσης μεγαλύτερων ποσών θερμότητας και επίσης είναι ευκολότερος ο έλεγχος της κατάστασης της μάζας των στεμφύλων. Το μειονέκτημα τους είναι ότι διευκολύνεται η απώλεια αιθανόλης, απώλεια που μπορεί να φτάσει το 0,5% Vol. Ακόμη αυξάνεται ο κίνδυνος ανάπτυξης οξικών βακτηρίων στα στέμφυλα λόγω μεγαλύτερης επιφάνειας επαφής με τον ατμοσφαιρικό αέρα και για αυτό είναι απαραίτητο να βυθίζουμε περιοδικά τα στέμφυλα μέσα στο γλεύκος, κάτι το οποίο είναι εφικτό μόνο σε μικρής χωρητικότητας δεξαμενές οινοποίησης. Οι δεξαμενές αυτού τύπου είναι καταλληλότερες για σύντομες εκχύσεις. Ο διαχωρισμός του γλεύκους πρέπει να γίνεται όσο ακόμη διαρκεί η έντονη έκλυση του CO₂ η οποία εμποδίζει την εισαγωγή του ατμοσφαιρικού αέρα.

Αξίζει να σημειωθεί ότι τις χρονιές, όπου κατά τη διάρκεια της περιόδου της ζύμωσης επικρατεί χαμηλή θερμοκρασία, είναι πιθανό να σταματήσει η αλκοολική ζύμωση, και επίσης στο κρασί το οποίο προέρχεται από πίεση των στεμφύλων παρατηρείται αυξημένη πτητική οξύτητα.

2.1.4.2 Ανοιχτές Δεξαμενές με Βυθισμένα Στέμφυλα:

Σε αυτές τις δεξαμενές με την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης βυθίζονται τα στέμφυλα λίγα εκατοστά κάτω από την επιφάνεια του γλεύκους όπου και κρατώνται σε όλη τη διάρκεια της ζύμωσης με τη βοήθεια πλέγματος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η επιφάνεια επαφής με τον αέρα να είναι περιορισμένη οπότε να μην επιτρέπεται η ανάπτυξη αερόβιων βακτηρίων, και έτσι παράγονται κρασιά με χαμηλή πτητική οξύτητα. Επίσης στις συγκεκριμένες δεξαμενές είναι επιτρεπτή μια πιο παρατεταμένη εκχύλιση αν και δεν είναι τόσο καλή όσο θα ήταν αναμενόμενο, με αποτέλεσμα και σε αυτή την περίπτωση να είναι απαραίτητη η ανακύκλωση του γλεύκους.

2.1.4.3 Κλειστές Δεξαμενές με Επιπλέοντα Στέμφυλα:

Είναι δεξαμενές εφοδιασμένες με σύστημα που επιτρέπει την έξοδο του διοξειδίου του άνθρακα χωρίς να επιτρέπεται η είσοδος του ατμοσφαιρικού αέρα με αποτέλεσμα να αποκλείεται κάθε κίνδυνος αερόβιας ζύμωσης. Εδώ οι απώλειες της αιθανόλης είναι ελάχιστες. Επίσης έχουν το πλεονέκτημα ότι είναι εφικτή η χρησιμοποίησή τους και σαν δεξαμενές φύλαξης του έτοιμου πλέον κρασιού.

Μειονέκτημα των δεξαμενών αυτού του είδους είναι η απόλυτη απουσία οξυγόνου, απαραίτητο για την ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης. Ένα τέτοιο πιθανό σταμάτημα της αλκοολικής ζύμωσης μπορεί να οδηγήσει σε αναερόβια ανάπτυξη βακτηρίων. Για να ξεπεραστεί αυτό το πρόβλημα κρίνεται απαραίτητη η πραγματοποίηση "παλίρροιας" με ταυτόχρονο αερισμό του ανακυκλούμενου γλεύκους, απαραίτητου στην αρχή της αλκοολικής ζύμωσης. Στην υπόλοιπη περίοδο της αλκοολικής ζύμωσης, η ανακύκλωση, απαραίτητη για την εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων, μπορεί να γίνει χωρίς ταυτόχρονο αερισμό.

Υπάρχουν πολλές παραλλαγές τέτοιων δεξαμενών, οι οποίες πρέπει να είναι εφοδιασμένες με σύστημα ψύξης. Ο πιο συνηθισμένος τύπος είναι η κλειστή δεξαμενή με επιπλέοντα στέμφυλα χωρίς σύστημα που να εμποδίζει την είσοδο του ατμοσφαιρικού αέρα, όπου το ρόλο αυτό τον παίζει το καπάκι του στομίου της οροφής.

2.1.4.4 Δεξαμενές με Ειδικό Εξοπλισμό:

Τέτοιες δεξαμενές μπορεί να διαθέτουν αυτόματο άδειασμα ώστε να διευκολύνεται το άδειασμα της δεξαμενής από τα στέμφυλα, εργασία εξαιρετικά επίπονη. Ανάλογα με την κατασκευή τους διαθέτουν:

- ◆ Κωνικό πυθμένα
- ◆ Πυθμένα με ατέρμονα κοχλία
- ◆ Επικλινή πυθμένα.

Επίσης μπορεί να είναι δεξαμενές με αυτόματη μέθοδο εκχύλισης:

- ◆ Δεξαμενές με αυτόματη ανακύκλωση που γίνεται χάρη στην πίεση του εκλυόμενου CO₂

- ◆ Δεξαμενές με δυνατότητα περιστροφής γύρω από τον άξονα ώστε να διευκολύνουν τη διάλυση των φαινολικών ενώσεων
- ◆ Δεξαμενές που διαθέτουν σύστημα μηχανικής ανάδευσης των στεμφύλων.

Υπάρχουν ακόμα δεξαμενές οι οποίες διαθέτουν σύστημα που επιτρέπει την μηχανική εμβύθιση του καπέλου με τη βοήθεια εμβόλου.

2.1.4 Διαπίστωση του Τέλους της Αλκοολικής Ζύμωσης:

Η πορεία της αλκοολικής ζύμωσης παρακολουθείται με καθημερινή μέτρηση του ειδικού βάρους, οπότε όταν αυτό μειωθεί στο 1,00 g/mL, η μέτρηση του ειδικού βάρους δεν είναι αρκετή για τον προσδιορισμό του τέλους της αλκοολικής ζύμωσης, δηλαδή της εξαφάνισης όλων των σακχάρων που μπορούν να ζυμωθούν. Στην περίπτωση αυτή είναι απαραίτητη η ακριβής μέτρηση των σακχάρων. Υπολογίζεται ότι η αλκοολική ζύμωση έχει ολοκληρωθεί όταν η περιεκτικότητα σε σάκχαρα, μετρημένη με το φελίγγειο υγρό, είναι μικρότερη από 2 g/L.

2.1.5 Διαχωρισμός του Γλεύκους από τα Στέμφυλα:

Ανάλογα με τον τύπο του οίνου που πρόκειται να παραχθεί από συγκεκριμένη ποικιλία ή ποικιλίες, το γλεύκος διαχωρίζεται από τα στέμφυλα:

- ◆ Είτε έπειτα από σύντομη παραμονή της θειωμένης σταφυλόμαζας σε συγκεκριμένη θερμοκρασία και πριν αρχίσει η αλκοολική ζύμωση (προζυμωτική εκχύλιση).
- ◆ Είτε κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης (εκχύλιση εν θερμώ), οπότε εκρέει ζυμούμενο γλεύκος.
- ◆ Είτε κατά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης ή και καμιά δεκαριά ημέρες έπειτα από αυτή, οπότε εκρέει νέος οίνος προοριζόμενος για παλαίωση.

Το γλεύκος της πρώτης περίπτωσης ή το ζυμούμενο γλεύκος της δεύτερης, μεταφέρεται σε δεξαμενές, όπου η αλκοολική ζύμωση διεξάγεται σε χαμηλές θερμοκρασίες όπως στην περίπτωση των λευκών οινοποιήσεων, γιατί δε συντρέχουν πια οι λόγοι που υπαγόρευαν τις αυξημένες θερμοκρασίες κατά την οινοποίηση παρουσία στεμφύλων. Ο "οίνος εκροής" που παράγεται από την αποζύμωση αυτών των γλευκών, καθώς και ο "οίνος εκροής" που λαμβάνεται απευθείας στη τρίτη περίπτωση, μεταφέρονται στις δεξαμενές παραμονής και επεξεργασίας των οίνων. Η μεταφορά τόσο των γλευκών, όσο και των οίνων, γίνεται με σωληνώσεις -μόνιμες ή φορητές- με τη βοήθεια αντλιών ή, εάν το οινοποιείο είναι κατάλληλα διαρρυθμισμένο, με τη βαρύτητα.

2.1.5 Απομάκρυνση των Στεμφύλων από τις Δεξαμενές:

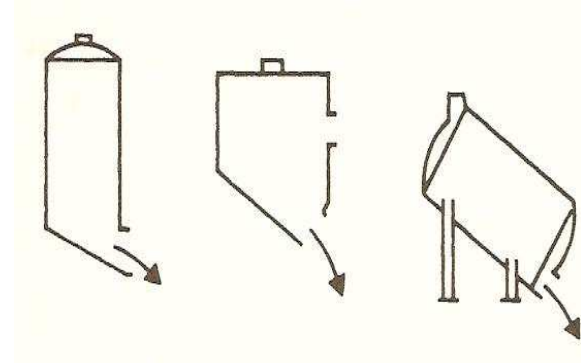
Η απομάκρυνση των στεμφύλων από τις δεξαμενές, μετά την εκροή του γλεύκους ή του οίνου, γίνεται ακόμη και σήμερα στα περισσότερα οινοποιεία χειρωνακτικά. Μέχρι πρόσφατα, για να γίνει το άδειασμα των δεξαμενών από τα στέμφυλα έπρεπε να μπει άνθρωπος μέσα στη δεξαμενή από την ανθρωποθυρίδα, αφού προηγουμένως είχε γίνει καλός αερισμός ώστε να έχει απομακρυνθεί το διοξείδιο του άνθρακα. Πρόκειται για ανθυγιεινή και κουραστική εργασία (υψηλή θερμοκρασία, αναθυμιάσεις αλκοόλης, CO₂). Σήμερα το άδειασμα γίνεται συνήθως από έξω. Για να μπορεί να πραγματοποιηθεί μια τέτοια εργασία θα πρέπει:

- ◆ οι δεξαμενές να έχουν πυθμένα επικλινή προς την πόρτα ή να έχουν τοποθετηθεί σε επικλινή θέση (σχ. 1-2),
- ◆ οι πόρτες να έχουν μεγάλο σχήμα (60x80 cm ή 80 cm διάμετρο) και να έχουν τοποθετηθεί χαμηλά στη δεξαμενή (σχ. 1-3),
- ◆ το ύψος του πυθμένα της δεξαμενής από το δάπεδο να είναι 0,85-1 m.

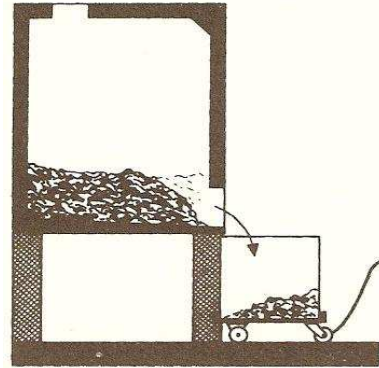
Τα στέμφυλα αδειάζονται κατευθείαν στο πιεστήριο εάν αυτό είναι κινητό ή μεταφέρονται σε αυτό με διάφορα μέσα ανάλογα με τη διάταξη και τους χώρους του οινοποιείου (ατέρμονες κοχλίες, αναβατόρια, μεταφορικές ταινίες, καροτσάκια κ.λπ.). Όλα αυτά τα μέσα μεταφοράς, κινητά ή μόνιμα, δεν πρέπει να έχουν φάρδος μεγαλύτερο από 60 cm, ώστε να μην εμποδίζουν τη χειρωνακτική εργασία μπροστά στις δεξαμενές (σχ. 1-4).

2.1.7 Πίεση των Στεμφύλων:

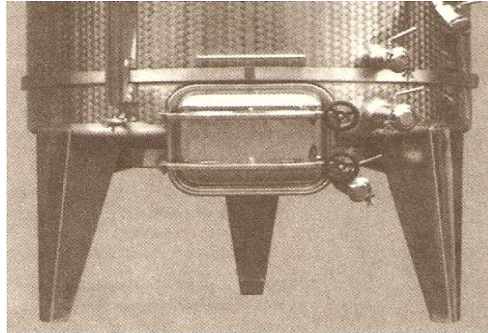
Μετά την εκροή του ζυμούμενου γλεύκους ή του οίνου, τα στέμφυλα εξακολουθούν να κρατούν ένα ποσοστό που παραλαμβάνεται με ήπια πίεση (τα συνεχή πιεστήρια συνήθως αποφεύγονται). Εάν τα σταφύλια που οινοποιήθηκαν προέρχονται από εκλεκτές ποικιλίες και η οινοποίηση πραγματοποιήθηκε υπό συνθήκες που δεν ευνόησαν τη δράση οξικών βακτηρίων, η πρώτη πίεση



Σχήμα 1-2: Δεξαμενές, στις οποίες η απομάκρυνση των στεμφύλων γίνεται με τη βαρύτητα και βοηθητική εργασία από έξω: οι δύο πρώτες με επικλινή πυθμένα, η τρίτη τοποθετημένη σε επικλινή θέση



Σχήμα 1-3: Απομάκρυνση των στεμφύλων από υπερυψωμένη δεξαμενή με χειρωνακτική εργασία από έξω



Σχήμα 1-4: Πόρτα δεξαμενής αυτόματης διεξαγωγής της ερυθρής οινοποίησης -μεγάλη και χαμηλά τοποθετημένη- για την εύκολη απομάκρυνση των στεμφύλων

των στεμφύλων οδηγεί σε ένα "οίνο πρώτης πίεσης" ανάλογο προς τον "οίνο εκροής" και μάλιστα πιο πλούσιο σε αρωματικά συστατικά και σε χρώμα, χωρίς να είναι ιδιαίτερα στυφός. Όμως στους ιστούς των στεμφύλων παραμένει εγκλωβισμένος ο δικός τους χυμός που παραλαμβάνεται με ισχυρότερη πίεση. Ο οίνος της πίεσης αυτής έχει πολύ στυφή και χορτώδη γεύση που είναι τόσο πιο απωθητική, όσο πιο κοινή η ποικιλία αμπέλου και όσο πιο κακό το πιεστήριο.

2.2 Μετάγγιση των Νέων Οίνων:

Τους πρώτους μήνες που ακολουθούν, ο οίνος έχει ανάγκη μεταγγίσεων που σκοπό έχουν να το απαλλάξουν από τα στερεά υπολείμματα που καθιζάνουν φυσιολογικά κατά τη διάρκεια παραμονής. Ο αριθμός των μεταγγίσεων και ο χρόνος πραγματοποίησής τους εξαρτάται από τις συνθήκες της κάθε περιοχής και κυμαίνεται από 2 φορές μέχρι 4 στον πρώτο χρόνο ανάλογα με τις ανάγκες του ίδιου του κρασιού. Οι οίνοι που πρόκειται να εμφιαλωθούν νέοι και οι οποίοι διαυγάζονται έχουν ανάγκη από ελάχιστες μεταγγίσεις και ορισμένες φορές δεν υπάρχει καν η ανάγκη μετάγγισης τους. Η μετάγγιση πρέπει να γίνεται με τρόπο που να αποφεύγεται κατά το δυνατόν η επαφή με τον ατμοσφαιρικό αέρα. Αυτό είναι εφικτό να γίνει με τη χρησιμοποίηση αδρανούς αερίου. Σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως περίσσεια CO₂ ή/και αναγωγικών οσμών, η μετάγγιση γίνεται με ταυτόχρονο αερισμό. Απαραίτητη προϋπόθεση κάθε μετάγγισης είναι το απογέμισμα της δεξαμενής στην οποία μεταφέρεται το κρασί, ο έλεγχος και η συμπλήρωση του θειώδη ανυδρίτη.

2.3 Τύποι Ερυθρών Οίνων:

Ο τρόπος που θα οινοποιηθεί μια ποικιλία πλούσια σε χρώμα οδηγεί σε διαφορετικούς τύπους ερυθρών οίνων. Συγκεκριμένα:

- i. Οίνοι πρώιμης κατανάλωσης (*nouveau*)
- ii. Οίνοι ερυθροί ενός-δύο ετών ζωής
- iii. Ερυθροί οίνοι προς παλαίωση

Παρακάτω παρουσιάζονται αναλυτικά οι τύποι των οίνων.

2.3.1 Οίνοι πρώιμης κατανάλωσης (*nouveau*):

Αυτού του είδους οι οίνοι απαιτούν αποβοστρύχωση με πολύ ελαφρά έκθλιψη, έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης χωρίς καθυστερήσεις, ώστε οι πρώτοι βαθμοί αλκοόλης να σχηματιστούν τάχιστα, θερμοκρασία εκχύλισης 20-25°C, ανακυκλώσεις με βραδύ ρυθμό και χωρίς πολλούς αερισμούς, πολύ σύντομη παραμονή του ζυμούμενου γλεύκους με τα στέμφυλα, αποζύμωση του γλεύκους εκροής σε θερμοκρασία μικρότερη των 20°C, όχι μηλογαλακτική ζύμωση τουλάχιστον στους ελληνικούς οίνους, ανάγκη καλής θείωσης και αποφυγής αερισμών, γιατί αυτοί οι οίνοι είναι πολύ ευαίσθητοι στις οξειδώσεις. Ο παραγόμενος οίνος έχει φωτεινό ερυθρό χρώμα οφειλόμενο σε ελεύθερες ανθοκυάνες, διατηρεί το άρωμα και τη γεύση της ποικιλίας, θυμίζει κυρίως φρούτα, είναι ευκολόπιος, χωρίς τραχύτητα και στυφάδα αφού δεν έχει πολλές ταννίνες. Οι οίνοι αυτού του τύπου έχουν σύντομη ζωή· πρέπει να καταναλώνονται εντός των έξι πρώτων μηνών από την παραγωγή τους, γιατί η έλλειψη ταννινών συνεπάγεται ταχεία οξείδωση των ελεύθερων ανθοκυανών και απώλεια χρώματος και του φρουτώδους χαρακτήρα τους.

2.3.2 Οίνοι ερυθροί ενός-δύο ετών ζωής:

Τέτοιοι οίνοι απαιτούν αποβοστρύχωση με μέτρια έκθλιψη, ταχεία έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης, θερμοκρασία εκχύλισης 25-30°C, ανακυκλώσεις με μέτριο ρυθμό χωρίς πολλούς αερισμούς, χρόνος διαχωρισμού του ζυμούμενου γλεύκους από τα στέμφυλα ανάλογα με την ποικιλία και πάντως πριν από το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης, αποζύμωση του γλεύκους εκροής σε θερμοκρασία μικρότερη των 20°C, μηλογαλακτική ζύμωση προς βιολογική σταθεροποίηση μόνο εάν η γευστική ισορροπία το επιτρέπει. Το χρώμα των οίνων αυτών οφείλεται κατά μεγάλο ποσοστό σε ανθοκυάνες ενωμένες με ταννίνες, για αυτό είναι πιο βαθύ και πολύ πιο σταθερό από το χρώμα των προηγούμενων οίνων. Η γεύση τους είναι περισσότερο ή λιγότερο μαλακιά, ανάλογα με την ποικιλία· το ίδιο και ο αρωματικός χαρακτήρας τους. Η αντοχή τους στο χρόνο είναι περιορισμένη· δεν αντέχουν παρά μόνο σε μια σύντομη ωρίμανση σε βαρέλι· συνήθως μετά τους έξι μήνες σε βαρέλι γερνάνε, δεν παλαιώνουν. Πρέπει να καταναλωθούν μέσα στα δύο πρώτα χρόνια από την παραγωγή τους.

2.3.3 Ερυθροί οίνοι προς παλαίωση:

Για να μπορεί ένας οίνος να αντέξει στο χρόνο, δηλαδή να παλαιώσει στο βαρέλι και μετά στη φιάλη χωρίς να γεράσει, αλλά αντίθετα να αναπτύξει το βέλτιστο των αρωματικών και γευστικών χαρακτήρων του, πρέπει να οινοποιηθεί κατά τέτοιο τρόπο, ώστε να είναι πλούσιος όχι μόνο σε ανθοκυάνες, αλλά κυρίως σε τανοειδής ουσίες, να έχει παραληφθεί το μεγαλύτερο μέρος των αρωματικών ενώσεων και των πρόδρομων αρωματικών ενώσεων, καθώς και όλων εκείνων των συστατικών που συντελούν στη δημιουργία "σώματος" και γενικά γευστικού πλούτου.

Αυτό προϋποθέτει: αποβοστρύχωση, έκθλιψη που να ευνοεί την πλήρη αποδιοργάνωση της κυτταρικής δομής, υψηλή θερμοκρασία εκχύλισης (30-35°C), εντατικό ρυθμό ανακύκλωσης, μακρά παραμονή του γλεύκους με τα στέμφυλα (μέχρι το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης ή και αργότερα), χρησιμοποίηση μέρους του οίνου πίεσης, μηλογαλακτική ζύμωση προς βιολογική σταθεροποίηση. Οι οίνοι αυτοί συνήθως δεν πίνονται νέοι, είναι πολύ στυφοί και τραχείς, δεν έχουν χαρακτήρες αρωματικούς. Ανάλογα με την ποιότητα της ποικιλίας, θα αποδώσουν το ποιοτικό τους δυναμικό παλαιώνοντας σε βαρέλια (φάση οξειδωτικής παλαίωσης) και μετά σε φιάλες (φάση

αναγωγικής παλαίωσης).

Όλα όσα προαναφέρθηκαν προϋποθέτουν σταφύλια υγιή από αμπελώνες με μέτριο φορτίο ανά πρέμνο. Είναι πάντως φανερό, ότι είναι λανθασμένη η άποψη ότι ο παλαιός ερυθρός οίνος είναι εκλεκτής ποιότητας. Για να ισχύει αυτό, πρέπει να έχει παρασκευαστεί με τέτοιο τρόπο, ώστε να αντέχει στο χρόνο. Διαφορετικά, παλαιώνοντάς τον οξειδώνεται και γερνάει αντί να βελτιώνεται.

2.4 Αποθήκευση και Παλαίωση Οίνου:

Κατά την παλαίωση του οίνου συμβαίνουν διάφορες μεταβολές στη χημική του σύσταση, τόσο ως προς τις περιεχόμενες ταννίνες όσο και ως προς τις ανθοκυάνες που σχετίζονται με το χρώμα του οίνου. Ειδικά για τις ανθοκυάνες έχει παρατηρηθεί η συστηματική μείωση των κατά την αποθήκευση από αρκετούς ερευνητές (Gomez-Plaza et al., 2001, Alcalde-Eon et al., 2006, Boido et al., 2006, Fulcrand et al., 2006, Gonzalez-Neves et al., 2009, Burin et al., 2010). Αυτό μπορεί να εξηγηθεί καθώς τα μονομερή των ανθοκυανών μπορούν να συμμετάσχουν σε πολλές αντιδράσεις συμπύκνωσης (πολυμερή) κατά την αποθήκευση όπως και σε υδρολυτικές και άλλες αντιδράσεις αποικοδόμησης των σε μικρότερο βαθμό (Santos-Buelga et al., 1999, Monagas et al., 2005, Ribichaud & Noble, 1990).

Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα κατά την αποθήκευση να μην υπάρχει σταθερότητα του χρώματος, με τη μεταβολή που προκαλείται από τον πολυμερισμό, την οξείδωση και τη συμπύκνωση των ανθοκυανών και των πολυφαινολών κατά τη διάρκεια αυτή (Heredla and Guzman-Chozas, 1993, Davis and Mazza, 1993).

2.4.1 Χρησιμοποίηση Ξύλινων Βαρελιών στην Οινοποίηση και Παλαίωση:

Όσον αφορά στη ζύμωση, η χρησιμοποίηση ξύλινων βαρελιών έχει ελάχιστα πλεονεκτήματα συγκρινόμενη με τα άλλα είδη δεξαμενών, και ιδίως των ανοξειδωτών, και πρέπει να αποφεύγεται γιατί έχει το μειονέκτημα του δύσκολου καθαρισμού τους.

Η χρησιμοποίησή τους είναι επιβεβλημένη όμως στη διαδικασία παραγωγής οίνων που προορίζονται για παλαίωση και ιδίως αυτής των ερυθρών. Το γέμισμα των βαρελιών γίνεται με φρέσκο οίνο αμέσως μετά τη ζύμωση ή μετά τη διαύγασή του. Ο χρόνος παραμονής του οίνου σε ξύλινο βαρέλι εξαρτάται από τον κάθε οίνο και αποφασίζεται με κριτήριο τις οργανοληπτικές δοκιμές. Στην περίπτωση των ερυθρών οίνων οι ταννίνες του ξύλου δημιουργούν ένα αρμονικό σύνολο με τις ταννίνες του σταφυλιού. Απαραίτητη προϋπόθεση είναι ο οίνος να περιέχει αρκετό ποσό ταννινών ώστε να μην υπερισχύουν οι ταννίνες του ξύλου. Ακόμη το βαρέλι να έχει χρησιμοποιηθεί όχι περισσότερες από 7 ή 8 φορές γιατί όπως είναι φυσικό διαδοχικές χρήσεις εξαντλούν τις ταννίνες του ξύλου.

Στις περιπτώσεις που το βαρέλι μένει κενό μετά τη χρησιμοποίησή του πρέπει να πλένεται με επιμέλεια, να στεγνώνει και να θειώνεται ο κενός του χώρος με σκοπό την αποφυγή ανάπτυξης μικροοργανισμών στην επιφάνεια του ξύλου.

Η χρήση των ξύλινων βαρελιών είναι σπανιότερη στην περίπτωση των λευκών οίνων και σκοπό έχει τον εμπλουτισμό του οίνου με ταννίνες, η ύπαρξη των οποίων είναι απαραίτητη στην παλαίωση των οίνων λόγω των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων τους.

Η επαφή του οίνου με το ξύλο έχει αποτέλεσμα τον εμπλουτισμό του κρασιού με αρωματικές ενώσεις που περιέχει το ξύλο.

Τέλος επιτρέπει την αργή οξείδωση που είναι απαραίτητη στην δημιουργία αρωματικών οξειδοαναγωγικών συστημάτων.

Η πλέον κατάλληλη ξυλεία είναι αυτή της δρυός, κυρίως γιατί περιέχει ταννίνες καλής ποιότητας.



Σχέδιο 2-1: Ξύλινων Βαρέλια για Παλαίωση Οίνων

2.4.2 Εμφιάλωση:

2.4.2.1 Λίγα στοιχεία για την εμφιάλωση:

Ο αερισμός του οίνου προκαλεί μεταβολές στα αρωματικά συστατικά του οίνου με σύγχρονη εμφάνιση πικρής γεύσης που οφείλεται στο σχηματισμό ακεταλδεϋδης. Οι μεταβολές αυτές χαρακτηρίζονται σαν "ασθένεια της εμφιάλωσης".

Ο αερισμός μπορεί να γίνει σε τέσσερα διαφορετικά στάδια της διαδικασίας. Κατά τη μετάγγιση στη δεξαμενή προ του εμφιαλωτηρίου, στο δοχείο της γεμιστικής μηχανής, στη διάρκεια γεμίσματος της φιάλης και από τον αέρα που εγκλωβίζεται στο χώρο ανάμεσα στην επιφάνεια του κρασιού και το φελλό.

Στο πρώτο στάδιο, δηλαδή κατά τη μετάγγιση στη δεξαμενή προ του γεμιστικού ο εμπλουτισμός σε οξυγόνο εξαρτάται από τη μέθοδο που χρησιμοποιείται. Όταν ο οίνος φτάνει στο κάτω μέρος της δεξαμενής η διάλυση είναι 0,1 με 0,2 ml/L. Αντιθέτως όταν φτάνει στο επάνω μέρος της δεξαμενής η διάλυση είναι αρκετά ml/L και σε μερικές περιπτώσεις είναι δυνατόν να οδηγήσει σε κορεσμό του οίνου με οξυγόνο.

Στο δεύτερο στάδιο, δηλαδή στο γέμισμα του δοχείου του γεμιστικού, η διάλυση του οξυγόνου είναι ασήμαντη ιδίως όταν υπάρχει σύστημα προστασίας με αδρανές αέριο.

Το τρίτο στάδιο δηλαδή το γέμισμα της φιάλης είναι πολύ σύντομο αλλά δημιουργείται μεγάλη επιφάνεια επαφής του οίνου με τον αέρα. Οι γεμιστικές μηχανές που λειτουργούν με χαμηλή πίεση προκαλούν μικρότερη διάλυση οξυγόνου σε σχέση με αυτές που λειτουργούν με χαμηλό κενό. Πάντως σε αυτό το στάδιο η ποσότητα του οξυγόνου που διαλύεται είναι μικρή.

Ο αέρας που εγκλωβίζεται στο χώρο ανάμεσα στην επιφάνεια του οίνου και το φελλό είναι η κύρια αιτία οξυγόνωσης του κατά τη διαδικασία της εμφιάλωσης. Η ποσότητα του οξυγόνου είναι συνάρτηση του χώρου αυτού, και το φαινόμενο είναι πιο έντονο για φιάλες μικρού όγκου. Η πίεση που προκαλεί το κλείσιμο με φελλό αυξάνει τη ποσότητα του οξυγόνου που διαλύεται κατά 1 mg/L περίπου. Υπάρχουν συστήματα που χρησιμοποιούν αδρανές αέριο με σκοπό να διώξουν τον αέρα από το γέμισμα της φιάλης με οίνο, και πριν την εισαγωγή του φελλού. Ακόμη η εμφιάλωση μπορεί να γίνει με γέμισμα της φιάλης με οίνο σε τέτοια στάθμη ώστε κατά την εισαγωγή του φελλού ο οίνος να ξεχειλίζει και να μη μένει χώρος που εγκλωβίζει αέρα. Το σύστημα αυτό εμφιάλωσης έχει το μειονέκτημα να λερώνει τις φιάλες εξωτερικά με οίνο και να δημιουργεί προβλήματα κατά τις αυξομειώσεις θερμοκρασίας.

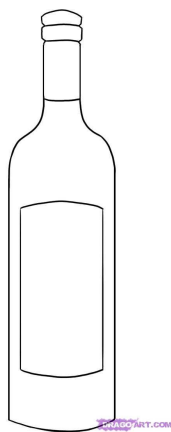
Η εμφιάλωση προκαλεί μικρές μόνο απώλειες της περιεκτικότητας σε CO₂ της τάξης του 3 με 7% ανάλογα με τη θερμοκρασία, την αρχική περιεκτικότητα σε CO₂ και το τύπο της γεμιστικής μηχανής. Η εμφιάλωση σε χαμηλή πίεση CO₂ μπορεί να προκαλέσει αύξηση της περιεκτικότητας σε CO₂.

2.4.2.1 Παλαιώση σε Φιάλες:

Η εμφιάλωση του οίνου σκοπό έχει τη διατήρηση του περιεχομένου και την αποφυγή οξειδώσεων. Η αποθήκευση σε φιάλες τουλάχιστον για μικρό χρονικό διάστημα πρέπει να εμποδίζει μη επιθυμητές αλλαγές. Η αποθήκευση σε φιάλες για μεγάλο διάστημα μπορεί να επιτρέψει τη συνέχιση αντιδράσεων που δεν είχαν ολοκληρωθεί κατά την ωρίμανση προ της εμφιάλωσης. Η αύξηση του αιθυλεστέρα του τρυγικού οξέος είναι ένα παράδειγμα μιας αργής αντίδρασης που δύσκολα έχει ολοκληρωθεί προ της εμφιάλωσης. Η συσσώρευση ιδιαίτερος πτητικών ουσιών όπως το διμεθυλσουλφίδιο (dimethylsulfide) και αναγωγικές αντιδράσεις ή άλλες που δε θα συνέβαιναν από την περιοδική έκθεση του οίνου στον αέρα κατά την ωρίμανσή του στα βαρέλια μπορεί να γίνουν μέσα στη φιάλη. Ο λόγος για τον οποίο γίνεται επιθυμητή η ωρίμανσή του εκτός από βαρέλια εν συνεχεία στη φιάλη, είναι καινούριος και φαίνεται ότι είναι γεγονός ότι κάνει ακόμα πιο περίπλοκες τις γεύσεις και τα αρώματα του οίνου και πιο φιλικά στον καταναλωτή.

Μαζί με τις προαναφερθείσες αλλαγές στον οίνο με την παραμονή του στο μπουκάλι, σημαντική αλλαγή είναι η ανάπτυξη του "μπουκέτου του μπουκαλιού" (bottle bouquet). Η εμφάνισή του οφείλεται σε διάφορες ενώσεις μια από τις οποίες είναι το διμεθυλσουλφίδιο που έχει οσμή φρέσκου καλαμποκιού. Η συγκεκριμένη ένωση εμφανίζεται στο γλεύκος αλλά καθώς είναι ιδιαίτερα πτητική εξαφανίζεται σε ανοιχτές δεξαμενές αλλά μπορεί να αυξηθεί η συγκέντρωσή της κατά την παλαίωση του οίνου σε μπουκάλια. Ακόμα μια σημαντική ομάδα ενώσεων που σχετίζεται με την ανάπτυξη του "μπουκέτου του μπουκαλιού" είναι των ισοπρενοειδών τερπενίων (isoprenoid-terpenes). Φυσικά τα μονοτερπένια και τα νορισοτερπένια (norisoterpenes) συμβάλουν σε διάφορα ποικιλιακά αρώματα αλλά μπορούν να αλλάξουν με την υδρόλυση των γλυκοζιτών και με άλλες αντιδράσεις κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Επίσης τα παράγωγα του ναφθαλενίου (TDN) συμβάλλουν στη δημιουργία του μπουκέτου αυτού σε ορισμένα κρασιά. Αλλά η μυρωδιά κηροζίνης που έχει δεν είναι γενικώς αρεστή όταν είναι έντονη. Οι παλιοί κόκκινοι οίνοι αναπτύσσουν έναν ευχάριστο φρουτώδη χαρακτήρα κάπως διαφορετικό από αυτό των λευκών.

Δεν αναπτύσσονται όλα οι οίνοι -ακόμα και της ίδιας ποικιλίας σταφυλιού- θετικά με την παλαίωση. Κάποιοι χάνουν την αρχική τους "γοητεία" παίρνοντας πολύ λίγα για ανταπόδοση μετά από μεγάλης διάρκειας παραμονής τους σε μπουκάλια. Κάποιοι άλλοι μπορούν να διατηρηθούν αρκετά καλά αλλά δεν αναπτύσσουν επιπρόσθετα χαρακτηριστικά ενώ σχεδόν όλα οι ξηροί κόκκινοι οίνοι που δεν οφείλεται ο χαρακτήρας τους στα αρώματα του σταφυλιού μπορούν να αναπτύξουν θετικά χαρακτηριστικά κατά την παλαίωση σε φιάλες.



Σχέδιο 2-2: Παράδειγμα Φιάλης για Αποθήκευση Οίνου

2.4 Χημική Σύσταση του Οίνου και του Γλεύκους:

Ο οίνος είναι ένα υδραλκοολικό διάλυμα οργανικών οξέων μερικά εξουδερωμένων και άλλων οργανικών και ανόργανων ενώσεων.

2.4.1 Οργανικά Οξέα:

Τα κυριότερα οξέα του σταφυλιού τα οποία μεταφέρονται στο γλεύκος είναι: τρυγικό οξύ, και σε μικρότερες ποσότητες μηλικό οξύ και κιτρικό οξύ, καθώς και οξαλικό οξύ, ασκορικό οξύ, γαλακτουρανικό οξύ, γλυκουρονικό οξύ. Τα σταφύλια που έχουν προσβληθεί από φαιά σήψη περιέχουν: γλυκονικό οξύ, βλεννικό οξύ, κέτο-2-γλυκονικό οξύ, δίκετο-2,5-γλυκονικό οξύ.

Τα κυριότερα οξέα που παράγονται κατά τη ζύμωση είναι: ηλεκτρικό οξύ, γαλακτικό οξύ, κιτρομηλικό οξύ, διαίθυλο-2,3-γλυκερινικό οξύ καθώς και μυρμηκικό οξύ, οξικό οξύ, προπιονικό οξύ, βουτυρικό οξύ, στα οποία οφείλεται η πτητική οξύτητα.

2.4.1.1 Ιδιότητες και Περιεκτικότητα των Διαφόρων Οξέων του Οίνου:

Το τρυγικό οξύ υπάρχει σε συγκεντρώσεις 1500 με 4500 mg/L στον οίνο σαν D-ισομερές. Είναι το πιο ισχυρό οξύ του οίνου, κύρια υπεύθυνο για τη διαμόρφωση του pH του. Είναι βιολογικά σταθερότερο εκτός από τη περίπτωση της αποικοδόμησης του από βακτήρια (ασθένεια εκτροπής).

Η σταδιακή μείωση της περιεκτικότητας του τρυγικού οξέος κατά την ωρίμανση οφείλεται σε αραίωση λόγω αύξησης του μεγέθους της ρώγας, κατά τη διάρκεια της ζύμωσης σε αδιαλυτοποίηση των τρυγικών αλάτων λόγω σχηματισμού αιθανόλης. Στον έτοιμο πια οίνο στον πρώτο χειμώνα η μείωση της περιεκτικότητας του τρυγικού οξέος οφείλεται σε αδιαλυτοποίηση των τρυγικών αλάτων λόγω μείωση της θερμοκρασίας. Το μηλικό οξύ υπάρχει σε συγκεντρώσεις από 0 με 4000 mg/L στο σταφύλι σαν L(-) ισομερές. Η σταδιακή μείωση της περιεκτικότητάς του κατά την ωρίμανση οφείλεται σε αραίωση λόγω αύξησης του μεγέθους της ρώγας και σε φαινόμενα αναπνοής των κυττάρων της ρώγας. Αποτελεί ενδιάμεσο προϊόν του κύκλου του Krebs. Κατά τη ζύμωση σχηματίζεται μικρή ποσότητα μηλικού οξέος από τα σάκχαρα. Ο *Schizosaccharomyces rombe* μπορεί να εξαφανίσει το 1/3 του μηλικού οξέος ταυτόχρονα με τη ζύμωση των σακχάρων. Τα γαλακτικά βακτήρια μπορούν να μετατρέψουν το μηλικό οξύ σε γαλακτικό οξύ (μηλογαλακτική ζύμωση).

Το κιτρικό οξύ υπάρχει σε συγκέντρωση από 0 με 500 mg/L στο γλεύκος. Η περιεκτικότητά του κατά τη ζύμωση είναι σταθερή. Μπορεί να μετατραπεί σε οξικό οξύ από τα γαλακτικά βακτήρια για αυτό η προσθήκη του πρέπει να αποφεύγεται.

Το κιτρομηλικό οξύ υπάρχει σε συγκεντρώσεις 100 με 250 mg/L στον οίνο. Σχηματίζεται κατά την αλκοολική ζύμωση. Μπορεί να ζυμωθεί από τα γαλακτικά βακτήρια.

Το διμέθυλο-2,3 γλυκερινικό οξύ σχηματίζεται κατά την αλκοολική ζύμωση. Το γαλακτικό οξύ δεν υπάρχει στο σταφύλι. Οι μύκητες σχηματίζουν κατά την αλκοολική ζύμωση 200 mg/LL D(-) γαλακτικό οξύ και 10 με 20 mg/LL (+) γαλακτικό οξύ. Σχηματίζεται επίσης κατά τη μηλογαλακτική ζύμωση σε διάφορες συγκεντρώσεις.

Το ηλεκτρικό οξύ υπάρχει σε συγκεντρώσεις 500 με 1500 mg/L. Σχηματίζεται κατά την αλκοολική ζύμωση. Ένα μεγάλο μέρος σχηματίζεται επίσης με αναγωγή του μηλικού οξέος. Είναι βιολογικά σταθερό και δίνει εστέρες με την αιθανόλη που έχουν άρωμα λουλουδιών.

Οξέα που παράγονται από σάκχαρα είναι το γλυκουρονικό οξύ (0 με 600 mg/L), το γλυκονικό οξύ (0 με 200 mg/L) χαρακτηριστικό οξύ σταφυλιών που έχουν προσβληθεί από φαιά σήψη, βλεννικό οξύ (0 με 500 mg/L) που σχηματίζει άλατα με το ασβέστιο τα οποία παρεμποδίζουν τη διήθηση των οίνων και το γαλακτουρονικό οξύ (40 με 1000 mg/L). Το γαλακτουρονικό οξύ προέρχεται από τις πηκτίνες, πολυσακχαρίτες των φυτικών κυττάρων με αποτέλεσμα να υπάρχει σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στους ερυθρούς οίνους. Το γλυκονικό και γαλακτουρονικό οξύ δε ζυμώνονται. Έχουν αναγωγικές ιδιότητες και σχηματίζουν δεσμούς με το προστιθέμενο θειώδη ανυδρίτη. Δίνουν αδιάλυτα άλατα με το ασβέστιο.

Στον οίνο ακόμη υπάρχει το πυροσταφυλικό οξύ, ενδιάμεσο προϊόν της ζύμωσης και το κετογλουταρικό οξύ.

Ακόμη, όπως θα δούμε εξετάζοντας τις φαινολικές ενώσεις, το κρασί περιέχει διάφορα φαινολικά οξέα.

(Τσακίρης, 1988)

2.4.1.2 Πτητική Οξύτητα:

Η πτητική οξύτητα έχει διάφορες προελεύσεις και διακρίνεται σε "φυσική" όταν προέρχεται από τη δράση των μυκήτων οι οποίοι κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης δίνουν περίπου 200 mg/L οξικού οξέος. Γενικά όσο πιο δύσκολες είναι οι συνθήκες κάτω από τις οποίες εργάζονται οι μύκητες τόσο μεγαλύτερη είναι η παραγωγή δευτερευόντων προϊόντων και άρα οξικού οξέος. "Φυσική" χαρακτηρίζεται επίσης όταν προέρχεται από την προσβολή του κιτρικού οξέος από τα βακτήρια κατά τη μηλογαλακτική ζύμωση τα οποία δίνουν 200 με 400 mg/L οξικό οξύ.

Πτητική οξύτητα σχηματίζεται από τη δράση των οξικών βακτηρίων επί της αιθανόλης. Επίσης κατά τη γαλακτική ασθένεια που είναι η γαλακτική ζύμωση των σακχάρων και από την προσβολή άλλων συστατικών του κρασιού όπως η γλυκερίνη, το τρυγικό οξύ και άλλες ενώσεις.

Τέλος πτητική οξύτητα δημιουργείται από τη χημική οξειδωση της αλκοόλης παρουσία αέρα.

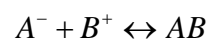
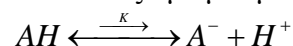
2.4.1.3 Ολική και Ενεργός Οξύτητα (pH):

Στο γλεύκος και στον οίνο συνυπάρχουν ελεύθερα οργανικά οξέα, ανιόντα οργανικών οξέων, που προέρχονται είτε από πλήρη διάσταση των αλάτων τους, είτε από μερική διάσταση ελευθέρων οργανικών οξέων, ανιόντα ανόργανων οξέων και κυρίως θειικά, φωσφορικά και χλωριούχα. Τα οξέα αυτά ουδέποτε απαντούν ελεύθερα στα γλεύκη και στα κρασιά γιατί υπάρχει πάντοτε αρκετή ποσότητα βάσεων για την εξουδετέρωσή τους.

Το σύνολο των ελευθέρων καρβοξυλομάδων των οξέων αυτών, είτε βρίσκονται σε διάσταση είτε όχι, αποτελούν την "ολική" οξύτητα, ενώ το σύνολο των καρβοξυλομάδων που βρίσκονται σε διάσταση και που αντιστοιχεί στο σύνολο των πρωτονίων, καθορίζει την ενεργό οξύτητα (pH).

Το είδος των οργανικών οξέων ελάχιστα υπεισέρχεται στη διαμόρφωση της ολικής οξύτητας. Αντίθετα η ενεργός οξύτητα εξαρτάται όχι μόνο από τη συγκέντρωση αλλά και το είδος των οργανικών οξέων.

Για ένα οξύ με μια μόνο ομάδα (AH) έχουμε τις εξής χημικές ισορροπίες:



$$K = \frac{[A^-] \cdot [H^+]}{[AH]} \quad \text{και} \quad \log \frac{S}{L} = \text{pH} - \text{pK} \quad (1)$$

όπου AH = L = ελεύθερο οξύ

A⁻ = S = εξουδετερωμένο οξύ

L + S = C = ολική συγκέντρωση του οξέος

και K = σταθερά διάστασης του οξέος

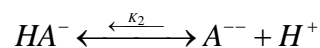
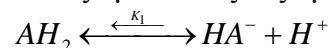
Από την εξίσωση (1) μπορούμε για κάθε οξύ του κρασιού με μια όξινη ομάδα να προσδιορίσουμε το ποσοστό ελεύθερου προς εξουδετερωμένου οξύ. Για παράδειγμα το οξικό οξύ με pK=4,73 έχουμε ότι όταν

pH = pK-2 το εξουδετερωμένο οξύ είναι 1% και το ελεύθερο 99%

pH = pK το εξουδετερωμένο οξύ είναι 50% και το ελεύθερο οξύ 50%

pH = pK+2 το εξουδετερωμένο οξύ είναι 99% και το ελεύθερο 1%

Για οξύ με δύο όξινες ομάδες έχουμε:



$$K_1 = \frac{[HA^-] \cdot [H^+]}{[AH_2]}$$

$$K_2 = \frac{[A^{--}] \cdot [H^+]}{[HA^-]}$$

$$\text{και } AH_2 = \frac{100}{1 + 10^{pH - pK_1} \cdot [1 + 10^{pH - pK_2}]}$$

$$AH^- = [AH_2] \cdot 10^{pH - pK_1} \quad A^{--} = 100 - [AH_2]$$

Για παράδειγμα το τρυγικό οξύ με $pK_1=3$, $pK_2=4$ για κάθε pH μπορούμε να υπολογίσουμε το ποσοστό των AH_2 , AH^- , A^{--} όπου:

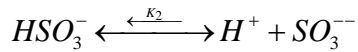
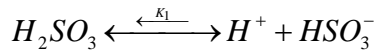
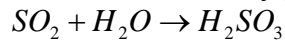
AH_2 = τρυγικό οξύ

AH^- = όξινο τρυγικό κάλιο

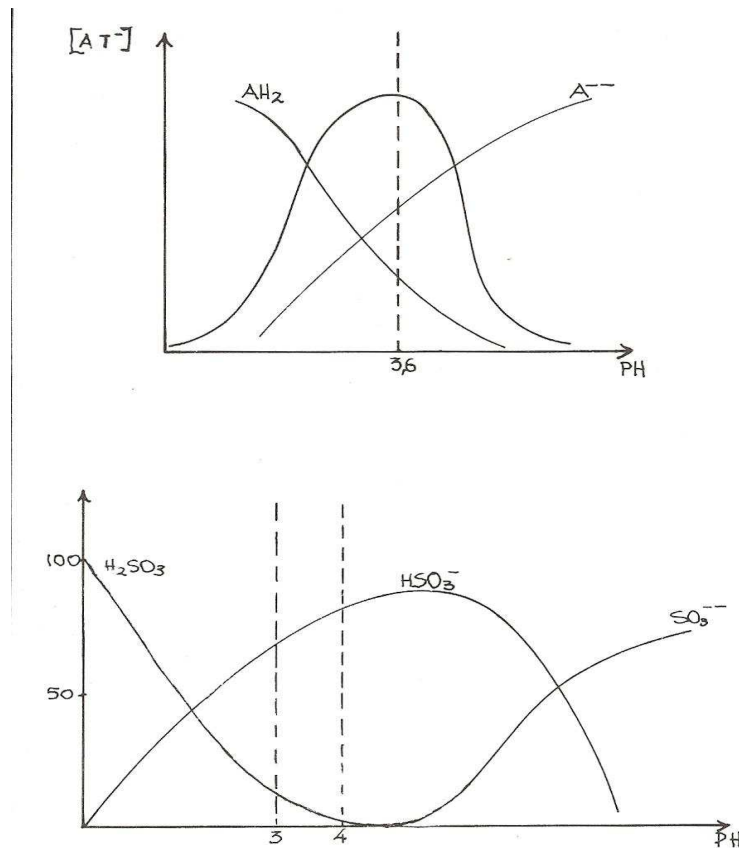
A^{--} = τρυγικό ασβέστιο

Το όξινο τρυγικό κάλιο και τρυγικό ασβέστιο είναι άλατα των οποίων η διαλυτότητα μειώνεται με την αύξηση του αλκοολικού βαθμού και τη μείωση της θερμοκρασίας.

Η παρακάτω περίπτωση έχει ενδιαφέρον για τη μελέτη των μορφών προστιθέμενου διοξειδίου του θείου που είναι ανεξάρτητες του τρόπου προσθήκης του, δηλαδή αέριο ή άλας.



Το H_2SO_3 έχει ισχυρή αντισηπτική δράση και το pH έχει πολύ μεγάλη επίδραση στη ποσότητα του ελεύθερου θειώδη ανυδρίτη που όπως φαίνεται από το σχήμα 10 σε $pH = 3,8$ έχουμε 1% ελεύθερο θειώδη ανυδρίτη.



Σχήμα 2-5: Καμπύλες Διαστάσεως Τρυγικού και Θεικού Οξέος Συναρτήσει του pH (Τσακίρης, 1988)

2.4.2 Αλκοόλες:

Η μεθανόλη (σ.ζ. 64,7°C), (τοξική) προέρχεται από την απομεθυλίωση των πηκτινών από τα πηκτινολυτικά ένζυμα. Η περιεκτικότητα στον οίνο αυξάνει κατά την οινοποίηση σε ατμόσφαιρα CO₂ και κατά την θερμοοινοποίηση.

Ευνοϊκότερες συνθήκες για την αύξηση της συγκέντρωσης της είναι θερμοκρασία 30 με 35°C και pH 4 με 5 δηλαδή συνθήκες που ευνοούν τη δράση των πηκτινολυτικών ενζύμων. Ο οίνος που προέρχεται από υβρίδια έχει αυξημένη περιεκτικότητα σε μεθανόλη. Η χρήση πηκτινολυτικών ενζύμων ευνοεί την εμφάνιση μεθανόλης στον οίνο.

Οι λευκοί οίνοι περιέχουν μικρότερες ποσότητες λόγω απουσίας εκχύλισης και η περιεκτικότητά τους σε μεθανόλη είναι 30 με 700 mg/L, οι ροζέ οίνοι 30 με 110 mg/L και οι ερυθροί οίνοι 70 με 150 mg/L.

Η αιθανόλη (αιθυλική αλκοόλη) (σ.ζ. 78,3°C) είναι το κύριο προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης.

Η εξανόλη προέρχεται από την αναγωγή της εξανάλης. Δίνει χαρακτηριστική οσμή χόρτου.

(Τσακίρης, 1988)

2.4.2.1 Αλκοόλες που Προέρχονται από Μεταβολισμούς που Προκαλούν οι Μύκητες:

Για κάθε ανώτερη αλκοόλη που σχηματίζεται στον οίνο υπάρχει ένα αντίστοιχο αμινοξύ το οποίο ο μύκητας προκειμένου να αναπτυχθεί συνθέτει ή παίρνει από το περιβάλλον.

Εντούτοις υπάρχουν ανώτερες αλκοόλες που δεν σχηματίζονται με πρόδρομο το αντίστοιχο αμινοξύ αλλά από σάκχαρα του γλεύκους.

Η προπανόλη-1 υπάρχει σε συγκεντρώσεις 4 με 40 mg/L.

Η βουτανόλη-1 υπάρχει σε συγκεντρώσεις 1 με 8 mg/L.

Η μέθυλο-2-βουτανόλη-1 (αμυλική αλκοόλη) υπάρχει σε συγκεντρώσεις που αντιστοιχούν με το 1/3 με 1/4 της μέθυλο-3-βουτανόλης-1 (ισοαμυλική αλκοόλη) η οποία βρίσκεται σε συγκεντρώσεις 100 με 400 mg/L. Και οι δύο αυτές αλκοόλες έχουν δυσάρεστη οσμή.

Η φαίνυλο-2-αιθανόλη έχει οσμή τριαντάφυλλου σε υδατικά διαλύματα.

Η τυροσόλη με οσμή μελιού.

Οι παραπάνω αλκοόλες είναι πάντοτε σε αυξημένη συγκέντρωση στους οίνους που κρίνονται καλά στη δοκιμασία. Όταν η ολική τους περιεκτικότητα ξεπεράσει τα 450 mg/L οι οίνοι εμφανίζουν βαριά και δυσάρεστη οσμή.

Η βουτανοδιόλη-2,3 σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης σαν δευτερεύον προϊόν όπως και η ακετοΐνη.

Η γλυκερόλη υπάρχει στον οίνο σε συγκεντρώσεις 5 με 20 g/L. Σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης (5 με 10 g/L) και ειδικότερα στην αρχή της όπου το NAD καταναλώνεται για την παραγωγή των δευτερευόντων προϊόντων. Μπορεί να σχηματιστεί από τη δράση του μύκητα φαιάς σήψης (7 με 8 g/L). Οι γλυκοί οίνοι που έχουν προέλθει από αλκοολική ζύμωση περιέχουν γλυκερόλη σε αντίθεση με τα μιστέλια (τα οποία προέρχονται από ανάμιξη γλεύκους πριν αρχίσει η ζύμωση με οινόπνευμα 95% vol) εκτός βέβαια από την περίπτωση που αυτή προέρχεται από τη δράση του *Botrytis Cinerea* στο σταφύλι. Περιέχουν ακόμη τις ανώτερες αλκοόλες που παράγονται κατά την αλκοολική ζύμωση.

2.4.2.2 Πολυαλκοόλες που Προέρχονται από τα Σάκχαρα:

Η μανιτόλη παράγεται με αναγωγή μανόζης ή της φρουκτόζης. Στον οίνο υπάρχει σε συγκεντρώσεις 0,2 με 1 g/L. Οι μύκητες σχηματίζουν 200 mg/L μανιτόλη κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Τα βακτήρια σχηματίζουν μερικά εκατοστά του χιλιοστόγραμμου εκτός από την περίπτωση μανιτικής ζύμωσης που μπορούν να σχηματίσουν μέχρι 10 g/L κάτι που είναι πολύ σπάνιο.

Πρόκειται για ζύμωση της φρουκτόζης από γαλακτικά βακτήρια.

Η σορβιτόλη είναι παράγωγο της γλυκόζης. Η συγκέντρωσή της στον οίνο μπορεί να φτάσει τα 300 mg/L.

Η αραβιτόλη προέρχεται από την αποικοδόμηση των σακχάρων κατά τον κύκλο των πεντοζών.

Η μεσοίνοσιτόλη προέρχεται από το σταφύλι. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης υπάρχει απώλεια 100 mg/L.

2.4.3 Σάκχαρα:

Τα σάκχαρα του γλεύκους διακρίνονται σε αλδόζες με 6 άτομα άνθρακα (γλυκόζη, γαλακτόζη, μανόζη), σε αλδόζες με 5 άτομα άνθρακα (αραβινόζη, ξυλόζη), σε κετόζες με 6 άτομα άνθρακα (φρουκτόζη) και σε κετόζες με 5 άτομα άνθρακα (ξυλουλόζη, ριβουλόζη).

Τα σάκχαρα με 6 άτομα άνθρακα μπορούν να ζυμωθούν και τα σάκχαρα με αλδεϋδική ή κετονική ομάδα μπορούν να δεσμεύσουν τον θειώδη ανυδρίτη. Ανάγοντα σάκχαρα είναι αυτά που έχουν ελεύθερη αλδεϋδική ή κετονική ομάδα. Στα μη ανάγοντα σάκχαρα ανήκει η σακχαρόζη (1,2-α- D-γλυκόζη-β-D φρουκτόζη) η οποία υδρολύεται σε γλυκόζη και φρουκτόζη.

Στο γλεύκος η σχέση γλυκόζης προς φρουκτόζη είναι κοντά στη μονάδα (0,95). Η γλυκόζη είναι λιγότερο σταθερή από τη φρουκτόζη. Για αυτό μεταβολίζεται κατά προτίμηση από τους μύκητες.

Η σχέση γλυκόζης προς φρουκτόζη στους γλυκούς οίνους είναι πολύ κατώτερη από τη μονάδα. Όταν η σχέση είναι κοντά στη μονάδα αυτό είναι δείγμα προσθήκης σακχαρόζης ή γλεύκους.

Η αραβινόζη και η ξυλόζη είναι σάκχαρα που δε μπορούν να ζυμωθούν. Είναι δυνατόν να αποικοδομηθούν από τα γαλακτικά βακτήρια με αντίστοιχη αύξηση της πηκτικής οξύτητας.

Θεωρούμε ότι η αλκοολική ζύμωση έχει τελειώσει όταν η περιεκτικότητα σε σάκχαρα μετρημένη με φελίγγειο υγρό είναι μικρότερη των 2 g/L για τους ερυθρούς οίνους ή 1,5 g/L για τους λευκούς οίνους.

2.4.4 Πολυσακχαρίτες:

Οι πολυσακχαρίτες είναι πολυμερή των σακχάρων. Έχουν σχετικά μεγάλο μοριακό βάρος και κολλοειδείς ιδιότητες. Στον οίνο υπάρχουν σε συγκεντρώσεις από 100 mg/L μέχρι μερικά g/L.

Αναλόγως της προέλευσής τους διακρίνονται σε πολυσακχαρίτες του σταφυλιού, πολυσακχαρίτες που προέρχονται από αυτόλυση των μυκήτων, πολυσακχαρίτες που προέρχονται από βακτήρια όπως στην περίπτωση της "πάχυνσης", πολυσακχαρίτες που παράγονται από βακτήρια κατά τη μηλογαλακτική ζύμωση και πολυσακχαρίτες που παράγονται από τον *Botrytis Cinerea*.

Το μεγάλο ενδιαφέρον της μελέτης τους βρίσκεται στο γεγονός ότι χάρη στη μοριακή σύστασή τους και τις κολλοειδείς ιδιότητές τους εμποδίζουν τη διήθηση του οίνου και συμπεριφέρονται σαν προστατευτικά κολλοειδή. Οι πολυσακχαρίτες του μύκητα περιέχουν αποκλειστικά μανόζη και γαλακτόζη. Η σύστασή τους δεν είναι ακριβώς γνωστή. Οι πολυσακχαρίτες του γλεύκους προέρχονται από το φλοιό της ρώγας.

Το γλεύκος των υγείων σταφυλιών περιέχει δύο κατηγορίες πολυσακχαριτών. Τις πηκτίνες και τα κόμμεα. Το γλεύκος των σάπιων σταφυλιών περιέχει την γλυκάνη και άλλους πολυσακχαρίτες, ενώ η πηκτίνη απουσιάζει εξαιτίας της ισχυρής πηκτινολυτικής δράσης του *Botrytis Cinerea*. Αντίστοιχη βέβαια είναι η αύξηση της μεθανόλης. Απουσία πηκτίνης η προσθήκη πηκτινολυτικών ενζύμων δεν έχει αποτέλεσμα στη βελτίωση της απολάσπωσης. Στον ερυθρό οίνο μέχρι το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης υπάρχουν ακόμη πηκτίνες.

Η γλυκάνη με την επίδραση της αιθανόλης σχηματίζει συσσωματώματα σχεδόν στερεά τα οποία προκαλούν το φράξιμο των επιφανειών διήθησης. Για αυτό το λόγο η πίεση των λευκών σταφυλιών που έχουν προσβληθεί από φαιά σήψη πρέπει να γίνεται όσο το δυνατόν σε πιο ανέπαφα σταφύλια ώστε να μην εξαχθεί γλυκάνη η οποία βρίσκεται σε ινώδη μορφή σαν ιστός αράχνης στο μέσα μέρος της φλούδας της ρώγας και σε επαφή με τα κύτταρα της σάρκας.

Για να βελτιώσουμε τις συνθήκες διήθησης μπορούμε να ψύξουμε τον οίνο, με σκοπό την καταβύθιση της γλυκάνης. Οι πολυσακχαρίτες που εκκρίνονται από τους μύκητες της φαιάς σήψης επεμβαίνουν σαν παρεμποδιστικοί παράγοντες της αλκοολικής ζύμωσης. Συγκεκριμένα, έχουν επίδραση στο μεταβολισμό των σακχαρομυκητών *Cerevisiae* και *Bayanus* ασκώντας παρεμποδιστική δράση στην αλκοολική ζύμωση. Ιδιαίτερα κατά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης παρατηρούμε αύξηση της παραγωγής οξικού οξέος από τους μύκητες.

2.4.5 Αζωτούχα συστατικά:

Μέσα στο κρασί το άζωτο βρίσκεται σε ανόργανη μορφή (NH_4^+) σε ποσοστό 5% περίπου και σε οργανική 95%. Από την οργανική το 45% περίπου αντιπροσωπεύουν τα ελεύθερα αμινοξέα, κυριότερα από τα οποία είναι η αλανίνη, το ασπαραγινικό οξύ, το γλουταμινικό οξύ (συγκέντρωση μεγαλύτερη από 100 mg/L), η προλίνη (300 mg/L), η θρεονίνη και η αργινίνη σε συγκεντρώσεις μικρότερες από 50 mg/L. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης ορισμένα αμινοξέα μεταβολίζονται σε ανώτερες αλκοόλες. Δεν έχουν κανένα ιδιαίτερο οργανοληπτικό ρόλο.

Στον οίνο υπάρχουν αμίδια όπως η ασπαραγίνη και γλουταμίνη, πολυπεπτίδια, αμίνες όπως η ισταμίνη που είναι τοξική και πρωτεΐνες. Στους ερυθρούς οίνους οι πρωτεΐνες ενώνονται με ταννίνες, κροκιδώνονται και καταβυθίζονται.

Το ανόργανο άζωτο χρησιμοποιείται από τους μύκητες κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης και η περιεκτικότητά του μειώνεται. Αντίθετα τα βακτήρια χρησιμοποιούν το άζωτο των αμινοξέων με αποτέλεσμα η περιεκτικότητά σε ανόργανο άζωτο να αυξάνει στη διάρκεια της μηλογαλακτικής ζύμωσης.

Στους ερυθρούς οίνους η περιεκτικότητά σε άζωτο είναι διπλάσια από ότι στους λευκούς. Αυτό οφείλεται στην εκχύλιση των στερεών συστατικών. Οι λευκοί οίνοι περιέχουν 70 με 200mg/L άζωτο δηλαδή 0,5 με 1,25 g/L αζωτούχες ενώσεις και οι ερυθροί 100 με 700 mg/L άζωτο δηλαδή 0,8 με 4 g/L αζωτούχες ενώσεις. Οι αζωτούχες ενώσεις αντιπροσωπεύουν το 20% περίπου του στερεού υπολείμματος του οίνου.

2.4.6 Πτητικά και Αρωματικά Συστατικά:**2.4.6.1 Αρωματικά Συστατικά του Σταφυλιού:**

Το άρωμα των λεγόμενων αρωματικών ποικιλιών όπως τα Μοσχάτα, Sauvignon Riesling οφείλεται σε τερπενικές ενώσεις όπως τερπινεόλη, λιναλοόλη, γερανιόλη, νερόλη και σε παράγωγα αυτών. Η συνολική συγκέντρωση αυτών των ενώσεων είναι 1 με 3 mg/L. Οι ενώσεις αυτές των οποίων η μελέτη δεν έχει ολοκληρωθεί, εμφανίζουν μεταξύ τους φαινόμενα αλληλεπίδρασης της μιας πάνω στο άρωμα της άλλης.

Οι ενώσεις αυτές καταστρέφονται μερικώς κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης και κατά την παλαίωση του οίνου οξειδώνονται σε ενώσεις λιγότερο αρωματικές.

Οι ενώσεις που είναι υπεύθυνες για το άρωμα των λιγότερο αρωματικών ποικιλιών επειδή υπάρχουν σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις δεν έχουν ακόμα προσδιοριστεί.

Στα οσμηρά συστατικά του σταφυλιού ανήκουν η εξανόλη και η εξενόλη τα οποία έχουν χορτώδη γεύση.

2.4.6.2 Αρωματικά Συστατικά της Ζύμωσης:

Οφείλονται σε αλκοόλες και εστέρες οι οποίοι σχηματίζονται στη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης όπως η προπανόλη, ισοβουτανόλη, ισοαμυλική αλκοόλη, φαίνυλο-2-αιθανόλη, οξικός αιθυλεστέρας, ισοαμυλικός αιθυλεστέρας, και άλλες.

Αρωματικές ενώσεις σχηματίζονται και στη διάρκεια της μηλογαλακτικής ζύμωσης από τα βακτήρια όπως ο γαλακτικός αιθυλεστέρας.

2.4.6.3 Αρώματα Ωρίμανσης και Παλαίωσης:

Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης και της παλαίωσης που ακολουθεί, υπάρχει μια αναγωγική διαδικασία που δίνει ενώσεις με ευχάριστο άρωμα, στις οποίες οφείλεται η εμφάνιση του αρωματικού μπουκέτου του οίνου.

Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης και παλαίωσης του οίνου έχουμε επίσης σχηματισμό εστέρων με χημικές αντιδράσεις εστεροποίησης της αιθανόλης με οξέα οίνου όπως το ηλεκτρικό, τρυγικό, μηλικό, και κιτρικό. Οι εστέρες αυτοί δεν επεμβαίνουν ή επεμβαίνουν ελάχιστα στο μπουκέτο του

οίνου. Η φύση των εστέρων που σχηματίζονται από τα πολυοξέα εξαρτάται από το pH του οίνου. Σε υψηλό pH σχηματίζονται ουδέτεροι εστέρες. Η εστεροποίηση είναι μια αντίδραση αργή και περιορισμένη της οποίας η ταχύτητα εξαρτάται από τη φύση των οξέων και το pH και δε φτάνει ποτέ τα θεωρητικά όρια.

2.4.7 Φαινολικά Συστατικά:

Τα φαινολικά συστατικά στον ερυθρό οίνο είναι υπεύθυνα για το χρώμα, τη λιπαρότητα της γεύσης και άλλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Στη διάρκεια της παλαίωσης το χρώμα μεταβάλλεται. Από το ερυθροϊώδες στο καθαρά ερυθρό για να καταλήξει στο ερυθρό-κεραμιδί, με ταχύτητα που εξαρτάται από το είδος του οίνου και τις συνθήκες συντήρησης.

Οι ποσότητες των φαινολικών συστατικών εξαρτώνται από την ποικιλία του σταφυλιού, το χρόνο τρυγητού και το τρόπο οινοποίησης, καθώς η ωρίμανση δεν είναι μόνο συνάρτηση της οξύτητας και των σακχάρων αλλά και των φαινολικών συστατικών.

Από χημικής άποψης τα φαινολικά συστατικά των οίνων διακρίνονται σε φαινολικά οξέα (100mg/L για τους ερυθρούς, 10mg/L για τους λευκούς), φλαβανοειδείς φαινόλες (10mg/L για τους ερυθρούς, και λίγα mg/L για τους λευκούς), ανθοκυάνες (100 με 700mg/L για τους ερυθρούς και 0 για τους λευκούς) και τέλος ταννίνες (1 με 7 g/L για τους ερυθρούς, 100 mg/L για τους λευκούς).

Αναλυτικά τα φαινολικά συστατικά θα εξετασθούν στο κεφάλαιο 3.

2.4.8 Ανόργανα Συστατικά:

Τα ανόργανα ιόντα στο σταφύλι βρίσκονται κυρίως στα στερεά μέρη. Αυτό έχει αποτέλεσμα η ερυθρή οινοποίηση να αυξάνει την περιεκτικότητά τους στο γλεύκος και στον οίνο.

2.4.8.1 Ανιόντα:

Θειϊκά: Ο οίνος περιέχει φυσιολογικά μια μικρή ποσότητα θειϊκών η οποία αυξάνει προοδευτικά λόγω οξείδωσης του θειώδους οξέος. Το επιτρεπτό όριο είναι 2 g/L (σε K_2SO_4). Μεγαλύτερες περιεκτικότητες κάνουν τον οίνο ύποπτο προσθήκης H_2SO_4 ή $CaSO_4$. Κανονική περιεκτικότητα είναι 0,6 με 0,7 g/L. Συνήθως είναι αυξημένη στην περίπτωση των ημίγλυκων οίνων οι οποίοι προκειμένου να συντηρηθούν έχουν ανάγκη αυξημένης θείωσης.

Χλωριούχα: Συνηθισμένη περιεκτικότητα είναι 20 με 200 mg/L. Το επιτρεπτό από τη νομοθεσία όριο είναι 1 g/L. Είναι αυξημένο στις περιπτώσεις αμπελιών που βρίσκονται κοντά στη θάλασσα.

Φωσφορικά: Συνηθισμένη περιεκτικότητα 0,05 με 1 g/L. Η περιεκτικότητά τους αυξάνει στην περίπτωση προσθήκης φωσφορικών αλάτων στο γλεύκος, προσθήκη που πρέπει να αποφεύγεται γιατί ευνοεί το σχηματισμό θολώματος φωσφορικού σιδήρου.

Φθοριούχα, βρωμιούχα, ιωδιούχα και βορικά βρίσκονται σε μικρές περιεκτικότητες μέσα στον οίνο.

2.4.8.3 Κατιόντα:

Κάλιο: Συνηθισμένη περιεκτικότητα 0,1 με 1,8 g/L. Είναι το κατιόν με το πιο μεγάλο ρόλο στον οίνο γιατί συμμετέχει στην καταβύθιση του όξινου τρυγικού καλίου.

Νάτριο: Ισχύουν τα ίδια όπως για τα χλωριούχα ιόντα.

Ασβέστιο: Συνηθισμένη περιεκτικότητα 80 με 150 g/L. Συμμετέχει στη καταβύθιση του τρυγικού ασβεστίου. Η χρησιμοποίηση του ανθρακικού ασβεστίου με σκοπό τη μείωση της οξύτητας αυξάνει την περιεκτικότητά του.

Σίδηρος: Υπάρχει στον οίνο σε δισθενή και τρισθενή μορφή. Συνηθισμένη περιεκτικότητα 1 με 50 mg/L. Είναι υπεύθυνος για τα διάφορα θολώματα σιδήρου.

Χαλκός: Υπάρχει στο οίνο σε μονοθενή και δισθενή μορφή. Συνηθισμένη περιεκτικότητα 0,1 με 5 mg/L. Είναι υπεύθυνος για τα διάφορα θολώματα χαλκού.

Αργίλιο: Είναι σε αυξημένες δόσεις στους οίνους που προέρχονται από αργιλούχα εδάφη.

Ψευδάργυρος: Είναι τοξικός. Μεγάλη συγκέντρωση παρατηρείται στις περιπτώσεις κακής χρησιμοποίησης του θειϊκού ψευδαργύρου σαν διαυγαστικό σε συνδυασμό με το σιδηροκυανιούχο

κάλιο.

Μαγγάνιο: Βρίσκεται σε μεγάλη περιεκτικότητα στους οίνους που έχουν προέλθει από αμπελώνες στους οποίους έχει γίνει χρήση παραγώγων του αρσενικού για λόγους φυτοπροστασίας. Επίσης στις περιπτώσεις προσθήκης υδροχλωρικού ή θειϊκού οξέος. Σε περιεκτικότητα μεγαλύτερη από 1 mg/L είναι επικίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία.

Μόλυβδος: Είναι αυξημένος σε οίνους που προέρχονται από σταφύλια που έχουν προέλθει από αμπέλια στα οποία έχει γίνει χρήση των παραγώγων του μολύβδου για λόγους φυτοπροστασίας. Πιθανή αιτία αύξησης της περιεκτικότητας του εμφιαλωμένου οίνου σε μόλυβδο είναι η περίπτωση χρησιμοποίησης μολύβδινου καψυλίου. Ο μόλυβδος διεισδύει στον οίνο περνώντας ανάμεσα στο φελλό και το λαιμό της φιάλης. Σε περιεκτικότητα μεγαλύτερη από 1 mg/L είναι επικίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία.

2.4.9 CO₂ (διοξείδιο του άνθρακα ή ανθρακικός ανυδρίτης):

Η αλκοολική ζύμωση παράγει περίπου 80 g/L. Η διαλυτότητα στον οίνο είναι 2 g/L σε κανονική ατμοσφαιρική πίεση. Το υπόλοιπο διαφεύγει κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης παρασύροντας και πτητικά αρωματικά συστατικά.

Η παραμονή του οίνου σε ξύλινα βαρέλια έχει αποτέλεσμα να διευκολύνεται η διαφυγή του CO₂. Αντίθετα σε τσιμεντένιες ή μεταλλικές δεξαμενές ορισμένες φορές και ιδιαίτερα στην περίπτωση των ερυθρών οίνων είναι ανάγκη να μεταγγιστούν ώστε να απαλλαγούν από την περίσσεια του CO₂.

Οι ερυθροί οίνοι περιέχουν περίπου 400 mg/L και οι λευκοί 500 με 700 mg/L.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3ο: ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΟΥΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

3.1 Κατηγορίες Φαινολικών Συστατικών:

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω τα φαινολικά συστατικά στον ερυθρό οίνο είναι υπεύθυνα για το χρώμα, τη λιπαρότητα της γεύσης και άλλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και έτσι είναι εύκολο κανείς να αντιληφθεί τη σημαντικότητα των συγκεκριμένων ενώσεων για αυτόν.

Από χημικής άποψης τα φαινολικά συστατικά των οίνων διακρίνονται σε:

- ◆ φαινολικά οξέα
- ◆ φλαβονοειδείς φαινόλες
- ◆ ανθοκυάνες
- ◆ ταννίνες

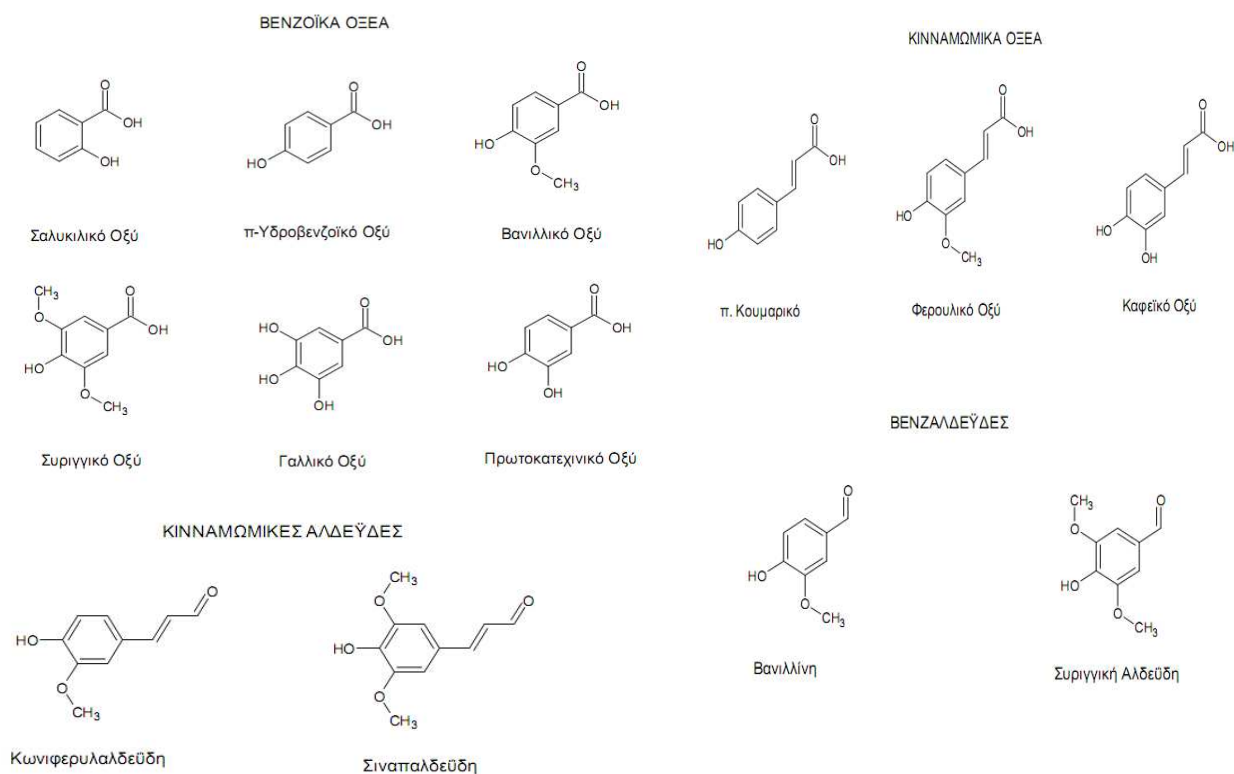
Παρακάτω παρουσιάζονται αναλυτικότερα τα χαρακτηριστικά της κάθε κατηγορίας φαινολικών συστατικών

3.1.1 Φαινολικά Οξέα (μη φλαβονοειδείς φαινόλες):

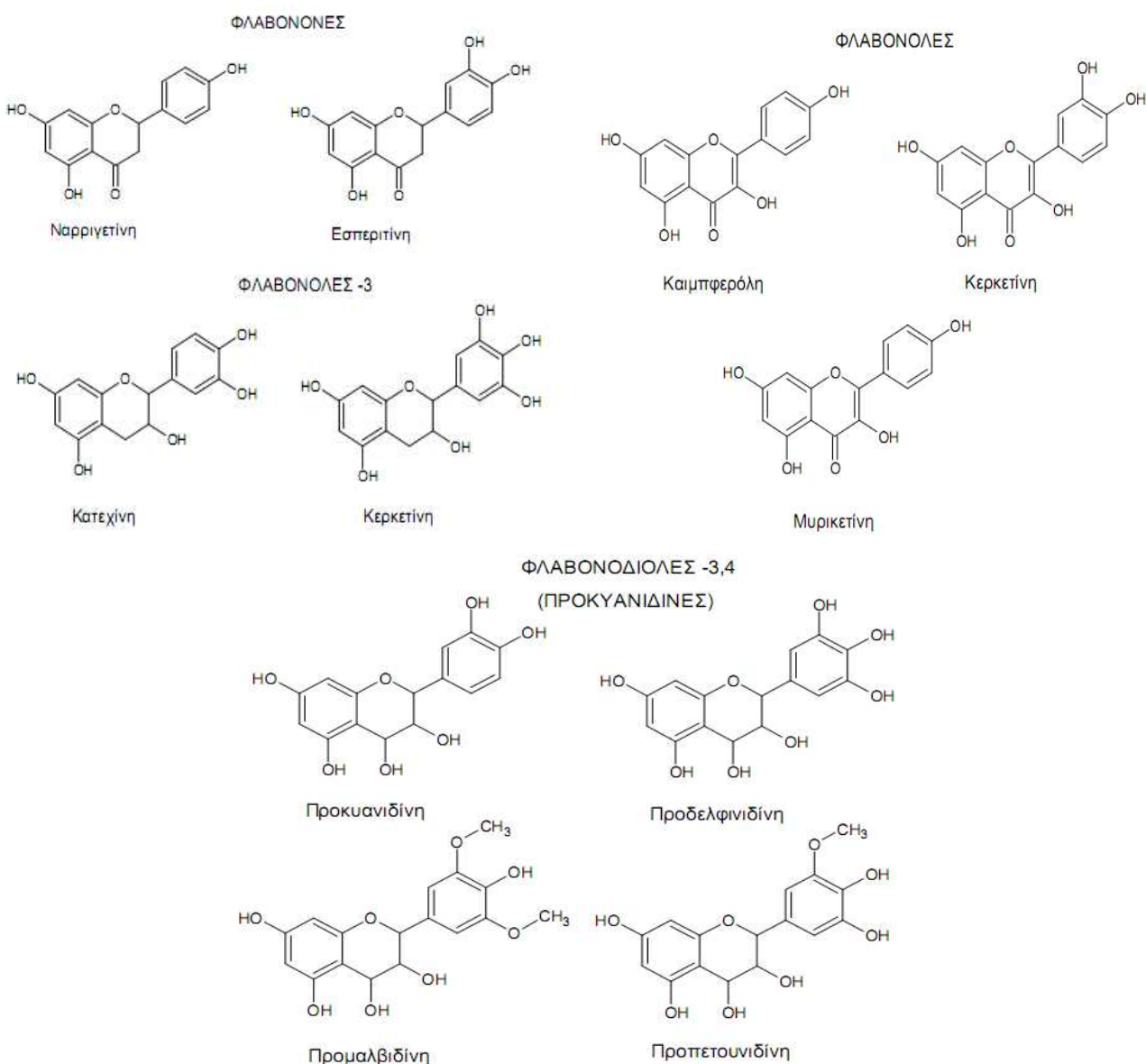
Στον οίνο υπάρχουν οξέα της ομάδας του βενζοϊκού και κινναμωμικού που απαντώνται ως ετεροσακχαρίτες των ανθοκυανών ή ως εστέρες του τρυγικού οξέος όπως και παράγωγα της βενζαλδεύδης και της κινναμωμικής αλδεύδης που βρίσκονται στους οίνους που έχουν παραμείνει για παλαίωση σε ξύλινο βαρέλι.

Τα φαινολικά οξέα εμφανίζουν αντιβακτηριακή δράση. Όσα έχουν δύο ομάδες-OH- σε ο- θέση όπως το γαλλικό οξύ και το καφεϊκό οξύ οξειδώνονται εύκολα. Η οξείδωση των φαινολικών οξέων όπως και όλων των ο-διφαινολών οδηγεί σε ενώσεις κίνησης. Η αντίδραση αυτή έχει ιδιαίτερη σημασία για το καστανό θόλωμα των οίνων.

Κατά τη διάρκεια της γήρανσης τα φαινολικά οξέα υδρολύονται και περνούν σε ελεύθερη μορφή.



Σχήμα 3-1 : Οι Κυριότερες μη Φλαβονοειδείς Φαινόλες των Κρασιών



Σχήμα 3-2: Οι Κυριότερες Φλαβονοειδείς Φαινόλες των Οίνων

3.1.2 Φλαβονοειδείς Φαινόλες:

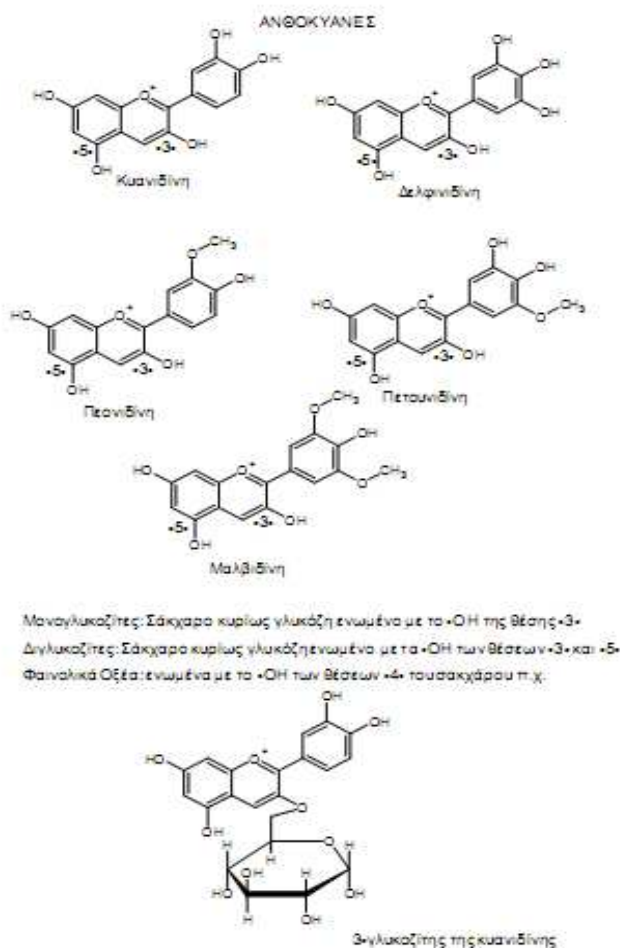
Στην κατηγορία αυτή των ενώσεων περιλαμβάνονται οι φλαβονόλες που έχουν ανοιχτό κίτρινο χρώμα, οι φλαβονόνες που αφθονούν στα κουκούτσια, οι φλαβονόλες-3 (κατεχίνες) που υπάρχουν κυρίως στη φλούδα και τα κουκούτσια, και οι φλαβονοδιόλες 3,4 (λευκοανθοκυάνες ή προκυανιδίνες) που υπάρχουν στη φλούδα και κυρίως στα κουκούτσια.

Επειδή οι φλαβονοειδείς φαινόλες βρίσκονται στο εσωτερικό του φλοιού και στα κουκούτσια σε κανονικές συνθήκες δεν υπάρχουν στους λευκούς οίνους.

Στις φλαβονοειδείς φαινόλες περιλαμβάνονται οι ανθοκυάνες και οι ταννίνες.

3.1.2.1 Ανθοκυάνες:

Μέσα στον οίνο βρίσκονται σε μορφή ετεροσακχαριτών των οποίων το άγλυκο μέρος είναι υδροξυλιωμένο και μεθυλιωμένο παράγωγο του φαίνυλ-2-βενζοπυριλίου. Όλες είναι ασταθείς εκτός από τη μαλβιδίνη και πεονιδίνη.



Σχήμα 3-3: Οι Ανθοκυάνες των Οίνων

3.1.2.2 Ταννίνες:

Στα σταφύλια και τον οίνο υπάρχουν ταννίνες που προέρχονται από τον πολυμερισμό των φλαβανολών-3 (κατεχινών) και των φλαβανοδιολών-3,4 σε θέσεις C₄ - C₈ (Τσακίρης, 1988, Herderich and Smith, 2005).

Ο βαθμός πολυμερισμού επηρεάζει την ιδιότητα των ταννινών να προκαλούν στυφή αίσθηση που οφείλεται στην ικανότητα που έχουν να ενώνονται με τις πρωτεΐνες. Η ιδιαίτερα στυφή αίσθηση ορισμένων οίνων οφείλεται στην παρουσία ορισμένων ταννινών μοριακού βάρους 500 - 3000. Οι "επιθετικές" αυτές ταννίνες έχουν την ιδιότητα να ενώνονται με τις πρωτεΐνες, να δημιουργούν σύμπλοκα και να εξαφανίζονται ενώ οι μη επιθετικές δεν ενώνονται με τις πρωτεΐνες και παραμένουν στον οίνο (Herderich and Smith, 2005).

Για παράδειγμα, ένας οίνος που περιέχει 7 g/L ταννινών όταν κροκιδωθεί με αλβουμίνη, το κρασί γίνεται πιο μαλακό. Αν και η ελάττωση των ταννινών είναι μόνο κατά 0,2 g/L.

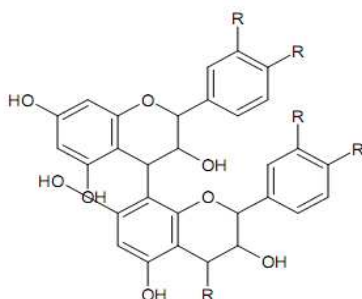
Από την ποικιλία των σταφυλιών, τις κλιματολογικές συνθήκες και το είδος της οινοποίησης εξαρτάται και η ανομοιογένεια των ταννινών. Οι ερυθροί οίνοι που προορίζονται για γρήγορη κατανάλωση έχουν μικρά μόνο μόρια ταννινών τα οποία δεν αντέχουν στην παλαίωση. Η ύπαρξη μικρών μόνο μορίων οφείλεται στο σύντομο χρόνο εκχύλισης που για αυτό τον τύπο οίνων αποβλέπει περισσότερο στην παραλαβή χρώματος, δηλαδή ανθοκυανών.

Στους νέους οίνους που προορίζονται για παλαίωση δηλαδή προέρχονται από μακρόχρονη εκχύλιση περιέχουν ταννίνες κυρίως από τα κουκούτσια και είναι κατά μεγάλο ποσοστό μεγάλα μόρια. Η ικανότητα παλαίωσης εξαρτάται, εκτός από την ποικιλία του σταφυλιού, και από την ωρίμανσή του, η οποία επηρεάζει το βαθμό πολυμερισμού των ταννινών. Κατά την παλαίωση έχουμε σχηματισμό μεγάλων πολυμερών χάρη στην επίδραση του οξυγόνου που είναι απαραίτητο

Κεφάλαιο 3ο: Φαινολικά Συστατικά και Μεταβολές τους κατά την Οινοποίηση

για την πραγματοποίησή του. Γίνεται λοιπόν αντιληπτή η μεγάλη σπουδαιότητα του οξυγόνου στο σχηματισμό μεγάλων μορίων ταννινών κατά τη διάρκεια της παραμονής σε ξύλινο βαρέλι. Αυτές οι μεγάλες ταννίνες μπορούν να διατηρηθούν κατά τη γήρανση και επιπλέον έχουν την ιδιότητα να μην προκαλούν στυφή αίσθηση.

Είναι πολυμερή (2-12 μόρια) των φλαβονολών -3 και φλαβονοδιολών -3,4 π.χ.



Φλαβονοδιόλη -3,4 + Φλαβονοδιόλη -3,4 (διμερές)

Σχήμα 3-4: Οι ταννίνες του Σταφυλιού και των Κρασιών

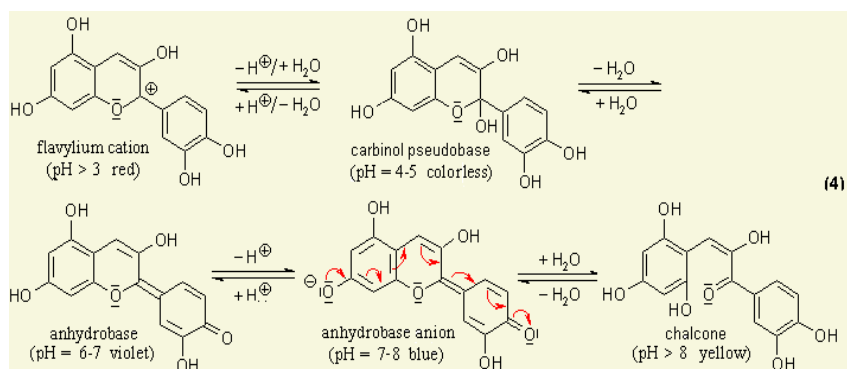
3.2 Μεταβολές Ανθοκυανινών

3.2.1 Ισορροπία των Ανθοκυανών Συναρτήσεως του pH:

Το χρώμα των ανθοκυανών εξαρτάται από το pH. Απαντώνται σύμφωνα με τη τιμή του pH οι αντίστοιχες μορφές των ανθοκυανών (σχ.3-5) οπότε και προκύπτουν τα αντίστοιχα χρώματα τους. Οι αντιστοιχίες pH-χρώματος είναι ως ακολούθως:

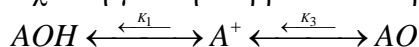
- ◆ 1-4 → κόκκινο
- ◆ 4-5 → άχρωμες
- ◆ 6-7 → βιολετί
- ◆ 7-8 → μπλε
- ◆ > 8 → κίτρινο

(Keusch, 2003)



Σχήμα 3-5: Μορφές της κυανιδίνης σε υδατικό διάλυμα συναρτήσεως του pH (Peter Keusch "Anthocyanins as pH Indicators and Complexing Agents", 2003)

Ισχύει η γενική ισορροπία συναρτήσεως του pH:



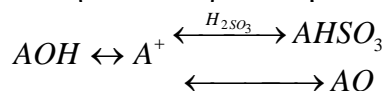
Από τη μελέτη των διαφόρων μορφών συναρτήσεως του pH έχουμε ότι σε pH μηδέν το 100% των ανθοκυανών είναι έγχρωμο και συγκεκριμένα κόκκινο ενώ σε pH=2,7 μόνο το 50% των ανθοκυανών είναι έγχρωμο (κόκκινο χρώμα) και ότι σε pH=3,5 αρχίζει να εμφανίζεται η άχρωμη

Κεφάλαιο 3ο: Φαινολικά Συστατικά και Μεταβολές τους κατά την Οινοποίηση

μορφή. Δηλαδή για το pH μεταξύ 0 και 3,5 επικρατεί η ισορροπία $A^+ \longleftrightarrow AOH$ και για pH μεγαλύτερο του 3,5 η ισορροπία $A^+ \longleftrightarrow AO$.

Η μορφή A^+ είναι η μόνη ευαίσθητη στο θειώδη ανυδρίτη και η μόνη που δίνει χρώμα στο διάλυμα. Για παράδειγμα σε έναν οίνο που περιέχει 300 mg/L ανθοκυάνες βρίσκονται σε pH=3, 108 mg/L έγχρωμων ανθοκυανών και σε pH 4 33 mg/L έγχρωμων ανθοκυανών.

Στους ερυθρούς οίνους ο ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης (όπως προσδιορίζεται με τη χημική ανάλυση) είναι ενωμένος με φαινολικές ενώσεις, με αποτέλεσμα τη μείωση των αντισηπτικών ιδιοτήτων του προστιθέμενου θειώδη ανυδρίτη.



Η ένωση των ανθοκυανών με το θειώδη ανυδρίτη οδηγεί στο σχηματισμό άχρωμων ενώσεων με αποτέλεσμα το μερικό αποχρωματισμό των ερυθρών οίνων μετά τη θείωση. Δεδομένου όμως ότι η δράση του θειώδη ανυδρίτη είναι αμφίδρομη, το χρώμα επανέρχεται σταδιακά.

Για ένα διάλυμα ανθοκυανών σε pH=3 με προσθήκη 20 mg/L θειώδη ανυδρίτη, το 81% είναι σε άχρωμη μορφή και το 19% σε έγχρωμη. Σε pH=3,8 με προσθήκη 20 mg/L θειώδη ανυδρίτη, το 96% είναι σε άχρωμη μορφή και το 4% σε έγχρωμη.

Στην περίπτωση όμως του ερυθρού οίνου οι ανθοκυάνες δεν είναι οι μόνες υπεύθυνες για το χρώμα του. Οι ταννίνες είναι κατά κάποιο τρόπο το υπόβαθρο πάνω στο οποίο στηρίζονται οι ανθοκυάνες. Περίπου 280 mg ταννινών "υποβαστάζουν" 2mg ανθοκυανών. Η ένωση ταννινών με τις ανθοκυάνες γίνεται παρουσία οξυγόνου το οποίο ευνοεί αυτές τις αντιδράσεις. Στην περίπτωση που οι ανθοκυάνες δεν ενωθούν με τις πρωτεΐνες τείνουν να εξαφανιστούν. Στη διάρκεια της παλαίωσης τα μόρια των ανθοκυανών μπορεί να ενωθούν με ταννίνες και να δώσουν έγχρωμες ενώσεις, να μετατραπούν σε άχρωμες ενώσεις ή να δώσουν πορτοκαλόχρωμες ενώσεις.

Η επίδραση του φωτός είναι σημαντική γιατί οδηγεί σε σχηματισμό κετονών που ενώνονται με τις ανθοκυάνες και δίνουν ενώσεις με πορτοκαλί χρώμα.

3.2.2 Αναγωγή και Αποχρωματισμός των Ανθοκυανών κατά την Αλκοολική Ζύμωση:

Κατά την αλκοολική ζύμωση, φαινόμενο που προκαλεί την αναγωγή συστατικών του γλεύκους, το υδρογόνο μεταφέρεται στις ανθοκυάνες από το συνένζυμο $NADH_2$ και προκαλεί αποχρωματισμό λόγω αναγωγής των ανθοκυανών. Με την οξυγόνωση των νέων οίνων οι ανθοκυάνες ξαναπαίρνουν το χρώμα τους.

3.2.3 Δημιουργία Συμπλόκων των Ανθοκυανών με Μέταλλα:

Οι ανθοκυάνες που έχουν υδροξύλια σε γειτονικές θέσεις μπορούν να σχηματίσουν σύμπλοκα με μέταλλα με αποτέλεσμα να προκαλείται στους οίνους θόλωμα σιδήρου.

Στον οίνο πάντως υπάρχουν πολύ λίγες ανθοκυάνες με γειτονικά υδροξύλια

3.2.4 Ενώσεις Ταννινών με Ανθοκυάνες:

Υπάρχουν δύο παράγοντες ισορροπίας αυτών των ενώσεων. Το pH και ο θειώδης ανυδρίτης. Στο νέο και παλαιωμένο οίνο αυτές οι ενώσεις ταννινών με ανθοκυάνες δεν έχουν ίδιο χρώμα.

3.2.5 Επίδραση του Θειώδη Ανυδρίτη:

Στην περίπτωση των ενώσεων T-A (όπου T-ταννίνες και A-ανθοκυάνες) υπάρχει δυσκολία ένωσης του θειώδη ανυδρίτη με το ιόν T-A ενώ για το T-AO είναι αδύνατη. Αυτό σημαίνει ότι η αποχρωστική δράση του θειώδη ανυδρίτη στους παλιούς οίνους είναι περιορισμένη και σχεδόν χωρίς επίδραση στο χρώμα.

3.3 Παράγοντες Εκχύλισης Φαινολικών Συστατικών:

Εδώ εξετάζεται ο ρόλος διάφορων των παραγόντων στην εκχύλιση των φαινολικών παραγώγων, τα

Κεφάλαιο 3ο: Φαινολικά Συστατικά και Μεταβολές τους κατά την Οινοποίηση

οποία διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση του χρώματος και των οργανοληπτικών χαρακτήρων των ερυθρών οίνων, καθώς και την αντοχή τους στην παλαιώση.

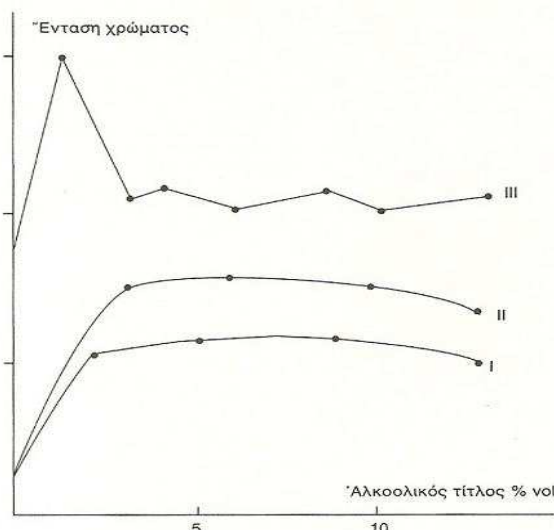
Αυτοί οι παράγοντες είναι οι παρακάτω:

- ◆ Επίδραση της αιθυλικής αλκοόλης
- ◆ Διάρκεια παραμονής του γλεύκους με τα στέμφυλα
- ◆ Θερμοκρασία
- ◆ Αναλογία γλεύκους στεμφύλων
- ◆ Θειώδης ανυδρίτης
- ◆ Διαβροχή των στεμφύλων με το γλεύκος

3.3.1 Επίδραση της Αιθυλικής Αλκοόλης:

Για να διαπιστωθεί η επίδραση της αλκοόλης που σχηματίζεται κατά τη ζύμωση, έχουν γίνει πολλές μελέτες και έχουν διατυπωθεί διάφορες απόψεις που συμφωνούν όλες σε δύο σημεία:

- ◆ Η αλκοόλη διαδραματίζει πρωτεύοντα ρόλο τόσο στην εκχύλιση των ανθοκυανών και των φαινολικών παραγώγων, όσο και στην παραλαβή των ουσιών εκείνων που συμβάλλουν στη δημιουργία αρωματικής οσμής και γεύσης (αρώματα, πρόδρομοι αρωμάτων).
- ◆ Η ένταση του χρώματος αυξάνεται ταχύτατα στα πρώτα στάδια εντατικής παραγωγής αλκοόλης κατά τη ζύμωση και στη συνέχεια παρουσιάζει μια ελάττωση λιγότερο ή περισσότερο απότομη (σχ. 3-6). Το ίδιο ταχύτατα εκχυλίζονται και οι αρωματικές ουσίες που βρίσκονται στους φλοιούς.



Σχήμα 3-6: Καμπύλες Μεταβολής της Έντασης του Χρώματος σε Συνάρτηση με την Παραγόμενη Αλκοόλη κατά τη Διάρκεια Ερυθρής Οινοποίησης Σταφυλιών των Ερυθρών Ποικιλιών: Ξινόμαυρο (I), Αγιωργίτικο (II), Μανδηλαριά (III)(Κουράκου-Δραγωνά, 1998)

Αντίθετα, οι γνώμες διχάζονται ως προς το χρόνο που πρέπει να μείνει το ζυμούμενο γλεύκος με τα στέμφυλα και το ποσό της αλκοόλης που απαιτείται να παραχθεί για να επιτευχθεί το άριστο του χρώματος. Σύμφωνα με ορισμένους, αυτό επιτυγχάνεται τις 2-3 πρώτες ημέρες, τις οποίες άλλοι ανεβάζουν σε 6-8 μέρες, ενώ υπάρχουν και αυτοί που υποστηρίζουν ότι δεν παίζει ρόλο ο χρόνος παραμονής της υγρής με τη στερεή φάση, αλλά το ποσό της αλκοόλης που είναι -σύμφωνα με τη γνώμη τους- ο κύριος παράγοντας που επιδρά στην εκχύλιση των ανθοκυανών· όταν αυτή φθάσει περί του 3% vol, έχει εκχυλισθεί το μεγαλύτερο ποσοστό των χρωστικών που μπορούν να εκχυλισθούν υπό τις συνθήκες διεξαγωγής μιας συγκεκριμένης οινοποίησης, δηλαδή υπό δεδομένες συνθήκες θερμοκρασίας, θειώδη ανυδρίτη κ.λπ. (Κουράκου-Δραγωνά, 1998)

Το Ελληνικό Ινστιτούτο Οίνου θέλοντας να διαπιστώσει τι ακριβώς συμβαίνει κατά την ερυθρή οινοποίηση σταφυλιών από ελληνικές ποικιλίες, καθώς και σταφυλιών από ξένες ποικιλίες που καλλιεργούνται στην Ελλάδα. Οινοποίησε υπό τις ίδιες συνθήκες γλεύκος, ώστε οι παρατηρήσεις

Κεφάλαιο 3ο: Φαινολικά Συστατικά και Μεταβολές τους κατά την Οινοποίηση

να είναι συγκρίσιμες, σταφύλια από διάφορες ποικιλίες που τρυγήθηκαν σε διαφορετικό βαθμό ωριμότητας. Στον πίνακα 3-1 παρατίθενται, ενδεικτικά, στοιχεία που δείχνουν σε πόσες ημέρες και σε ποιο αλκοολικό τίτλο επιτεύχθηκε η μέγιστη ένταση χρώματος κατά την οινοποίηση δύο ελληνικών και μιας ξένης ποικιλίας, που καλλιεργείται τα τελευταία χρόνια στην Ελλάδα.

Όπως είναι φανερό από τα στοιχεία αυτού του πίνακα, η εμφάνιση του μέγιστου της έντασης του χρώματος δεν υπακούει σε κανόνες· ο χρόνος κυμάνθηκε από 2 έως 6 μέρες, η δε αλκοόλη από 0,3% vol μέχρι 8% vol. Οι σημαντικές αυτές διαφορές παρατηρήθηκαν όχι μόνο από ποικιλία σε ποικιλία, αλλά προκειμένου για την ίδια ποικιλία, από χρονιά σε χρονιά και από αμπελώνα σε αμπελώνα. Αξιοσημείωτες είναι οι διαφορές στην περίπτωση της *Μανδηλαριάς* από τρεις διαφορετικούς αμπελώνες της Πάρου.

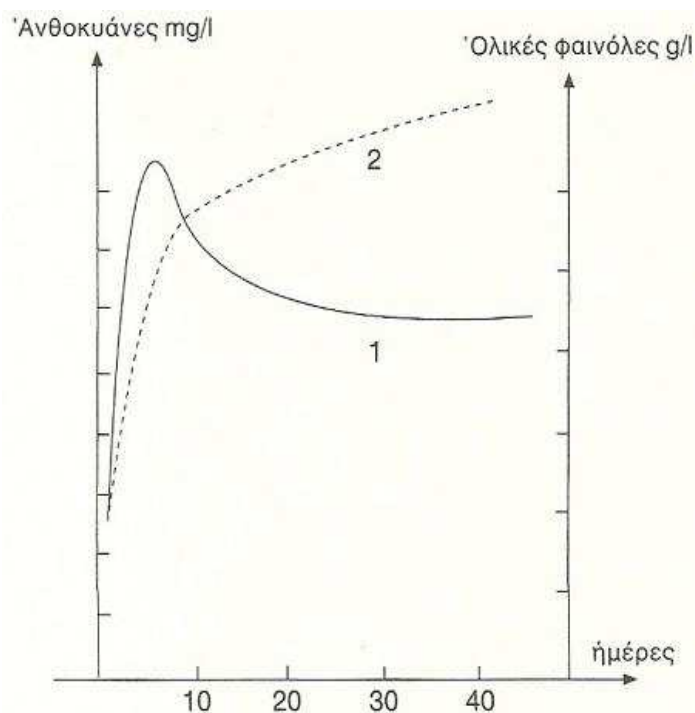
Πίνακας 3-1: Μέγιστο Έντασης Χρώματος κατά την Αλκοολική Ζύμωση Γλεύκους Παρουσία Στεμφύλων (Κουράκου-Δραγωνά, 1998)

Ποικιλία	Περιοχή	Άνάγοντα σάκχαρα g/l	Ήμέρες παραμονής μέ στέμφυλα	Άλκοολικός τίτλος % vol	Μέγιστο έντασης χρώματος
Μανδηλαριά	Ήράκλειο	202	4	3,2	12,9
	Ήράκλειο	182	3	2,5	14,6
	Πάρος	222	2	0,5	12,9
	Πάρος	212	5	1,5	12,5
	Πάρος	188	3	6,2	11,3
Ξινόμαυρο	Άμύνταιο	187	4	0,3	10,7
	Άμύνταιο	180	3	1,2	8,5
Cabernet	Παιανία	210	5	4,7	21,8
Sauvignon	Χαλκιδική	243	5	4,3	19,0
	Άμύνταιο	244	4	7,1	22,5
	Κιούρκα	198	3	5,2	20,5
	Ήράκλειο	195	4	5,4	23,4
	Ρόδος	242	6	7,9	24,7

Πηγή: ΧΑΡΒΑΛΙΑ, ΤΖΟΥΡΟΥ 1982, σ. 54.

3.3.2 Διάρκεια Παραμονής του Γλεύκους με τα Στέμφυλα:

Κατά την παραμονή του γλεύκους με τα στέμφυλα, οι ανθοκυάνες των φλοιών διαχέονται ταχύτατα στο γλεύκος ήδη από τις πρώτες ημέρες της αλκοολικής ζύμωσης και στη συνέχεια παρουσιάζουν μικρότερη ή μεγαλύτερη ελάττωση, ενώ οι ολικές φαινόλες διαχέονται μεν στην αρχή όπως οι ανθοκυάνες, αλλά στη συνέχεια εξακολουθούν να διαχέονται στο ζυμούμενο γλεύκος καθόλη τη διάρκεια της παραμονής του με τα στέμφυλα (σχ. 3-7). Παράλληλα, η ένταση του χρώματος του ζυμούμενου γλεύκους αυξάνεται και φθάνει σε ένα μέγιστο ήδη από τις πρώτες ημέρες της ζύμωσης (σχ. 3-6), υπό τις προϋποθέσεις που αναπτύχθηκαν πιο πάνω. Ως τυπικό παράδειγμα παρατίθεται ο Πίνακας 3-2, από τα στοιχεία του οποίου φαίνεται η μεταβολή του χρώματος κατά τις πρώτες δέκα ημέρες οινοποίησης.



Σχήμα 3-7: Μεταβολή της Συγκέντρωσης Ανθοκυανών (1) και Ολικών Φαινόλων (2) κατά την Παραμονή του Ζυμούμενου Γλεύκους με τα Στέμφυλα (Κουράκου-Δραγονά, 1998)

Πίνακας 3-2: Μεταβολή της Έντασης του Χρώματος κατά τη Διάρκεια Παραμονής του Ζυμούμενου Γλεύκους με τα Στέμφυλα (Κουράκου-Δραγονά, 1998)

Διάρκεια (ημέρες)	Περίπτωση Α		Περίπτωση Β	
	Βέ	Ένταση χρώματος	Βέ	Ένταση χρώματος
0	11,2	4,83	12,2	3,89
1	11,1	9,63	11,3	6,80
2	8,7	10,84	9,8	7,02
4	6,9	12,42	6,8	7,47
5	5,3	11,31	5,4	7,21
6	4,1	11,37	4,1	6,70
7	3,2	11,44	3,2	6,89
8	2,4	11,22	2,7	6,50
10	1,0	10,50		

Πηγή: ΚΟΥΡΑΚΟΥ, ΠΟΠΟΛΑΝΟΣ 1983.

Η διαφορά εκχύλισης των ανθοκυανών και των ολικών φαινόλων οφείλεται στο γεγονός ότι οι ανθοκυανές -που είναι ευδιάλυτες ακόμη και σε υδατικά διαλύματα, όπως είναι το γλεύκος- βρίσκονται αποκλειστικά στα χυμοτόπια των κυττάρων των φλοιών, στις τρεις-τέσσερις εξωτερικές σειρές κυττάρων, απ' όπου διαχέονται εύκολα στο γλεύκος αμέσως μόλις υποστούν πλασμόλυση τα κύτταρα υπό την επίδραση διαφόρων παραγόντων της οινοποίησης (θερμότητα, θειώδης ανυδρίτης κ.λπ.). Απόδειξη αυτού αποτελεί το γεγονός ότι το χρώμα του γλεύκους αυξάνεται ήδη από τις πρώτες ώρες μετά την έκθλιψη, ακόμη και προτού αρχίσει να σχηματίζεται αλκοόλη όπως φαίνεται από την περίπτωση Α του πίνακα 3-2.

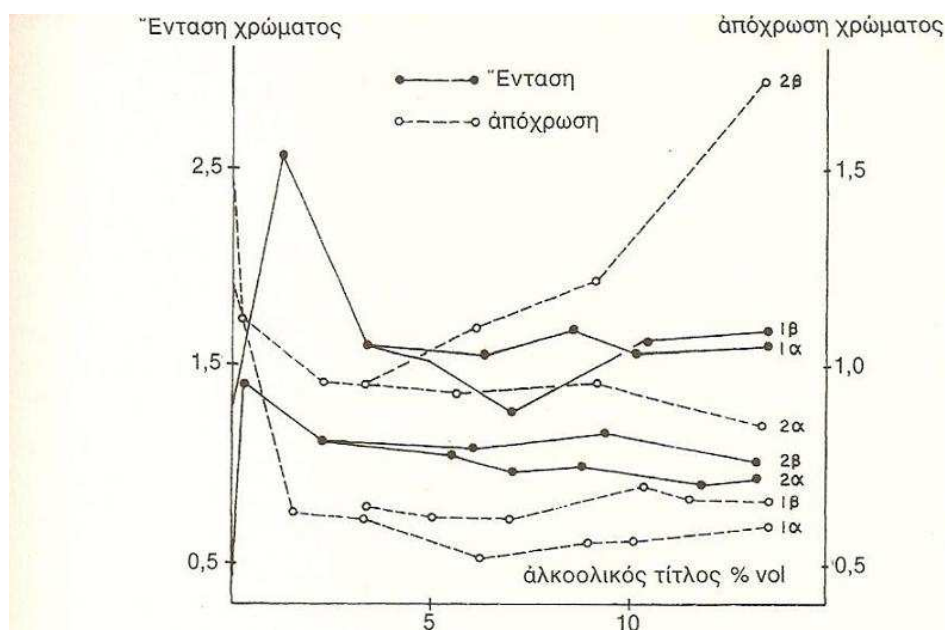
Αντίθετα οι ταννοειδείς ουσίες, που αποτελούν το σημαντικότερο μέρος των ολικών φαινόλων στην περίπτωση των ερυθρών οίνων, βρίσκονται κυρίως στα γιγάτια και δευτερευόντως στους φλοιούς και στους βοστρύχους. Έτσι, ενώ οι ταννοειδείς ουσίες των φλοιών παραλαμβάνονται σχετικά γρήγορα, αυτές των γιγάρτων διαχέονται περισσότερο ή λιγότερο βραδέως ανάλογα με το στάδιο της ωριμότητας των γιγάρτων. Όταν τα γιγάτια μπορούν να βλαστήσουν (στάδιο φυσιολογικής

ωριμότητας των σταφυλιών), ελευθερώνουν ευκολότερα τα συστατικά τους.

Πρέπει να σημειωθεί ότι η διάρκεια παραμονής του ζυμούμενου γλεύκους με τα στέμφυλα επηρεάζει τη γευστική ισορροπία των οίνων, γιατί η επιμήκυνση του χρόνου εμπλουτίζει σε συστατικά που αυξάνουν το "σώμα". Εξάλλου, η αρωματική ένταση είναι πιο έντονη και πλούσια, όσο μεγαλύτερο το ποσοστό των ταννοειδών ουσιών που δρουν ως υπόστρωμα στήριξης των αρωμάτων. Αντίθετα, η φρουτώδης γεύση καλύπτεται από τις ουσίες αυτές.

Ένας άλλος παράγοντας που πρέπει να ληφθεί υπόψη είναι η ευαισθησία των ελευθερών ανθοκυανών στις οξειδώσεις. Λόγω αυτής της ευαισθησίας, οι οίνοι που δεν έχουν ικανή ποσότητα ταννινών για να σχηματισθούν σταθερά πολυμερή ανθοκυανών - ταννινών, χάνουν σύντομα το ερυθρό τους χρώμα που αρχίζει να καφετιάζει. Οι οίνοι αυτοί δεν προσφέρονται για παλαίωση-γερνάνε πριν ωριμάσουν.

Ενδεικτικό παράδειγμα αποτελούν οι καμπύλες του σχήματος (σχ. 3-8) που δίνουν τη μεταβολή της έντασης και της απόχρωσης του χρώματος τεσσάρων οίνων που προέρχονται από δύο ποικιλίες σταφυλιών: τη *Μανδηλαριά*, ποικιλία πλούσια σε χρώμα και ολικές φαινόλες, και το *Ρωμέικο*, ποικιλίας φτωχή σε ανθοκυάνες, της οποίας οι οίνοι παρουσιάζουν αστάθεια χρώματος. Το φορτίο των σταφυλιών κάθε μιας από τις ποικιλίες αυτές χωρίστηκε στα δύο. Οι τέσσερις σταφυλόμαζες που προέκυψαν (*Μανδηλαριά* 1α-1β, *Ρωμέικο* 2α-2β) οινοποιήθηκαν υπό τις ίδιες συνθήκες με μία μόνο διαφορά: στα δείγματα 1α και 2α, η υγρή και η στερεή φάση παρέμειναν μαζί μέχρι το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης, ενώ στην περίπτωση των δειγμάτων 1β και 2β, ο διαχωρισμός του γλεύκους από τα στέμφυλα έγινε όταν επιτεύχθηκε το μέγιστο του χρώματος. Όπως διαπιστώνεται από αυτές τις καμπύλες, η ένταση του χρώματος δεν επηρεάστηκε ουσιαστικά από το διαχωρισμό. Πράγματι, τα δείγματα 1α και 1β είχαν τελικά παραπλήσια ένταση και μάλιστα εκείνο που διαχωρίστηκε από τα στέμφυλα νωρίτερα, δηλαδή το 1β, είχε ελαφρώς υψηλότερη. Το ίδιο συνέβη και με τα δείγματα 2α και 2β.



Πηγή: ΚΟΥΡΑΚΟΥ 1967.

Σχήμα 3-8: Καμπύλες μεταβολής της έντασης και της απόχρωσης του χρώματος κατά την οινοποίηση των ερυθρών ποικιλιών *Μανδηλαριά* (1) και *Ρωμέικο* (2), των οποίων οι σταφυλόμαζες από το ίδιο φορτίο σταφυλιών οινοποιήθηκαν υπό τις ίδιες συνθήκες με μόνη διαφορά: 1α και 2α, παραμονή του γλεύκους με τα στέμφυλα μέχρι το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης, 1β και 2β, διαχωρισμός του γλεύκους όταν επιτεύχθηκε το μέγιστο του χρώματος.

Όμως προκειμένου για την απόχρωση του χρώματος που υποδηλώνει στους νέους οίνους το βαθμό οξείδωσης των ανθοκυανών, τα ζεύγη των δύο ποικιλιών δεν συμπεριφέρθηκαν το ίδιο.

Κεφάλαιο 3ο: Φαινολικά Συστατικά και Μεταβολές τους κατά την Οινοποίηση

Συγκεκριμένα στην περίπτωση της ποικιλίας *Μανδηλαριά* που είναι, όπως αναφέρθηκε, πλούσια σε ανθοκυάνες και ταννίνες, τα δείγματα 1α και 1β είχαν παρεμφερή και χαμηλή απόχρωση (περίπου 0,6), γεγονός που σημαίνει ότι η υγρή φάση είχε επάρκεια ταννινών ήδη από τις πρώτες ημέρες της οινοποίησης. Αντίθετα ο πρόωρος διαχωρισμός οδήγησε, στην περίπτωση της ποικιλίας *Ρωμέικο*, σε έντονη οξείδωση του χρώματος (απόχρωση χρώματος δείγματος 2α ήταν 0,8 ενώ του 2β 1,7). Πράγματι η ποικιλία *Ρωμέικο* είναι φτωχή σε ανθοκυάνες και ταννίνες, για αυτό μια παρατεταμένη παραμονή του γλεύκους με τα στέμφυλα συντελεί σε παραγωγή οίνων με σταθερότερο χρώμα, λόγω εμπλουτισμού με ταννίνες από τα γίγαρτα.

3.3.3 Θερμοκρασία:

Η διάρκεια παραμονής του γλεύκους με τα στέμφυλα αποτελεί αναμφισβήτητα έναν από τους κυριότερους παράγοντες της εκχύλισης των ολικών φαινολών, όμως η θερμοκρασία που έχει η σταφυλόμαζα κατά την οινοποίηση είναι ακόμη πιο σημαντική. Όπως προκύπτει από τα στοιχεία του Πίνακα 3-3, όταν η οινοποίηση διεξάγεται σε θερμοκρασία 30–35°C, ο ερυθρός οίνος που παράγεται περιέχει σημαντικά περισσότερες ολικές φαινόλες και ανθοκυάνες και έχει πολύ μεγαλύτερη ένταση χρώματος, σε σύγκριση με τον οίνο που παράγεται από την ίδια σταφυλόμαζα, αλλά σε θερμοκρασία 20–25°C.

Πίνακα 3-3: Επίδραση της Θερμοκρασίας οινοποίησης στην Εκχύλιση των Φαινολικών Παραγώγων και στην Ένταση του Χρώματος (Κουράκου-Δραγωνά, 1998)

Ποικιλία άμπέλου Περιοχή	Μανδηλαριά Πάρος		Βάτρα Πάρος	
	20°-25°C	30°-35°C	20°-25°C	30°-35°C
Όλικές φαινόλες mg/l	3.200	4.200	3.700	4.600
Άνθοκυάνες mg/l	360	420	660	790
Ένταση χρώματος	9,6	12,9	13,8	19,0

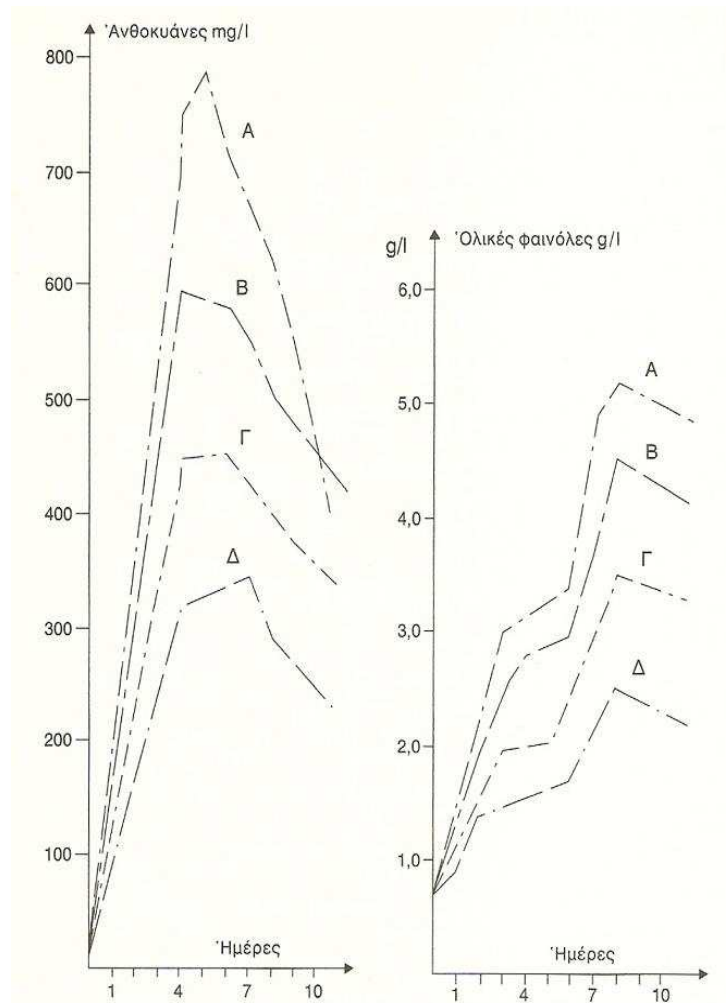
Πηγή: ΧΑΡΒΑΛΙΑ, ΤΖΟΥΡΟΥ 1982, σ. 55.

Ως εκ τούτου, αυτό το στάδιο οινοποίησης, κατά το οποίο πραγματοποιούνται ταυτόχρονα τα δύο φαινόμενα ζύμωσης και εκχύλισης, πρέπει να διεξάγεται σε τέτοια θερμοκρασία που να ευνοείται η εκχύλιση, χωρίς να επιβραδύνεται η δράση των σακχαρομυκήτων και να μειώνεται η αρωματική ένταση. Για αυτό, παρόλο που μια θερμοκρασία ακόμη υψηλότερη θα συντελούσε σε ταχύτερη και πληρέστερη παραλαβή των εκχυλισμάτων ουσιών των στεμφύλων, η θερμοκρασία διεξαγωγής της ερυθρής οινοποίησης κυμαίνεται μεταξύ 25 και 35°C ανάλογα με την ποικιλία της άμπέλου και τον τύπο του οίνου, του οποίου επιδιώκεται η παραγωγή.

3.3.4 Αναλογία Γλεύκους Στεμφύλων:

Όπως αναφέρθηκε, οι ερυθρές ποικιλίες πρέπει να έχουν μικρές ρώγες γιατί τότε η αναλογία φλοιού επί του βάρους του γλεύκους είναι μεγάλη, γεγονός που συντελεί σε μεγαλύτερο εμπλουτισμό του ζυμούμενου γλεύκους με χρωστικές και αρωματικά συστατικά του φλοιού. Πράγματι, η σχέση στερεής/υγρής φάσης καθορίζει, κατά την ερυθρή οινοποίηση, την ποσότητα των χρωστικών ουσιών, όταν όλοι οι άλλοι παράγοντες είναι οι ίδιοι. Δηλαδή, η ένταση του χρώματος του οίνου που παράγεται και ο πλούτος του σε ανθοκυάνες και ολικές φαινόλες είναι αντιστρόφως ανάλογα με την απόδοση των σταφυλιών σε χυμό. Γι' αυτό στη Γαλλία, κατά την οινοποίηση ορισμένων ερυθρών ποικιλιών που δίνουν υψηλό ποσοστό χυμού (*aramon, cinsaut*) και ο οίνος κινδυνεύει να μην έχει επάρκεια χρώματος. αφαιρείται ένα μέρος του γλεύκους (μερική αφαιμάξη) πριν από την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης, ώστε να αυξηθεί η αναλογία της στερεής φάσης.

(Κουράκου-Δραγωνά, 1998)



Πηγή: I.C.V. (χωρίς ημερομηνία), σ. 74.

Σχήμα 3-9: Καμπύλες που δείχνουν την επίδραση της στερεής και υγρής φάσης επί της διάχυσης των ανθοκυανών και των ολικών φαινολών, κατά την παραμαονή του ζυμούμενου γλεύκους με τα στέμφυλα. Οι καμπύλες Α, Β, Γ, Δ αντιστοιχούν σε δείγματα σταφυλόμαζας, από τα οποία έχει αφαιρεθεί αντίστοιχα ποσοστό γλεύκους 50%, 40%, 30% και 20% (Κουράκου-Δραγώνα, 1998)

Στο σχήμα 3-9 δίνονται οι καμπύλες μεταβολής των ανθοκυανών και των ολικών φαινολών κατά την οινοποίηση του ίδιου φορτίου σταφυλιών που χωρίστηκε σε τέσσερα μέρη (Α, Β, Γ, Δ), από τα οποία αφαιρέθηκε αντίστοιχως ποσοστό γλεύκους 50%, 40%, 30%, 20%. Είναι φανερή η θετική επίδραση στο χρώμα, υπό την προϋπόθεση ότι οι τανοειδείς ουσίες της ποικιλίας δεν προσδίδουν στον οίνο επιθετική στιφάδα, γιατί όπως είναι φυσικό, η τεχνική αυτή επιφέρει και αύξηση και των ολικών φαινολών.

Στην Ελλάδα δεν υπάρχει τέτοια εμπειρία. Είναι μια τεχνική που δεν έχει βρει εφαρμογή παρά μόνον επί της ποικιλίας *Ξινόμαυρο* σε οινοποιεία της Νάουσας. Η εφαρμογή της απαιτεί χυμώδης ρώγες με επάρκεια χρώματος και λίγες ταννίνες. Τέτοιας σύνθεσης σταφυλοπαραγωγή σπανίζει στην Ελλάδα. Το γεγονός αυτό έχει οδηγήσει στην αντίθετη ακριβώς τεχνική. Συγκεκριμένα, επειδή η ποικιλία *Μανδηλαριά* έχει μεν χρώμα, αλλά δίνει οίνους πολύ τραχείς και στυφούς όταν οινοποιείται αυτούσια, εφαρμόζεται στην πράξη, με πολλή επιτυχία από πλευράς ποιότητας του παραγόμενου προϊόντος, η συνοποίηση σταφυλόμαζας της *Μανδηλαριάς* με γλεύκος ή σταφυλόμαζα άλλων ποικιλιών. Συγκεκριμένα:

- ◆ Από συνοποίηση σταφυλόμαζας *Μανδηλαριάς* με σταφυλόμαζα της ερυθρής ποικιλίας

Κεφάλαιο 3ο: Φαινολικά Συστατικά και Μεταβολές τους κατά την Οινοποίηση

Κοτσιφάλι παράγονται στα οινοποιεία του Ηρακλείου Κρήτης, οι ερυθροί οίνοι "Πεζά" και "Αχαρνές".

- ◆ Από συνοποίηση σταφυλόμαζας *Μανδηλαριάς* με γλεύκος από τη λευκή ποικιλία Μονεμβασία, παράγονται στην Πάρο οι ερυθροί οίνοι "Πάρος".

3.3.5 Θειώδης Ανυδρίτης:

Εκτός των άλλων θετικών δράσεων του στο τομέα της οινοποιητικής πρακτικής, ο θειώδης ανυδρίτης διευκολύνει την εκχύλιση διάφορων φαινολικών παραγώγων των στερεών συστατικών της σταφυλόμαζας από το ζυμούμενο γλεύκος, με συνέπεια την παραγωγή οίνων με πιο έντονο χρώμα και μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες (πιν. 3-4).

Πίνακας 3-4: Διαφορές στην Ένταση του Χρώματος και στο Δείκτη F.C.* Ερυθρών Οίνων από Σταφυλόμαζα με Διαφορετική Θειώση (Κουράκου-Δραγώνα, 1998)

	SO ₂ σταφυλομάζας		
	μηδέν	10 g/hl	20 g/hl
Ένταση χρώματος οίνου	5,3	6,3	8,3
Δείκτης F.C.* οίνου	32,0	41,0	45,0

* Ο δείκτης Folin-Ciocalteu δείχνει την περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες.

Ακόμη και χωρίς να γίνεται αλκοολική ζύμωση, απλή παραμονή θειωμένης σταφυλόμαζας σε θερμοκρασία περιβάλλοντος οδηγεί σε σημαντική πρόσληψη ανθοκυανών χωρίς αύξηση των ολικών φαινολών, σε περιπτώσεις σταφυλιών πλούσιων σε χρώμα, όπως είναι οι ποικιλίες *Αγιωργίτικο*, *Μανδηλαριά*, *Βάφτρα*, *Βερτζαμί*, διότι οι ανθοκυάνες - αντίθετα προς τις ταννίνες - είναι διαλυτές σε υδατικά διαλύματα, όπως είναι το γλεύκος. Δύο παραδείγματα δίνονται ενδεικτικά στον Πίνακα 3-5. Οι οίνοι Α προέρχονται από σταφύλια που οινοποιήθηκαν κατά τη κλασική μέθοδο ερυθρής οινοποίησης, ενώ οι οίνοι Β προέρχονται από σταφύλια του ίδιου φορτίου, των οποίων η σταφυλόμαζα θειώθηκε και παρέμεινε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος επί 24 ώρες (προζυμωτική εκχύλιση). Ακολούθησε διαχωρισμός του γλεύκους από τα στέμφυλα, που είχε έντονα ερυθρό χρώμα και το γλεύκος αυτό οινοποιήθηκε με προσθήκη καθαρής καλλιέργειας ζύμης.

Όπως προκύπτει από τα στοιχεία αυτού του πίνακα, οι δύο οίνοι είχαν παρεμφερή περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες (συστατικά του φλοιού), ενώ η συγκέντρωση των ολικών φαινολών ήταν στους οίνους της προζυμωτικής εκχύλισης σαφώς μικρότερη.

Η τεχνική αυτή, που έχει δοκιμασθεί στην Ελλάδα, μπορεί να δώσει οίνους με έντονο χρώμα και χωρίς τραχύτητα, όταν εφαρμόζεται σε σταφύλια ποικιλιών που δίνουν συνήθως στυφούς και τραχείς οίνους. (π.χ. *Βάφτρα*, *Βερτζαμί*).

Πίνακας 3-5: Επίδραση του Θειώδη Ανυδρίτη στην Εκχύλιση των Φαινολικών Παραγώγων

Ποικιλία	Περιοχή	Τεχνική οίνο-ποίηση*	Χρωμ/κά χαρακ/κά ένταση απόχρωση	Ανθοκυάνες mg/l	Όλικές φαινόλες mg/l	
Βάφτρα	Πάρος	A	13,8	0,53	660	3.700
Βάφτρα	Πάρος	B	14,5	0,46	690	3.100
Μανδηλαριά	Πάρος	A	9,6	0,52	360	3.200
Μανδηλαριά	Πάρος	B	8,0	0,45	310	2.650

Πηγή: ΧΑΡΒΑΛΙΑ, ΤΖΟΥΡΟΥ 1982, σ. 56.

* A: Κλασική έρυθρη οινοποίηση.

B: Παραμονή επί 24 ώρες θειωμένης σταφυλόμαζας σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, διαχωρισμός του γλεύκους από τα στέμφυλα, προσθήκη καθαρής καλλιέργειας ζύμης και ζύμωσης του γλεύκους.

3.3.6 Διαβροχή των Στεμφύλων με το Γλεύκος:

Όταν αρχίσει η αλκοολική ζύμωση, το διοξείδιο του άνθρακα που εκλύεται από τη διάσπαση των σακχάρων σπρώχνει τα στεμφύλα προς το πάνω μέρος του δοχείου δημιουργώντας έτσι μια αρκετά συμπαγή στέρεη φάση ("καπέλο") διαχωρισμένη από το μεγάλο όγκο της υγρής φάσης, με αποτέλεσμα την ατελή εκχύλιση των συστατικών των φλοιών από το χυμό. Επίσης, τα επιπλέοντα στεμφύλα παραμένουν εκτεθειμένα στον αέρα, με συνέπεια την ανάπτυξη των οξικών βακτηρίων και την παραγωγή οίνου με αυξημένη πτητική οξύτητα. Έτσι γεννήθηκε η ιδέα της διαβροχής της στερεής φάσης από την υγρή (ανακύκλωση του γλεύκους, παλίρροια).

Σήμερα γνωρίζουμε ότι η ανακύκλωση επιδρά κατά τρεις διαφορετικούς τρόπους στη δραστηριότητα των ζυμών:

- ◆ συντελεί σε καλύτερη κατανομή του πληθυσμού τους στη ζυμούμενη μάζα,
- ◆ ευνοεί το σχηματισμό στερολών από τις ίδιες τις ζύμες, δεδομένου ότι οι στερόλες είναι απαραίτητο συστατικό των κυττάρων τους,
- ◆ διευκολύνει την παραλαβή του ολεανολικού οξέος από την κηρώδη "ανθρότητα", καθώς το ανακυκλούμενο γλεύκος είναι θερμό και περιέχει αλκοόλη.

Όμως τόσο οι στερόλες όσο και το ολεανολικό οξύ είναι παράγοντες αύξησης και πολλαπλασιασμού των ζυμών υπό αναερόβιες συνθήκες, οπότε η ανακύκλωση συντελεί όχι μόνο σε καλύτερη εκχύλιση και ομογενοποίηση, αλλά και σε καλή και πλήρη ζύμωση των σακχάρων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4ο: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ**4.1 Πρώτες Ύλες:****Σταφύλι και Οίνος:**

Το σταφύλι και ο οίνος που επιλέχθηκε για τα πειράματά μας παράχθηκε από αμπέλια της ποικιλίας Μανδηλαριά και συγκεκριμένα ο κλώνος με τη συνήθη ονομασία Μαύρη Κουντούρα Κύμης. Πρόκειται για έναν κλώνο με πιο μικρά σταφύλια, πιο σκούρο χρώμα, και πιο βελούδινες ταννίνες. Κριτήρια επιλογής του συγκεκριμένου κλώνου ήταν η ιστορική σημασία του καθώς επίσης και η πιθανά υψηλή περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες.

Τα σταφύλια προς οινοποίηση ήταν από την περιοχή Κύμη Ευβοίας - Αφράτι και η οινοποίηση έγινε από τον Απόστολο Μούντριχα (Avantis, Ληλάντιο Πεδίο-Εύβοια). Ο τρύγος έγινε στις 23/09/2010. Μετά την έκθλιψη των σταφυλιών (φωτ. 3) και τη θείωση με 15 g/tn Metabisulfite έγινε ψυχρή έκθλιψη (φωτ. 4) 3 ημερών σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα με 70% N₂-30% CO₂ (0,8-0,9 atm) και ακολούθησε στις 27/09/2010 ο εμβολιασμός του μείγματος γλεύκους-στεμφύλων με 200 g/tn του μύκητα Zymaflore (Laffort) προς έναρξη της ζύμωσης (φωτ. 3), η οποία ολοκληρώθηκε μέχρι τις 3/10/2010. Η θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της ζύμωσης διατηρήθηκε σταθερή, 20-22°C. Το τέλος της ζύμωσης (και της μηλικής) έγινε αντιληπτό όταν η πυκνότητα του γλεύκους-οίνου (φωτ. 4) έπεσε στα 0,995 kg/m³. Η έξοδος από τον οινοποιητή πραγματοποιήθηκε στις 10/10/2010 οπότε έγινε και ο διαχωρισμός του οίνου -πλέον- από τα στέμφυλα και ακολούθησε η θείωση με 50 g/tn Metabisulfite, υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα (70% N₂-30% CO₂). Στη συνέχεια ακολουθεί 8-12 μήνες παλαίωση σε δρύινα Γαλλικά βαρέλια (φωτ. 5) (70% υγρασία, 12°-15°C) και μετά την απολάσπωση ακολουθεί η εμφιάλωση (φωτ. 6) υπό την παρουσία τροποποιημένης ατμόσφαιρας (70% N₂-30% CO₂). Ο οίνος μπορεί να παλαιωθεί για 10 χρόνια.

Τα σταφύλια παραλήφθηκαν την ημέρα του τρύγου. Η σταφυλόμαζα για την διεργασία της οινοποίησης στο εργαστήριο παραλήφθηκε μετά το πέρας της ψυχρής εκχύλισης ενώ το κρασί για την αποθήκευση υπό τροποποιημένες ατμόσφαιρες παραλήφθηκε στις 18/10/2010 πριν της εισαγωγής του σε βαρέλια.



Φωτογραφία 4-1: Θλιπτήριο



Φωτογραφία 4-2: Δεξαμενή ψυχρής εκχύλισης



Φωτ. 4-3: Δεξαμενή Οινοποίησης



Φωτογραφία 4-4: Πυκνόμετρο



Φωτογραφία 4-5: Δρύινο Γαλλικό Βαρέλι



Φωτογραφία 4-6: Εμφιαλωτήριο

4.2 Σχεδιασμός Πειραμάτων:

Το κύριο αντικείμενο της συγκεκριμένης διπλωματικής είναι η εξέλιξη των φαινολικών συστατικών κατά τη διάρκεια τριών βασικών σταδίων της οινοποίησης:

- Εκχύλιση φαινολικών συστατικών των διάφορων μερών του σταφυλιού
- Μελέτη των μεταβολών των φαινολικών συστατικών του οίνου υπό διαφορετικές συνθήκες οινοποίησης
- Μεταβολή των φαινολικών συστατικών του οίνου κατά την αποθήκευση σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες

Θεωρήθηκε χρήσιμη η μελέτη των φαινολικών συστατικών και περισσότερο δε των ανθοκυανών καθώς είναι οι ουσίες που προσφέρουν κατά κύριο λόγο στο κάθε κρασί τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του και το διαφοροποιούν από τα υπόλοιπα.

4.2.1 Εκχύλιση φαινολικών συστατικών των διαφόρων μερών του σταφυλιού:

Η εκχύλιση των φαινολικών συστατικών της σταφυλής στο γλεύκος είναι βασική διεργασία για την ερυθρή οινοποίηση -όπως έχει αναφερθεί σε προηγούμενα κεφάλαια- και πάντα επιδιώκεται η μέγιστη εκχύλιση τους. Σημαντικό είναι δε να βρούμε για την ποικιλία που μελετάμε το πόσο και πώς συνεισφέρει το κάθε μέρος της ρώγας στο τελικό φαινολικό περιεχόμενο του οίνου.

4.2.2 Διεργασίες οινοποίησης υπό διαφορετικές συνθήκες:

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον θεωρήσαμε ότι θα έχει η επίδραση της θερμοκρασίας καθώς και ο τύπος της ζύμης στο τελικό προϊόν της ζύμωσης και το πώς διαφοροποιούνται τα φαινολικά συστατικά υπό την επίδραση των παραπάνω παραγόντων. Για αυτό επιλέχθηκαν δύο θερμοκρασίες 22°C και 26°C για την πραγματοποίηση των ζυμώσεων -εντός των πλαισίων δράσης των ζυμών του οίνου-, και τρεις διαφορετικοί τρόποι οινοποίησης: χωρίς επιπρόσθετη χρήση ζυμών, με χρήση Zymaflore (Laffort) και με χρήση Fermol (AEB Group).

4.2.3 Διεργασία αποθήκευσης σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες:

Η εφαρμογή τροποποιημένων ατμοσφαιρών τόσο στην οινοποίηση όσο και κατά την αποθήκευση του οίνου εμφανίζει μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον για την αποφυγή των ανεπιθύμητων οξειδώσεων που μπορούν να υποβαθμίσουν ποιοτικά τον οίνο. Θέλαμε λοιπόν να διαπιστώσουμε την επίδραση που μπορεί να έχει η εφαρμογή διαφορετικών τύπων τροποποιημένων ατμοσφαιρών στη μεταβολή των φαινολικών συστατικών του αποθηκευμένου οίνου σε σχέση με την πάροδο του χρόνου. Για αυτή τη διεργασία επιλέξαμε τροποποιημένες ατμόσφαιρες 100% CO₂ (AirLiquid) που είναι ήδη ένα από τα συστατικά του κρασιού (προϊόν ζύμωσης), 100% N₂ (AirLiquid) που είναι ένα αδρανές αέριο και μείγμα αυτών 70% N₂-30% CO₂ (AirLiquid), επίσης θεωρήθηκε ενδιαφέρον να μελετηθεί και η υπό κενό αποθήκευση του οίνου. Οι υπόλοιπες συνθήκες αποθήκευσης διατηρήθηκαν όμοιες.

4.3 Υλικά:

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στα πλαίσια της συγκεκριμένης εργασίας φαίνονται αναλυτικά στον πίνακα 4-1.

4.4 Συσκευές:

Υγρός χρωματογράφος υψηλής απόδοσης (HPLC) που αποτελούνταν από αντλία βαθμωτής έκλουσης, HP 1100 και ανιχνευτή παράταξης φωτοδιόδων (Diode Array Detector, DAD) (Hewlett Packard, Waldbronn, Germany), συνδεδεμένα με στήλη Hypersil C₁₈ ODS 5 μm, 250x4,6 mm (MZ Analysentechnik, Germany). Τα χρωματογραφικά δεδομένα επεξεργάστηκαν με το λογισμικό ChemStation for LC 3D software (Agilent Technologies, 1999-2000, Waldbrook, Germany)

Συσκευή Λυοφιλίωσης (Freeze Dry): Christ, Alpha 1-4 LD plus

Φυγόκεντρος: Thermo Scientific, Heraeus Megafuge 16R Centrifuge

Λουτρό Υπερήχων (Sonication): Elma, S30H Elmasonic

Περιστροφικός Εξατμιστής Κενού (Rotavapor) Büchi, R111 με ενσωματωμένο υδρόλουτρο Büchi 461 της Büchi Laboratories Technik

Φασματοφωτόμετρο: Spectronic Unicam EMEA, Unicam Helios

Χρωματόμετρο: Konica Minolta, CR-200 JAPAN

LC-MS: Varian 500 MS Ion Trap Spectrometer, Varian

Συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP): Boss M. Typ NT42N

4.5 Πειραματικές Τεχνικές:**4.5.1 Εκχύλιση Φαινολικών Συστατικών των Διαφόρων Μερών του Σταφυλιού:**

Τα φαινολικά συστατικά που βρίσκονται στον οίνο προσδίδονται φυσικά από την πρώτη ύλη από την οποία παρασκευάζεται, δηλαδή τα σταφύλια. Μελετώντας λοιπόν τα φαινολικά συστατικά της ρώγας του σταφυλιού μπορούμε να κάνουμε μία πρώτη εκτίμηση ως προς τα φαινολικά που θα υπάρχουν στον παραγόμενο οίνο. Επίσης τα φαινολικά συστατικά που υπάρχουν σε κάθε μέρος της ρώγας, κάθε ποικιλίας σταφυλιού, μπορούν να μας δώσουν στοιχεία ταυτοποίησης της. Για να είναι εφικτή η ανάλυση, λοιπόν, των φαινολικών συστατικών κάθε μέρους της ρώγας κρίθηκε απαραίτητη η εκχύλιση τους ξεχωριστά (για κάθε μέρος της ρώγας) όπως φαίνεται παρακάτω.

Κεφάλαιο 4ο: Πειραματική Διαδικασία

Πίνακας 4-1: Υλικά Πειραμάτων

ΥΛΙΚΑ		
ΧΗΜΙΚΟ	ΚΑΘΑΡΟΤΗΤΑ-ΕΤΑΙΡΕΙΑ	ΧΡΗΣΗ
Μεθανόλη	Analytical reagent grade, Fisher Scientific	εκχύλιση φαινολικών
Μυρμηγκικό Οξύ	98-100%, Merck	εκχύλιση φαινολικών
Εξάνιο	Analytical reagent grade, Fisher Scientific	εκχύλιση γιγαρτέλαιου
Αιθανόλη	95%	αραιώσεις οίνου
Υδροχλώριο	37%, Merck	όξινη υδρόλυση
Ανθρακικό Νάτριο	Mallinckrodt	όξινη υδρόλυση
Αλβουμίνη από ορό αβγού (Bovine Serum Albumin, BSA)	Biochemica, fraction V \geq 96%(GE), Fluka Analytical, Sigma	καταβύθιση ταννινών
Οξικό Οξύ	Panreac quimica sau	ρυθμιστικό, καταβύθιση ταννινών
Οξικό Νάτριο	Panreac	ρυθμιστικό, καταβύθιση ταννινών
Τριφθοροξικό Οξύ	99%, Arcos Organics	για ανάλυση HPLC
Μεθανόλη	HPLC Gradient Grade, Fisher Scientific	για ανάλυση HPLC
Νερό	HPLC Gradient Grade, Fisher Scientific	για ανάλυση HPLC
Ακετονιτρίλιο	HPLC Gradient Grade, Fisher Scientific	για ανάλυση HPLC
Γαλλικό Οξύ	98%, Arcos Organics	πρότυπο για συγκέντρωση φαινολικών
Ταννικό Οξύ	Mallinckrodt	
Folin Ciocalteu	Merck	για προσδιορισμό φαινολικών
Δινιτροσαλικυλικό Οξύ (DNS)		για προσδιορισμό σακχάρων
Potassium Pyrosulfite (potassium metabisulfite)	(photograph quality), Fluka AG. Buchs SG	θείωση οίνου
Καυστικό Νάτριο	0,1 mol/l, Panreac	τιτλοδότηση
Μπλε της Βρομοθυμόλης	Riedel-de Hæen	δείκτης ολικής οξύτητας
Φαινολοφθαλεΐνη	Panreac	δείκτης πτητικής οξύτητας
Άζωτο	AirLiquide	τροποποιημένες ατμόσφαιρες, ως αδρανές αέριο για την όξινη υδρόλυση
Διοξειδίο του Άνθρακα	AirLiquide	ως αδρανές αέριο για την όξινη υδρόλυση
Fermol	PB 2033 ,AEB group, France	Ζύμες Αλκοολικής Ζύμωσης
Zymaflore	RX60 vin Rouge	Ζύμες Αλκοολικής Ζύμωσης
Πετονιδίνη	Assay (HPLC) \geq 95%,	ταυτοποίηση των ανθοκυανών
Δελφινιδίνη	Assay (HPLC) > 97%	ταυτοποίηση των ανθοκυανών
Μαλβιδίνη	Assay (HPLC) > 97%	ταυτοποίηση των ανθοκυανών
Κυανιδίνη	Assay (HPLC) > 96%	ταυτοποίηση των ανθοκυανών
Πεονιδίνη	Assay (HPLC) > 97%	ταυτοποίηση των ανθοκυανών
Σακίδια Αποθήκευσης	MAP-bags, LINVAC 80N(75-8), Prepac	αποθήκευση οίνου σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες

4.5.1.1 Διαχωρισμός Μερών της Ρώγας Σταφυλιού:

Διαχωρισμός μερών της ρώγας σταφυλιού: Παραλήφθηκαν ρώγες, 500 g, για τις οποίες προσδιορίστηκε το μέσο βάρος 100 ρωγών, επίσης προσδιορίστηκε η μέση διάμετρος σε 20 ρώγες τυχαία επιλεγμένες με παχύμετρο. Κάθε μία ρώγα τεμαχίστηκε στη μέση κατά μήκος της μεγαλύτερης της διάστασης ώστε με τη βοήθεια σπάτουλας με κοίλη άκρη να διαχωριστεί προσεκτικά η σάρκα (μαζί με τα γίγαρτα) από τον φλοιό. Οι φλοιοί στραγγίστηκαν σε διηθητικό χαρτί. Οι φλοιοί όσο και οι σάρκες ζυγίστηκαν σε ζυγό δύο δεκαδικών ψηφίων, τοποθετήθηκαν σε δοχεία μιας χρήσης (sanitas) ώστε να καταψυχθούν και αργότερα να λυοφιλοθούν. Ύστερα από σταθμική ανάλυση οι σάρκες κονιοποιούνται ήπια σε γουδί ώστε να μη σπάσουν τα γίγαρτα, τα οποία διαχωρίζονται και ύστερα κονιοποιούνται σε blender όπως επίσης και οι φλοιοί.

4.5.1.2 Απομάκρυνση Λιπιδίων από Κονιοποιημένα Γιγάρτα:

Η ύπαρξη των λιπιδίων των γιγάρτων είναι ανεπιθύμητη, καθώς το γιγαρτέλαιο μπορεί να παρεμποδίσει την εκχύλιση των φαινολικών συστατικών όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο έτσι κρίθηκε απαραίτητη η απόμακρυνση αυτών των λιπιδίων.

Ζυγίστηκαν 10 g δείγματος και μεταφέρθηκαν σε ποτήρι ζέσεως 100 mL όπου προστέθηκαν 50 mL εξανίου και μετά από μαγνητική ανάδευση για 20 min, παρέμειναν σε ηρεμία για 10 min πριν την απόχυση του εξανικού εκχυλίσματος σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη των 250 mL. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε εις τριπλούν στα 10 g δείγματος γιγάρτων. Ακολούθησε συμπύκνωση των οργανικών φάσεων μέχρι ξηρού, ζύγιση και σταθμική ανάλυση. Τέλος έγινε απομάκρυνση του εξανίου από το απολιπασμένο υλικό με διαβίβαση αζώτου.

4.5.1.3 Εκχύλιση Φαινολών από Σκόνη Φλοιών, Απολιπασμένων Γιγάρτων ή Σαρκών:

Η μέθοδος που ακολουθήθηκε για την εκχύλιση των φαινολών από τα λυοφιλωμένα μέρη της σταφυλής βασίστηκε στη χρήση λουτρού υπερήχων για ταχύτερη και αποτελεσματικότερη εκχύλιση των φαινολικών συστατικών. Χρησιμοποιήθηκε οξινισμένη μεθανόλη με 1% μυρμηγκικό οξύ, καθώς η μεθανόλη αποτελεί πολύ καλό διαλύτη των φαινολικών συστατικών (Karasakalidis, Rastall, & Gordon, 2006), η δε οξίνιση παρεμποδίζει τις οξειδώσεις των ανθοκυανών. Όσον αφορά τη χρήση μυρμηγκικού, προτιμήθηκε 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)

Ζυγίζονταν 8 g δείγματος (4 g στην περίπτωση των γιγάρτων) και διαμοιράζονταν σε δύο σωλήνες φυγοκέντρου (70 ml) ώστε σε κάθε σωλήνα να έχουν προστεθεί 40 ml μεθανολικού διαλύματος HCOOH 1% w/v (820 μl σε 100 mL MeOH) και τοποθετούνταν σε λουτρό υπερήχων για 10 min. Ακολουθούσε φυγοκέντρηση στις 10.000 rpm για 10min και γινόταν απόχυση του εκχυλίσματος σε σφαιρική φιάλη των 500 ml όπου η παραπάνω διαδικασία έγινε εις τριπλούν, οι δε, αναμεμιγμένες οργανικές φάσεις συμπυκνώθηκαν μέχρις όγκου περίπου 70 ml. Το συμπύκνωμα μεταφερόταν σε ογκομετρική φιάλη 100 ml και πληρώνόταν μέχρι τη χαραγή με διάλυμα μεθανόλης-μυρμηγκικού. Τα δείγματα φυλάσσονταν σε κατάψυξη (-18°C) μέχρι την περαιτέρω ανάλυση τους.

4.5.2 Υδρόλυση Ανθοκυανών, λοιπών Φαινολικών Γλυκοζιτών και Ταννινών:

Οίνος ή πρώιμος οίνος ή εκχύλισμα μέρους της σταφυλής 20 mL παραλαμβάνονταν σε τρίλαιμη φιάλη 100 mL όπου γινόταν προσθήκη πυκνού διαλύματος HCl-EtOH 1:1 ($C_{HCl}=6.03 M$, $C_{EtOH}=48^\circ$). Τοποθετούνταν θερμομότρο για έλεγχο της θερμοκρασίας, κάθετος ψυκτήρας με κυκλοφορία νερού για τη μείωση των απωλειών λόγω εξάτμισης και ακροφύσιο για διαβίβαση αζώτου (~4 mL/min) προς αποφυγή τυχόν οξειδώσεων. Η διάταξη αυτή τοποθετούνταν για 2h σε υδατόλουτρο ώστε το οι ατμοί εντός της φιάλης να διατηρούνται περί τους 75°C (θερμομότρο φιάλης). Μετά το πέρας της υδρόλυσης γινόταν ψύξη σε παγόλουτρο, και προσθήκη 14 mL υδατικού διαλύματος Na₂CO₃ 20 % w/v υπό μαγνητική ανάδευση για την εξουδετέρωση μέρους της ποσότητας του HCl (εύκολη διαχείριση διαλύματος). Η συγκεκριμένη ποσότητα διαλύματος Na₂CO₃ εξασφάλιζε τη διατήρηση του pH στην όξινη περιοχή, συγκεκριμένα σε τελικό pH≈3,5 τιμή που αντιστοιχεί σε τυπικό pH οίνου. Το υδρολυμένο-μερικώς εξουδετερωμένο διάλυμα αραιωνόταν σε τελικό όγκο 50 mL με αιθανόλη 96°. Τα δείγματα φυλάσσονται σε κατάψυξη (-18°C) μέχρι την περαιτέρω ανάλυση τους.

4.5.3 Καταβύθιση Ταννινών:

Η αλβουμίνη είναι μια πρωτεΐνη που, όπως αναφέρθηκε και στο 2ο κεφάλαιο, χρησιμοποιείται και στην οινοποιία για την καταβύθιση των ταννινών (Herderich and Smith, 2005). Η μέθοδος που ακολουθήθηκε βασίστηκε στην προτεινόμενη μέθοδο των (Ann E. Hagerman and Larry G. Butler, 1981, Harbertson et al., 2003). Χρησιμοποιήθηκε ρυθμιστικό διάλυμα οξικού οξέος-οξικού νατρίου 0,2 M pH=4,9 και διάφορο του ισοηλεκτρικού σημείου της (pI=4) με συγκέντρωση αλβουμίνης 33

Κεφάλαιο 4ο: Πειραματική Διαδικασία

g/l (BSA). Αναμειγνύονταν 20 mL οίνου ή εκχυλίσματος με 30 mL του αντίστοιχου διαλύματος BSA σε σωλήνα φυγοκέντρου. Μετά την παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου για 15 min ακολουθούσε φυγοκέντρωση στις 10.000 rpm για 10 min. Το υπερκείμενο υγρό παραλαμβάνονταν και φυλάσσονταν σε κατάψυξη (-18°C) μέχρι την περαιτέρω ανάλυση του.

Επισημαίνεται ότι τόσο η περιεκτικότητα του διαλύματος BSA όσο και ο χρησιμοποιούμενος όγκος του επελέγησαν συστηματικά ώστε η πρωτεΐνη να έχει τουλάχιστον το διπλάσιο βάρος σε σχέση με τις αναμενόμενες προς απομάκρυνση ταννίνες (Llobera and Canellas, 2007, Lan Ping, et al., 2011). Η παραπάνω αναλογία-συνθήκη εξασφαλίζει σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία (Llaudy et al., 2004) τη βέλτιστη απομάκρυνση των ταννινών. Ειδικά για την περίπτωση του εκχυλίσματος των γιγάρτων χρησιμοποιήθηκε διάλυμα πρωτεΐνης σε δεκαπλάσια περιεκτικότητα (30 g/L BSA) λόγω της υψηλής συγκέντρωσης του εκχυλίσματος σε ταννίνες. Επιπλέον στοιχεία της βιβλιογραφίας που αξιοποιήθηκαν για τη διαμόρφωση του τελικού πρωτόκολλου καταβύθισης των ταννινών αποτελούν η θερμοκρασία, η οποία στο εύρος 4-22°C δεν επηρεάζει τη διεργασία, όπως επίσης και η ύπαρξη μεθανόλης στα κατεργαζόμενα εκχυλίσματα, η οποία σε περιεκτικότητα χαμηλότερη του 50 % δεν παρεμποδίζει την καταβύθιση (Hagerman and Butler, 1981, Llobera & Canellas, 2007)

4.5.4 Αποθήκευση σε Τροποποιημένες Ατμόσφαιρες:

Για την αποθήκευση σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες επιλέχθηκε υλικό συσκευασίας με χαμηλή διαπερατότητα στα αέρια που χρησιμοποιήθηκαν καθώς και στο νερό όπου τοποθετήθηκαν 100 mL έτοιμου οίνου *Μαυροκουντούρας*, παραγωγής του οινοποιείου, είτε υπό κενό είτε με περίπου 100 mL του αντίστοιχου αερίου (N₂, CO₂, μείγμα 70%-30% N₂ - CO₂) με τη συσκευή MAP. Εν συνεχεία όλα τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε σκοτεινό μέρος προς αποθήκευση υπό θερμοκρασία δωματίου. Η θερμοκρασία του χώρου τους καταγραφόταν ανά 4 ώρες με θερμοστοιχείο. Δείγματα παραλαμβάνονταν ανά τακτά χρονικά διαστήματα και μέχρι να αναλυθούν πλήρως φυλάσσονταν σε κατάψυξη (-18°C).

4.5.5 Φαινολικό Περιεχόμενο:

Το φαινολικό περιεχόμενο τόσο του οίνου, όσο των εκχυλισμάτων καθώς και του υπερκείμενου υγρού της μεθόδου BSA υπολογίστηκε με τη μέθοδο Folin Ciocalteu (Waterhouse, 2001), μέθοδο ιδιαίτερος διαδεδομένη στις αναλύσεις του κρασιού. Σε δοκιμαστικό σωλήνα, σε 1,58 mL απιονισμένου νερού γινόταν προσθήκη 20 μL του δείγματος προς ανάλυση (ή 20 ml απιονισμένου νερού για το τυφλό) και 100 μL αντιδραστηρίου Folin Ciocalteu Reagent, μετά από ανάδευση και σε χρόνο μεταξύ 30 s και 8 min γινόταν προσθήκη 300 μL κορεσμένου διαλύματος ανθρακικού νατρίου* και ακολουθούσε ανάδευση και παραμονή των δοκιμαστικών σωλήνων (και το τυφλό) σε υδρόλουτρο θερμοκρασίας 40°C για 30 min. Μετά το πέρας του χρόνου αυτού γινόταν φωτομέτρηση του δείγματος έναντι του τυφλού, στα 765 nm. Η συσχέτιση τις τιμές της απορρόφησης του δείγματος έγινε με καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος σε συγκεντρώσεις 50, 100, 150, 250, 500 ppm σε απιονισμένο νερό με 12% αιθανόλη. Σε πολλές περιπτώσεις απαιτούνταν η αραίωση του δείγματος προς ανάλυση η οποία γινόταν με το διάλυμα μεθανόλης-μυρμηγκικού οξέος 1% που χρησιμοποιήσαμε και στην διαδικασία της εκχύλισης.

4.5.6 Μέθοδος Προσδιορισμού Αναγωγικών Σακχάρων (DNS):

Η παρακολούθηση των εργαστηριακών οινοποιήσεων βασίστηκε στον προσδιορισμό των μη ζυμωμένων σακχάρων με βάση τη μέθοδο DNS όπως περιγράφεται από τον Miller, G.L (1959). Για τη μέθοδο αυτή αναμίχθηκαν σε δοκιμαστικό σωλήνα 3 mL διαλύματος DNS και 3 mL δείγματος γλεύκους (από τις διεργασίες εργαστηριακής οινοποίησης) κατάλληλα αραιωμένου με απιονισμένο

* Το διάλυμα ανθρακικού νατρίου παρασκευάστηκε με προθήκη 200 g άνυδρου ανθρακικού νατρίου σε 800 ml απιονισμένου νερού. Ακολούθησε βρασμός, ψύξη σε θερμοκρασία δωματίου και προσθήκη επιπλέον κρυστάλλων ανθρακικού νατρίου. Το διάλυμα παρέμεινε για 24 ώρες σε θ.δ., μεταφέρθηκε υπό διήθηση σε απλό ηθμό σε ογκομετρική φιάλη του 1 L και η διαδικασία ολοκληρώθηκε με αραίωση μέχρι τη χαραγή της φιάλης.

νερό -3 mL απιονισμένου νερού στην περίπτωση του τυφλού-, όπου μετά την ανάδευση τους κλείνονταν με parafilm και τοποθετούνταν σε υδατόλουτρο υπό βρασμό. Παρέμεναν 5 min από τη στιγμή που ξανάρχιζε ο βρασμός του υδατόλουτρου και μετά το πέρας του χρόνου αυτού τοποθετούνταν προς ψύξη σε παγόλουτρο. Ακολουθούσε μέτρηση της απορρόφησης σε φασματοφωτόμετρο στα 540 nm έναντι του τυφλού. Η συσχέτιση τις τιμές της απορρόφησης του δείγματος με τη συγκέντρωση σακχάρων έγινε με καμπύλη αναφοράς ισομοριακού μίγματος γλυκόζης-φρουκτόζης συνολικών περιεκτικοτήτων 50, 100, 150, 250, 500 ppm σε απιονισμένο νερό.

4.5.6 Κατεργασία Εργαστηριακής Ζύμωσης:

Για τις ζυμώσεις που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο παραλάβαμε γλεύκος με στέμφυλα *Μαυροκουντούρας* μετά την 3ήμερη προζυμωτική ψυχρή εκχύλιση τα οποία παρέμειναν σε θερμοκρασία 2°C μέχρι τις 30/09/2010 οπότε και ξεκίνησε η ζύμωση. Τοποθετήθηκε το μείγμα γλεύκος-στεμφύλων σε 12 ποτήρια ζέσεως του 1L (περίπου 1000 g στο καθένα) προσπαθώντας όλα τα δείγματα να έχουν αντίστοιχο ποσοστό γλεύκος στεμφύλων με χειροκίνητη ανάδευση με κουτάλα. Ανά 4 ποτήρια ζέσεως τοποθετήθηκαν ζύμες Zymaflore και Fermol (σύμφωνα με τις αντίστοιχες οδηγίες της εταιρείας παραγωγής των ζυμών) ενώ τα υπόλοιπα 4 αφέθηκαν χωρίς προσθήκη ζύμης. Τα δείγματα διαχωρίστηκαν σε δύο θερμοκρασίες των 26°C και 22°C (6 σε κάθε περίπτωση, ανά δύο όμοια). Η θείωση τους έγινε την επόμενη ημέρα χρησιμοποιώντας σε κάθε δείγμα 0,3 mL διαλύματος metabisulfite 0,3 g/mL. Καθημερινά αναδεύονταν χειροκίνητα τα δείγματα. Η παρακολούθηση της ζύμωσης έγινε με τη μέθοδο DNS παίρνοντας δείγματα στις 2-4-6-7-8-9-10/10/2010, όπου στην τελευταία μέτρηση αποφασίστηκε και το τέλος της ζύμωσης. Έγινε ο διαχωρισμός των στεμφύλων από τον οίνο, πλέον, με τουλπάνι και σημειώθηκε ο τελικός όγκος του οίνου και οι αντίστοιχη μάζα στερεών. Τα δείγματα φυλάχθηκαν σε πλαστικά μπουκάλια τροφίμων σε κατάψυξη (-18°C) μέχρι την περαιτέρω ανάλυση τους.

4.5.7 Μέτρηση Αλκολικών Βαθμών και Πτητικής και Ολικής Οξύτητας:

Οι συγκεκριμένες μέθοδοι είναι σύμφωνα με τις συνήθειες αναλύσεις που γίνονται για το καθορισμό της ποιότητας του οίνου. Πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τις μεθόδους που αναφέρονται στον κανονισμό της ΕΟΚ 1108/82 (L 133) τροποποιημένες για τις ανάγκες τις παρούσας εργασίας.

Η μέτρηση του αλκοολικού βαθμού των δειγμάτων εργαστηριακής οινοποίησης έγινε με αλκοολόμετρο. Αφού τοποθετήθηκαν 200 mL δείγματος προς απόσταξη και συλλέχθηκαν περί τα 150 mL διαλύματος, αραιώθηκαν μέχρι τα 200 mL σε ογκομετρική φιάλη με απιονισμένο νερό. Εν συνεχεία το αραιωμένο απόσταγμα τοποθετήθηκε σε ογκομετρικό κύλινδρο των 200 mL και βυθίστηκε το αλκοολόμετρο υπό περιστροφή. Η ένδειξη του αλκοολόμετρου διορθώθηκε σύμφωνα με την θερμοκρασία του διαλύματος με τον αντίστοιχο πίνακα του αλκοολόμετρου για τους 15°C.

Η πτητική και η ολική οξύτητα προσδιορίστηκαν με τιτλοδότηση του αποστάγματος και του οίνου αντίστοιχα με καυστικό νάτριο χρησιμοποιώντας μπλε της βρομοθυμόλης για δείκτη της ολικής οξύτητας (λόγο ερυθρού χρώματος οίνου) και φαινολοφθαλεΐνη για δείκτη της πτητικής οξύτητας.

4.5.8 Χρωματομετρήσεις:

Για τον προσδιορισμό του χρώματος χρησιμοποιήθηκαν δύο τρόποι προσδιορισμού. Χρωματομετρηση με χρωματόμετρο εις διπλούν 3 mL δείγματος αραιωμένου 1/10 με νερό HPLC (σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή) αλλά και μέτρηση της απορρόφησης στο φασματοφωτόμετρο από τα 300 nm στα 800 nm για παραλαβή του φάσματος των δειγμάτων του οίνου (είτε αποθήκευσης, είτε εργαστηριακής ζύμωσης) επίσης αραιωμένο 1/10 με νερό HPLC. Οι υπολογισμοί που έγιναν ήταν όπως προτάθηκαν από τον Glories (1984).

4.5.9 Μέθοδος Ανάλυσης HPLC:

Τόσο ο οίνος όσο τα εκχυλίσματα και το υπερκείμενο υγρό της BSA αναλύθηκαν με Υγρή

Κεφάλαιο 4ο: Πειραματική Διαδικασία

χρωματογραφία (HPLC) και συγκεκριμένα με τη μέθοδο βαθμωτής έκλουσης που πρότειναν οι Mercken & Beecher (2000) για το διαχωρισμό φλαβονοειδών αγλυκονών. Με τη συγκεκριμένη μέθοδο οι ερευνητές διαχώρισαν με επιτυχία μείγμα φλαβονοειδών που περιείχε ουσίες με πολύ διαφορετικές πολικότητες και για το λόγο εφαρμόστηκε με επιτυχία και στη δική μας περίπτωση.

Το σύστημα διαλυτών αποτελούνταν από νερό (διαλύτης Α), μεθανόλη (διαλύτης Β) και ακετονντρίλιο (διαλύτης Γ), όπου ο καθένας περιείχε τριφθοροξικό οξύ (TFA) 0,2%. Η παραπάνω συγκέντρωση του TFA αποτελεί και τη μόνη τροποποίηση της μεθόδου (Τσιμογιάννης, 2008) από 0,05% των Mercker & Beecher. Ο ρόλος του τριφθοροξικού είναι αφενός η δημιουργία όξινου περιβάλλοντος (pH=1), ώστε οι φαινολικές ενώσεις (ασθενή οξέα) να βρίσκονται εξ ολοκλήρου στη μη ιοντισμένη τους μορφή αφετέρου η παραλαβή οξειών κορυφών με περιορισμένες "ουρές" στα χρωματογραφήματα. Η αρχική σύσταση της κινητής φάσης ήταν 90% Α, 6% Β και 4% Γ ενώ μεταβαλλόταν γραμμικά σε 85% Α, 9% Β και 6% Γ στα πρώτα 5 min της ανάλυσης, 71% Α, 17,4% Β και 11,6% Γ στα 30 min και τέλος 0% Α, 85% Β και 15% Γ στα 60 min. Εν συνεχεία επανερχόταν γραμμικά στην αρχική σύσταση στα 61 min και ολοκληρωνόταν η ανάλυση. Η ροή του διαλύτη έκλουσης ήταν 1 mL/min ενώ ο όγκος του εισαγόμενου δείγματος (μικροφιλτραρισμένο) ήταν 20 μL. Ως βασικά μήκη κύματος για την ανίχνευση των συστατικών επιλέχθηκαν 280, 360, 420 και 520 που ανταποκρίνονται σε χαρακτηριστικά σημεία των ζωνών απορρόφησης των μελετούμενων φλαβονοειδών (ταννίνες, ανθοκυάνες).

4.5.10 Ταυτοποίηση ουσιών με HPLC-MS:

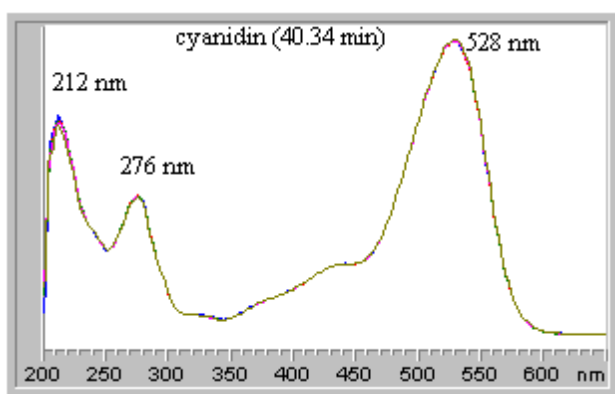
Η παραλαβή των προς μελέτη ουσιών έγινε κατά τη ανάλυση στην HPLC των διάφορων δειγμάτων όπου erendorff προσαρμόστηκαν στην έξοδο της ώστε να παραληφθούν τα προς μελέτη κλάσματα.

Η ανίχνευση των ουσιών αυτών πραγματοποιήθηκε με φασματομέτρο μάζας τύπου Παγίδας Ιόντων (Ion Trap) και η πηγή ιονισμού που χρησιμοποιήθηκε για το σύστημα LC-MS ήταν ESI (Electron Spray Ionization). Η μέθοδος LC-ESI-IT βελτιστοποιήθηκε για κάθε ουσία (ως προς τα RF Loading, Capillary Voltage και Needle Voltage). Πραγματοποιήθηκαν δοκιμές απευθείας έγχυσης (η ουσία εγχύθηκε απευθείας στην πηγή ιονισμού ESI, με έναν ρυθμό 10 μL/min) με σκοπό την επιλογή βέλτιστων παραμέτρων φασματομετρίας μάζα για την ταυτοποίηση της ουσίας. Οι επιλεγμένες ουσίες δίνουν ESI σήμα ως ιόντα $[M+H]^+$. Οι συνθήκες λειτουργίας της πηγής ιονισμού ESI στη λειτουργία θετικού ιόντος ήταν: αέριο ξήρανσης N_2 θερμοκρασία 300°C και πίεσης 15 psi, αέριο εκνέφωσης N_2 πίεσης 25 psi, θερμοκρασία θαλάμου εκνέφωσης 50°C. Η μέθοδος σάρωσης που χρησιμοποιήθηκε ήταν Full-scan MS και τα φάσματα προήλθαν από τη σάρωση μαζών από 50 έως 800m/z.

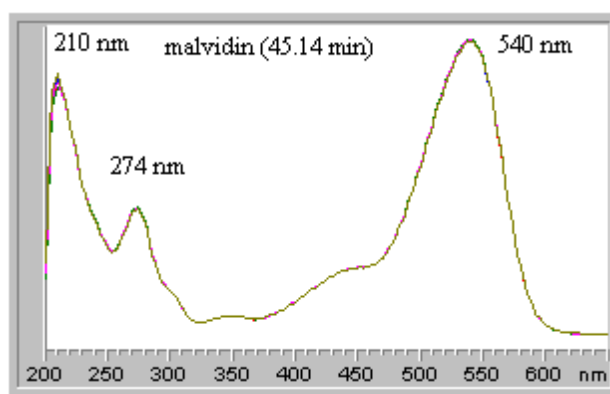
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5ο: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ**5.1 Μελέτη Πρότυπων Ανθοκυανιδινών:****5.1.1 HPLC-DAD:**

Οι ουσίες που προσδίδουν το χρώμα στον ερυθρό οίνο είναι οι ανθοκυάνες. Οι ανθοκυάνες όπως αναφέρθηκε και ανωτέρω (παρ. 3.2.1) απορροφούν χαρακτηριστικά στο ορατό φως στην περιοχή 450 -700 nm, ανάλογα το pH, η μέγιστη δε απορρόφηση τους σε τιμές pH χαμηλότερες του 4 συναντάται στην περιοχή των 520 nm (Figueiredo-Gonzalez et al., 2011), οπότε θα μελετηθούν τα χρωματογραφήματα στα 520 nm της HPLC ως προς την παρουσία των ανθοκυανών στις διάφορες περιπτώσεις των δειγμάτων.

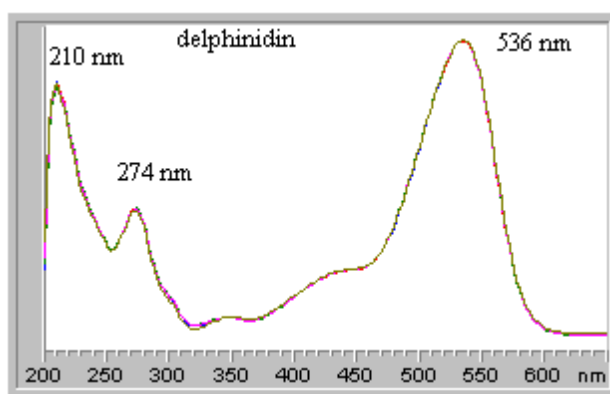
Για να διαπιστωθεί σε ποια ανθοκυανιδίνη ανήκει η κάθε κορυφή που φαινόταν στα χρωματογράφηματα στα 520 nm του υδρολυμένου οίνου πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις HPLC-DAD για πρότυπες ανθοκυανιδίνες, οπότε λήφθηκαν τόσο οι χρόνοι έκλουσης όσο και τα φάσματα των πρότυπων στο UV-Vis όπως φαίνονται στις εικόνες 5-1 έως 5-3 για να συγκριθούν με τα αντίστοιχα φάσματα των ανθοκυανιδινών των δειγμάτων.



Εικόνα 5-1: Φάσμα UV-Vis προτύπου κυανιδίνης



Εικόνα 5-2: Φάσμα UV-Vis προτύπου μαλβιδίνης



Εικόνα 5-3: Φάσμα UV-Vis προτύπου δελφινιδίνης

5.1.2 LC-MS:

Αντιστοίχως για να γίνει καλύτερη ταυτοποίηση των περιεχόμενων ανθοκυανών των δειγμάτων θεωρήθηκε απαραίτητη η περαιτέρω ανάλυσή τους με το σύστημα LC-MS. Για να γίνει η ταυτοποίηση χρησιμοποιήθηκαν λοιπόν διαλύματα πρότυπων ουσιών ανθοκυανιδινών σε μεθανόλη τα οποία αναλύθηκαν στο σύστημα LC-MS.

Στον παρακάτω πίνακα (πιν. 5-1) φαίνονται τα ιόντα που προέκυψαν και χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση στο σύστημα LC-MS των πρότυπων ανθοκυανιδινών

Κεφάλαιο 5ο: Αποτελέσματα και Συζήτηση

Πίνακας 5-1: Ιόντα Μελέτης Προτύπων Ανθοκυανιδινών στο σύστημα LC-MS

Πρότυπη Ανθοκυανιδίνη	Κύριο Ιόν (m/z)	Ιόντα Σχάσης Μητρικού	Ιόντα Ταυτοποίησης (Mr)
Κυανιδίνη	288,4	[M+H] ⁺ =288,4	288,4
			218,9
		[M] ⁺ =287,1	206
			175
		[M+H-H ₂ O] ⁺ =270,4	159
			147
Μαλβιδίνη	288	[M] ⁺ =331,2	316
		[M-CH ₃] ⁺ =316,3	
		[M-Me-CO] ⁺ =288	288
Δελφινιδίνη	115,1	[M] ⁺ =303,1	289,1
			234,9
		[M+H-H ₂ O-CO] ⁺ =257,1	175,1
			147
		[M+H-H ₂ O-2CO] ⁺ =229	131
			115,1
Πεονιδίνη	301,1		301,1
		[M] ⁺ =301,1	296
			288
			223
		[M-CH ₃] ⁺ =286,2	167
			135,1
Πετουνιδίνη	288,4	[M] ⁺ =316,4	316,4
		[M-CH ₃] ⁺ =302,1	288,4
		[M-H ₂ O] ⁺ =298,4	254,9
			217
		[M-CO ₂] ⁺ =272,3	175,1
			155,1

5.2 Σταφύλι:

5.2.1 Προκατεργασία:

Κρίθηκε απαραίτητο να διαπιστωθούν τα χαρακτηριστικά του σταφυλιού της *Μαυροκουντούρας*, τα οποία είναι ικανά για τον προσδιορισμό της συγκεκριμένης ποικιλίας, ώστε να φανεί η σχέση της *Μαυροκουντούρας* με τη *Μανδηλαριά*. Τα χαρακτηριστικά αυτά αναφέρονται στο μέγεθος της ρώγας και στην αναλογία των μερών της ρώγας του σταφυλιού ως προς τη συνολική μάζα της ρώγας, όπως επισημαίνονται στο κεφ. 1.9.2

Έτσι, λοιπόν βρέθηκε η μέση τιμή της διαμέτρου της ρώγας, η μέση μάζα της ρώγας, τα ποσοστά μαζών των μερών της ρώγας ως προς τη συνολική μάζα της ρώγας, οι μάζες επί ξηρού των μερών της ρώγας καθώς και η απόδοση της λυοφιλίωσης για την *Μαυροκουντούρα*. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 5-2.

$$\bar{d}_{\text{ρώγας}} = 13,73 \text{ mm}$$

$$\bar{m}_{\text{ρώγας}} = 1,92 \text{ g}$$

Πίνακας 5-2: Ποσοστά Μαζών των Μερών της Ρώγας ως προς τη Συνολική Μάζα της Ρώγας, Μάζες επί Ξηρού των Μερών της Ρώγας καθώς και Απόδοση Λυοφιλίωσης

Μέρη Καρπού	Αρχική μάζα (g)	Ποσοστό επί της Ρώγας (%)	Ξηρή μάζα (g)	Απόδοση Λυοφιλίωσης (%)
Φλοιοί	415,28	14%	49,59	11,94
Σάρκες	69,46	83%	33,57	48,33
Γίγαρτα	15,21	3%	15,21	100,00
Συνολικά	499,95	100,00%	98,37	0,20

Συγκρίνοντας λοιπόν τη μέση διάμετρο και τη μέση μάζα της *Μαυροκουντούρας* με αυτές της *Μανδηλαριάς*, όπως δίνονται στον Πίνακα 5-2 παρατηρείται ότι η *Μαυροκουντούρα* έχει σαφώς μικρότερες ρώγες τόσο ως προς τη διάμετρο όσο και ως προς τη μάζα, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η *Μαυροκουντούρα* έχει μεγαλύτερο ποσοστό φλοιών στο καρπό (14% στη *Μαυροκουντούρα*), από αυτό της *Μανδηλαριάς* (5% στη *Μανδηλαριάς*, κεφ. 2).

Παρατηρώντας την απόδοση της λυοφιλίωσης επιβεβαιώνεται ότι η σάρκα είναι αυτή που ουσιαστικά προσδίδει το νερό για την παραγωγή του οίνου (στο οποίο βρίσκονται διαλυμένα τα σάκχαρα) ενώ οι φλοιοί έχουν πολύ μικρό ποσοστό νερού, μηδενικό δε τα γίγαρτα.

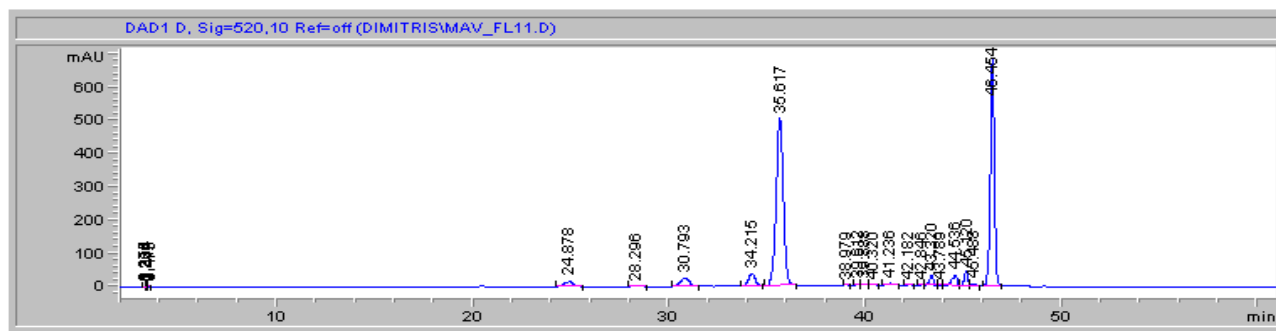
Στην απολίπανση των γιγάρτων η περιεκτικότητα των μαζών του ελαίου που παραλήφθηκε ως προς τα γίγαρτα είναι 16% w/w και σε βάση νωπού σταφυλιού 0,5% w/w, ποσότητα αρκετά υψηλή γενικά για διάφορες ποικιλίες σταφυλιών, όπως φαίνεται από τη βιβλιογραφία (Gomez et al., 1996, Rice, 1976 και Sonona et al., 1994) όπου το ποσοστό της μάζας ελαίου ως προς τα γίγαρτα είναι 8-15% w/w.

5.2.2 Αποτελέσματα Αναλύσεων:

5.2.2.1 Ταυτοποίηση Ανθοκυανών στα Διάφορα Μέρη των Ρωγών του Σταφυλιού:

A. Φλοιοί:

Οι ουσίες που προσδίδουν το χρώμα στον ερυθρό οίνο, οι ανθοκυάνες, λαμβάνονται κατά κύριο λόγο από τους φλοιούς (κεφ. 1.8.2) οι οποίοι είναι πλούσιοι σε αυτές. Έτσι λοιπόν και στην περίπτωση των φλοιών που εξετάζεται εδώ μελετάται το χρωματογράφημα στα 520 nm όπως φαίνεται στην εικόνα 5-4.



Εικόνα 5-4: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm Εκχυλισμένων Φλοιών

Παρατηρώντας την εικόνα 5-4 εύκολα διαπιστώνεται ότι είναι δύο οι κύριες κορυφές που εμφανίζει το χρωματογράφημα, αυτές με το μεγαλύτερο ύψος/εμβαδόν:

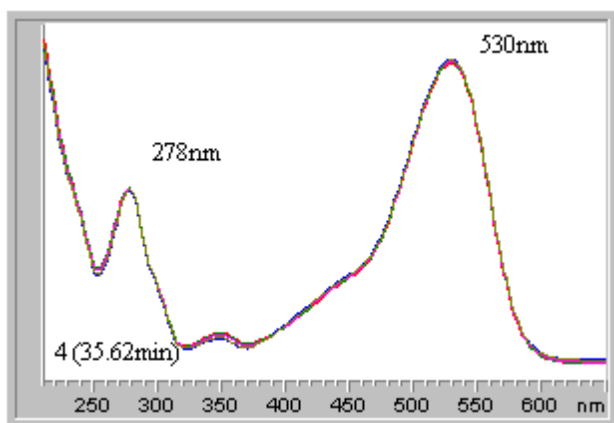
- i. στα 35,62 min, και
- ii. στα 46,47 min

Επίσης υπάρχουν πολλές κορυφές που είναι πολύ μικρότερες από τις κύριες, είναι δηλαδή σε ίχνη, οπότε λοιπόν το ενδιαφέρον θα επικεντρωθεί ακριβώς σε αυτές τις δύο κύριες κορυφές ως προς την ταυτοποίησή τους. Τα εμβαδά/ύψη των κορυφών έχουν ποσοτική σχέση με τις ουσίες στις οποίες αντιστοιχούν.

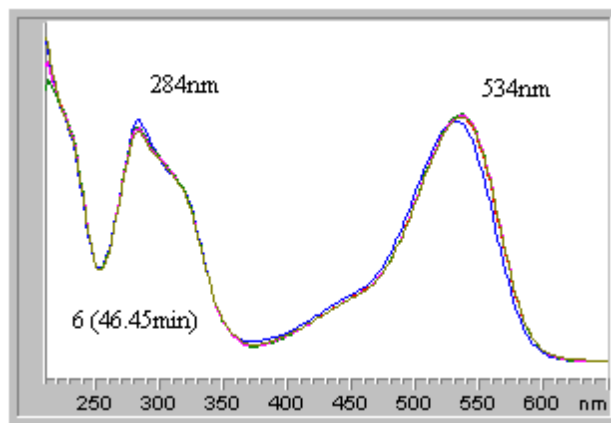
Έτσι λοιπόν για να διαπιστωθούν περισσότερα στοιχεία για τις δύο αυτές κύριες κορυφές που φυσικά αντιστοιχούν στις δύο κύριες ουσίες των φλοιών, λήφθηκαν τα φάσματα τους στο UV-Vis

Κεφάλαιο 5ο: Αποτελέσματα και Συζήτηση

όπως παρουσιάζονται παρακάτω:



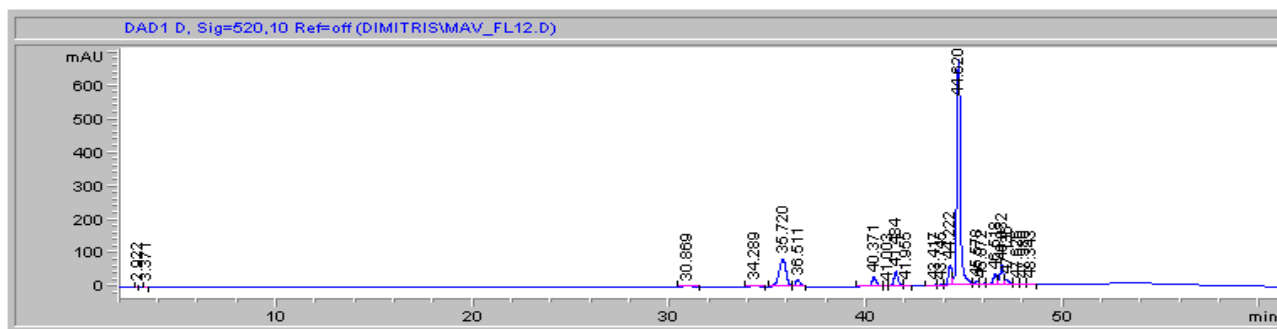
Εικόνα 5-5: Φάσμα UV-Vis της κορυφής (i)



Εικόνα 5-6: Φάσμα UV-Vis της κορυφής (ii)

Τα ανωτέρω (εικ. 5-5 και 5-6) αποτελούν τυπικά φάσματα UV-Vis ανθοκυανών (Τσιμογιάννης, 2008) και κατά πάσα πιθανότητα γλυκοζυλιωμένες ανθοκυανιδίνες, σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία (Garrido et al., 2011). Ειδικά όσον αφορά στην κορυφή (ii) συμπεραίνεται ότι ανήκει σε μορφή κάποιας γλυκοζυλιωμένης μορφής ανθοκυανιδίνης στην οποία το σάκχαρο βρίσκεται συνδεδεμένο με κουμαρικό ή καφεϊκό οξύ. Κύρια ένδειξη προς αυτό αποτελεί η μορφολογία του μέγιστου απορρόφησης στην περιοχή του υπεριώδους. Ενώ σε αγλυκόνες και απλούς γλυκοζίτες ανθοκυανιδινών, η συγκεκριμένη κορυφή (i) έχει περίπου συμμετρική μορφή (Levi et al., 2003, Preston & Timberlake, 1981, Vergara et al., 2009, Δ. Τσιμογιάννης, 2008), κουμαρυλιωμένα ή καφεοϋλιωμένα παράγωγα εμφανίζουν ασυμμετρία εξαιτίας της "πλαγιάς" που παρουσιάζεται στην περιοχή 300-320 nm. Συγκεκριμένα σύμφωνα με τα παραπάνω και για τις δύο κορυφές αντιστοίχως πρόκειται πιθανότατα για την Malvidin 3-O-glucoside (i) και την Malvidin 3-O-p-coumaroylglucoside (ii) (Ana C. Manhita et al., 2006, F. Pomar et al., 2005, M. Mónica Giusti & Ronald E. Wrolstad, 2001) όπου παρατηρούνται αντίστοιχα μέγιστα απορρόφησης.

Με αυτή τη θεωρητική προσέγγιση ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι και οι δύο ουσίες αυτές αφορούν πιθανότατα σε μορφές της μαλβιδίνης. Η παραπάνω θεωρητική υπόθεση έγινε προσπάθεια να επιβεβαιωθεί με LC-MS. Για να γίνει δυνατή η ταυτοποίηση των αντίστοιχων αγλυκονών θεωρήθηκε αναγκαία η όξινη υδρόλυση του δείγματος για παραλαβή των πρωτογενών ουσιών του. Έτσι προέκυψε το χρωματογράφημα της εικόνας 5-7 στην περιοχή του ορατού φωτός και συγκεκριμένα στα 520 nm.

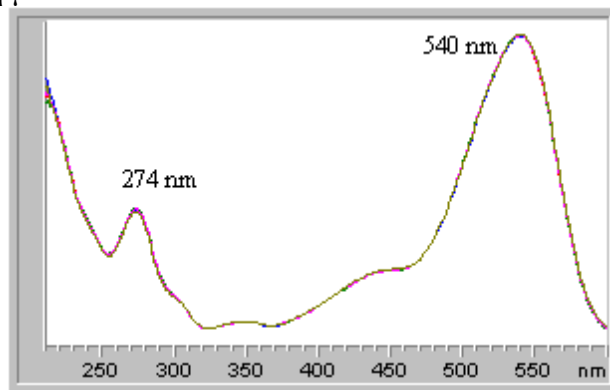


Εικόνα 5-7: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm Υδρολυμένων Φλοιών

Παρατηρείται λοιπόν ότι οι ουσίες (i) και (ii) είναι μορφές της ίδιας ανθοκυανιδίνης καθώς φαίνεται πλέον μία μόνο κύρια κορυφή (iii) από δύο που εμφανίζονταν πριν. Επίσης λαμβάνοντας υπόψη την διαφορά στην αραίωση των δύο δειγμάτων, ακατέργαστο και υδρολυμένο, είναι φανερό ότι το μέγεθος της κύριας κορυφής επίσης δικαιολογεί την ανωτέρω υπόθεση.

Κάνοντας λοιπόν τη σύγκριση του φάσματος και του χρόνου έκλυσης της κορυφής (iii) (εικ. 5-8)

με αυτά των προτύπων συμπεραίνεται ότι, όντως η κορυφή (iii) είναι η μαλβιδίνη. Απομένει όμως να επιβεβαιωθεί και με τη μέθοδο LC-MS.



Εικόνα 5-8: Φάσμα UV-Vis κορυφής (iii)

Παρόλα τα θεωρητικά στοιχεία που υπάρχουν ως προς τη φύση των ουσιών, η ταυτοποίηση με LC-MS κρίθηκε απαραίτητη για να επιβεβαιωθεί για ποιες γλυκοζυωμένες μορφές της μαλβιδίνης πρόκειται (5.1.2) (Araceli Castañeda-Ovando et al., 2007) και δη όπως αναφέρθηκαν παραπάνω. Έτσι απομονώθηκαν οι αντίστοιχες ουσίες αξιοποιώντας το σύστημα HPLC-DAD του Εργαστηρίου για να μελετηθούν με LC-MS. Το φάσμα LC-MS της κορυφής (iii) που παραλήφθηκε από το υδρολυμένο εκχύλισμα φλοιών ταυτίζεται με τη μαλβιδίνη.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, λοιπόν, διαπιστώθηκε ότι η μαλβιδίνη είναι η κύρια ανθοκυανιδίνη που περιέχουν οι φλοιοί της *Μαυροκουντούρας* και αξίζει να σημειωθεί ότι η μαλβιδίνη είναι η αντιπροσωπευτική ανθοκυανιδίνη γενικώς των *V. Vinifera* ποικιλιών σταφυλιού (Castillo-Muñoz et al., 2009).

Τώρα όσον αφορά στην κορυφή (i) καθώς αναμένεται ότι είναι ένας απλός γλυκοζίτης της μαλβιδίνης, θα έχει πιθανό $M_r=493$. Η ανάλυση στο MS έδωσε ιόν 493,1, το οποίο δίνει και ιόν 331,3 που αντιστοιχεί στη μαλβιδίνη. Αναλύοντας περαιτέρω με MS-MS το ιόν 331,3 ταυτίζεται με τη μαλβιδίνη. Άρα η κορυφή (i) αντιστοιχεί σε κάποιο γλυκοζίτη της μαλβιδίνης και σύμφωνα με τα παραπάνω βιβλιογραφικά δεδομένα πιθανότατα με τον Malvidin 3-O-glucoside.

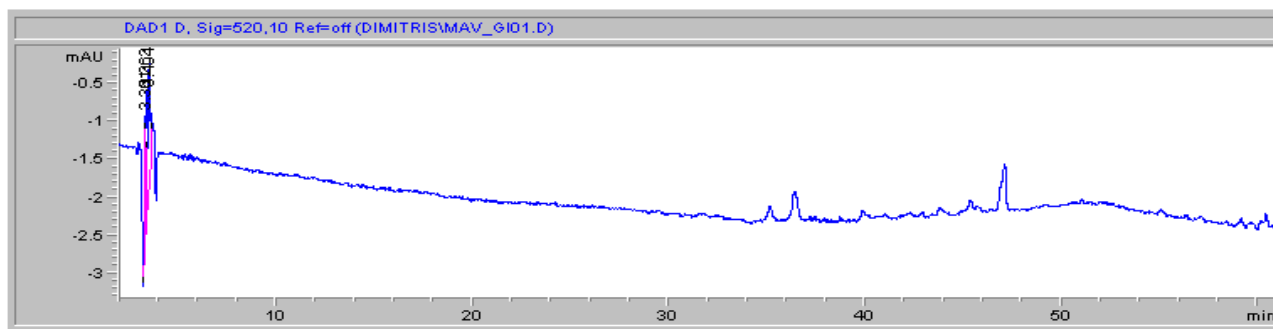
Αντίστοιχα λοιπόν για την κορυφή (ii) καθώς αναμένεται να είναι κουμαρλιωμένος γλυκοζίτης της μαλβιδίνης θα πρέπει να έχει $M_r=639$. Βασικό ιόν της ανάλυσης MS της απομονωμένης ουσίας (κορυφή (ii)) είναι το $m/z=639,2$. Με περαιτέρω ανάλυση με MS-MS στα 639,2 προκύπτει το ιόν 331 που αντιστοιχεί στη μαλβιδίνη. Έτσι και σύμφωνα με τα παραπάνω και τα βιβλιογραφικά δεδομένα η κορυφή (ii) αντιστοιχεί στο Malvidin 3-O-p-coumaroylglucoside.

Να σημειωθεί εδώ ότι οι συγκεκριμένοι γλυκοζίτες της μαλβιδίνης είναι αυτοί που εμφανίζονται συνηθέστερα στους φλοιούς των σταφυλιών (Castillo-Muñoz et al, 2009, Ortega-Regules et al, 2006, Río Segade et al, 2009, M. Figueiredo-González et al, 2011).

B. ΓΙΓΑΡΤΑ:

Τα γίγαρτα παρόλο που είναι πλούσια σε ταννίνες, ποσοστό των οποίων εκχυλίζεται στον οίνο, δεν ισχύει το ίδιο και για την περιεκτικότητά τους σε ανθοκυάνες, των οποίων η ποσότητα σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα πρέπει να είναι μηδενική (Jorge Garrido & Fernanda Borges, 2011). Για να επιβεβαιωθεί, και για την *Μαυροκουντούρα* που μελετάται, τη βιβλιογραφική αυτή πληροφορία, αναλύθηκε δείγμα γιγάρτων με την HPLC και παραλήφθηκε το χρωματογράφημα στα 520 nm της εικόνας 5-9.

Κεφάλαιο 5ο: Αποτελέσματα και Συζήτηση



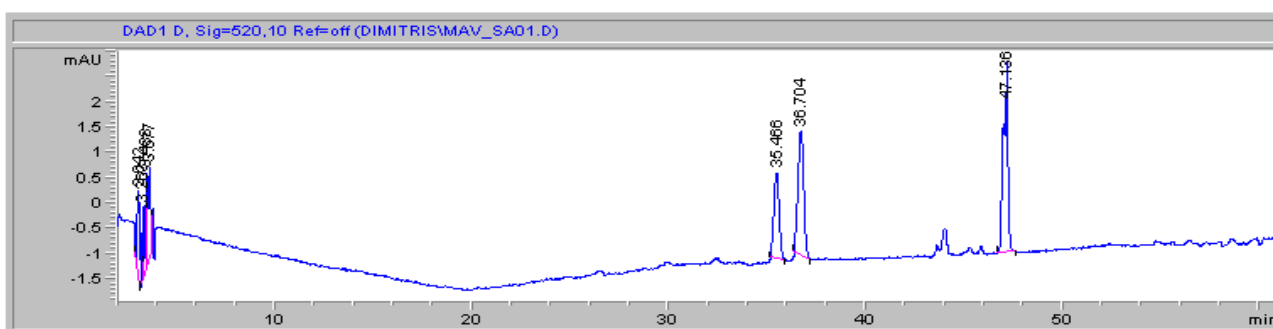
Εικόνα 5-9: Χρωματογράφημα HPLC στα 520nm Εκχυλισμένων Γιγάρτων

Εύκολα λοιπόν με το χρωματογράφημα HPLC στο ορατό διαπιστώνεται ότι τα γίγαρτα έχουν μηδενικό περιεχόμενο σε ανθοκυάνες πράγμα αναμενόμενο και από το γεγονός της έλλειψης χρώματος του εκχυλίσματος των γιγάρτων.

Γ. ΣΑΡΚΕΣ:

Ενώ οι σάρκες του σταφυλιού είναι εκείνες που δίδουν την πρώτη ύλη για τη ζύμωση -τα σάκχαρα-, είναι τελείως φτωχές σε φαινολικά συστατικά και ως εκ τούτου και σε ανθοκυάνες (κεφ. 1.8.1, Jorge Garrido, Fernanda Borges, 2011). Αυτό διαπιστώθηκε και πρακτικά για την *Μαυροκουντούρα* με ανάλυση δείγματος σαρκών με HPLC λαμβάνοντας το χρωματογράφημα της Εικόνας 5-10 που αφορά στην περιοχή του ορατού φωτός, πράγμα αναμενόμενο και από το γεγονός της σχεδόν μηδενικής ύπαρξης χρώματος του εκχυλίσματος των σαρκών.

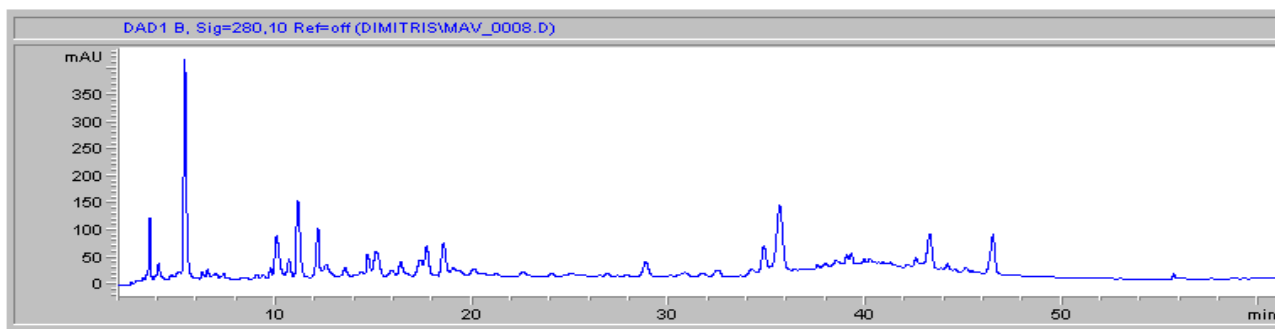
Κάποιες μικρές κορυφές (ίχνη) που εμφανίζονται -λαμβάνοντας υπόψη την κλίμακα- μπορεί να οφείλονται σε ανθοκυάνες των φλοιών που εισχώρησαν στον όγκο της σάρκας κατά τη διάρκεια του διαχωρισμού τους από αυτούς.



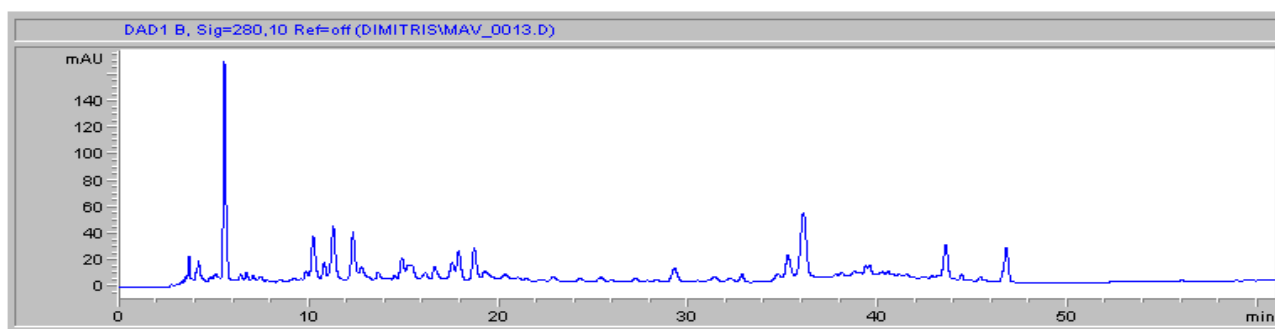
Εικόνα 5-10: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm Εκχυλισμένων Σαρκών

5.2.2.2 Προσδιορισμός της Φύσης των Μονομερών στις Ταννίνες των Σταφυλιών:

Όπως αναφέρθηκε στο 2ο κεφάλαιο σύμφωνα με την ανασκόπηση των Herderich and Smith (2005), οι ταννίνες δημιουργούν σύμπλοκα με τις πρωτεΐνες που μπορούν να καταβυθιστούν. Η αλβουμίνη είναι αυτή που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία για να απομονώσουμε τις ταννίνες από τα δείγματα μας. Έτσι το υπερκείμενο υγρό της μεθόδου που χρησιμοποιήσαμε (BSA, κεφ 4.5.3) δεν περιείχε ταννίνες. Αυτό μπορεί να διαπιστωθεί μελετώντας τα χρωματογραφήματα στο υπεριώδες και δη στα 280 nm του υπερκείμενου υγρού των δειγμάτων μετά την εφαρμογή της μεθόδου (π.χ. εικ. 5-11 και 5-12). Έτσι γίνεται μια πρώτη εκτίμηση όσον αφορά στην ύπαρξη των ταννινών στα δείγματα.

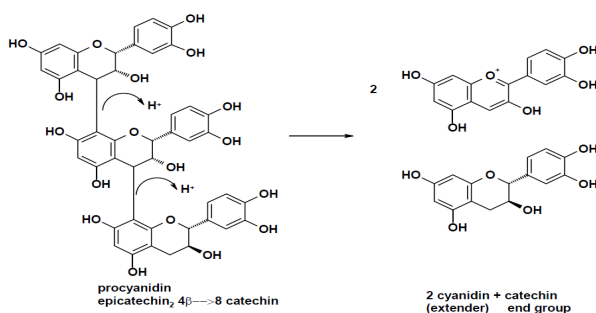


Εικόνα 5-11: Χρωματογράφημα HPLC στα 280 nm Οίνου *Μαυροκουντούρας*



Εικόνα 5-12: Χρωματογράφημα HPLC στα 280 nm, μετά την καταβύθιση ταννινών, Οίνου *Μαυροκουντούρας*

Επίσης όπως έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία (κεφ. 3.1.2.2) οι ταννίνες είναι ουσιαστικά πολύπλοκα πολυμερή των επικατεχινών. Για να διαπιστωθεί λοιπόν η φύση των ταννινών, που έχουν τα δείγματα, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της όξινης υδρόλυσης η οποία στην περίπτωση των ταννινών διασπά οξειδωτικά τους δεσμούς των μονομερών (Hagerman, Tannin Chemistry, 2002). Συνεπώς η υδρόλυση μιας πολυμερούς προκυανιδίνης (μονομερές: επικατεχίνη) δίνει μικρές ποσότητες επικατεχίνης και κατά κύριο λόγο κυανιδίνη. Οι ανθοκυανιδίνες, λοιπόν, που παράγονται αποτελούν απόδειξη των μονομερών κατεχινών που συγκροτούν την ταννίνη. Χαρακτηριστικό παράδειγμα των προϊόντων της όξινης υδρόλυσης στις ταννίνες παρουσιάζεται στο Σχήμα 5-1 που ακολουθεί:

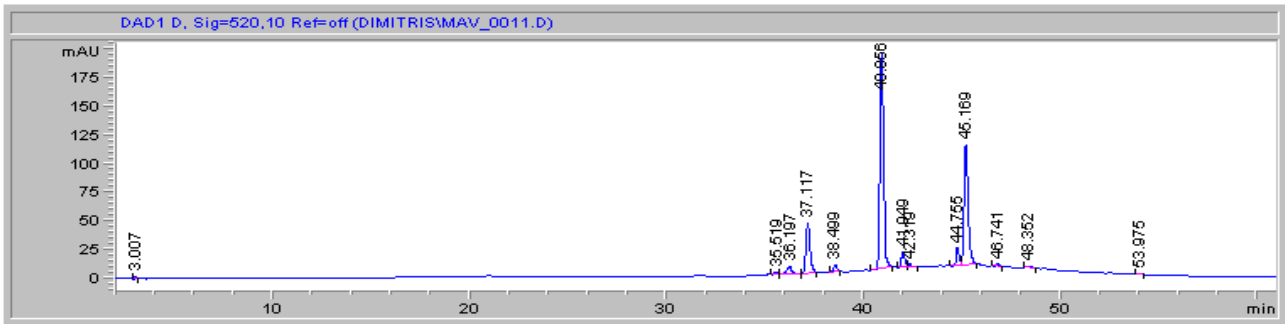


Σχήμα 5-1: Χαρακτηριστικό Παράδειγμα Προϊόντων Όξινης Υδρόλυσης

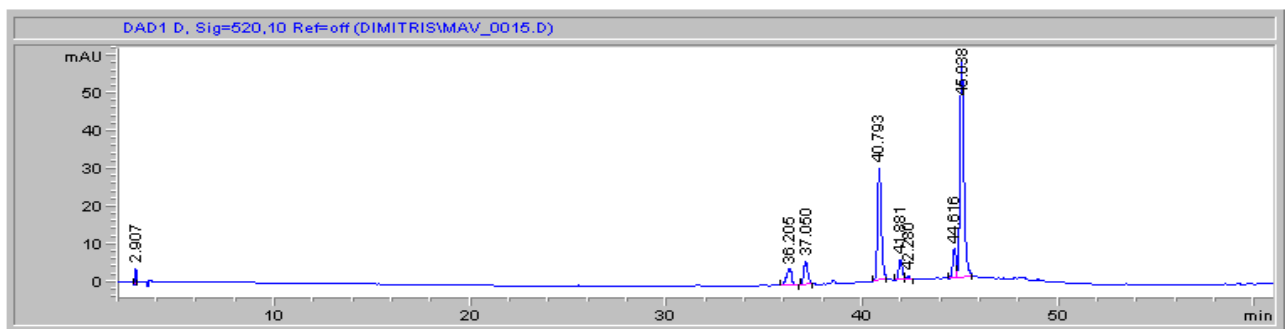
Συνεπώς με την ανάλυση των όξινα υδρολυμένων δειγμάτων με HPLC στο ορατό φως (520 nm) όπως έγινε και στο 5.1.2.1 προσδιορίζονται τόσο οι ανθοκυανιδίνες που βρίσκονταν στο εκχύλισμα (προ υδρόλυσης) με μορφή γλυκοζίτη όσο και οι ανθοκυανιδίνες – «δείκτες μονομερών κατεχινών» που οφείλονται στις ταννίνες. Άρα με το χρωματογράφημα στα 520 nm έχουμε συγκεντρωτικά στοιχεία για τις ανθοκυανιδίνες που προκύπτουν τόσο από τις ανθοκυανίνες όσο και από τις ταννίνες. Για αυτό το λόγο, λοιπόν, παραλαμβάνεται επιπλέον το υπερκείμενο υγρό της μεθόδου BSA προς όξινη υδρόλυση, έτσι ώστε το υδρολυμένο δείγμα που λαμβάνεται να αποτελείται μόνο από τις ανθοκυανιδίνες των ανθοκυανινών που προϋπήρχαν στο αρχικό δείγμα. Συγκρίνοντας λοιπόν τα χρωματογραφήματα της HPLC στα 520 nm (απορρόφηση ανθοκυανιδινών) του

Κεφάλαιο 5ο: Αποτελέσματα και Συζήτηση

υδρολυμένου αρχικού δείγματος με αυτό του υδρολυμένου μη ταννικού δείγματος (υπερκείμενο υγρό BSA), έμμεσα (αφαίρεση) δίνονται στοιχεία για το ποιες είναι οι κατεχίνες που συνιστούν τις ταννίνες του αρχικού δείγματος. Παρακάτω (εικ. 5-13 και 5-14) φαίνονται τα χαρακτηριστικά χρωματογραφήματα οίνου *Μαυροκουντούρας* συγκριτικά στα 520 nm υδρολυμένου αρχικού δείγματος οίνου και μη ταννικού υδρολυμένου δείγματος οίνου.



Εικόνα 5-13: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm Υδρολυμένου Οίνου *Μαυροκουντούρας*

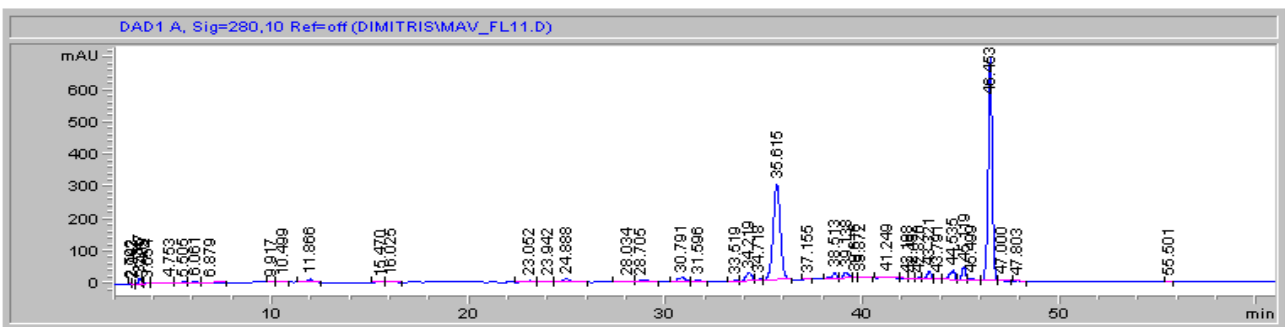


Εικόνα 5-14: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm, μετά την καταβύθιση ταννινών, Υδρολυμένου Οίνου *Μαυροκουντούρας*

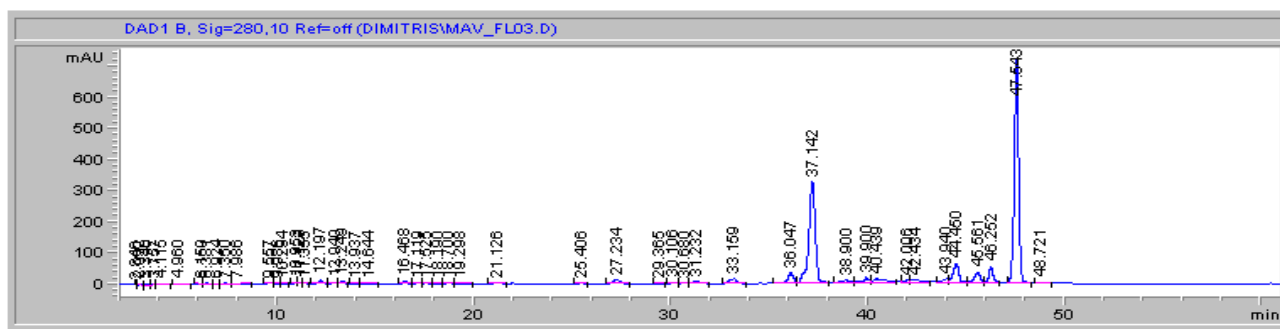
Σύμφωνα λοιπόν με τα παραπάνω και ειδικότερα για κάθε μέρος της ρώγας του σταφυλιού είναι:

A. ΦΛΟΙΟΙ

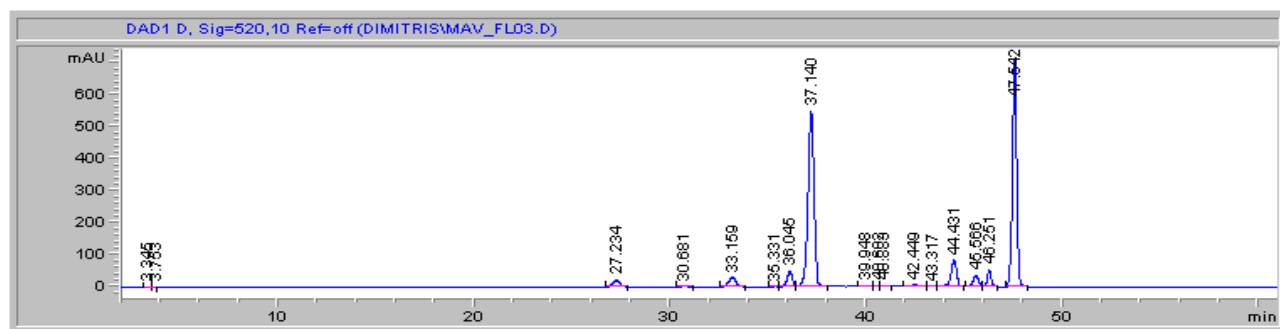
Για τον προσδιορισμό των ταννινών χρησιμοποιούνται τα χρωματογραφήματα στα 280 nm γιατί όπως φαίνεται από τη βιβλιογραφία (Laghi et al., 2009, Kennedy et al., 2000, Prieur et al., 1994, Rigaud et al., 1991, Cosme, 2008) κοντά σε αυτό το μήκος κύματος έχουν τη μέγιστη απορρόφησή τους. Στους φλοιούς γενικά όπως αναφέρθηκε (κεφ. 1) δεν περιέχονται ταννίνες, κάτι που μπορεί να επιβεβαιωθεί και πειραματικά από το χρωματογράφημα τους στα 280 nm (εικ. 5-15) για την *Μαυροκουντούρα*. Ακόμα και εκτελώντας την καταβύθιση ταννινών με την BSA και αναλύοντας το υπερκείμενο υγρό, δεν παρατηρείται καμία μεταβολή τόσο φυσικά στο χρωματογράφημα στα 280 nm (εικ. 5-16) όσο και σε αυτό των 520 nm (εικ. 5-17) σε σχέση με το αρχικό δείγμα (εικ. 5-15 και 5-4 αντίστοιχα). Αυτό σημαίνει ότι δεν υπήρχαν ταννίνες να καταβυθιστούν, οπότε και το δείγμα παρέμεινε ουσιαστικά αμετάβλητο μετά την BSA.



Εικόνα 5-15: Χρωματογράφημα HPLC στα 280 nm Εκχυλισμένων Φλοιών



Εικόνα 5-16: Χρωματογράφημα HPLC στα 280 nm μετά BSA, Φλοιών



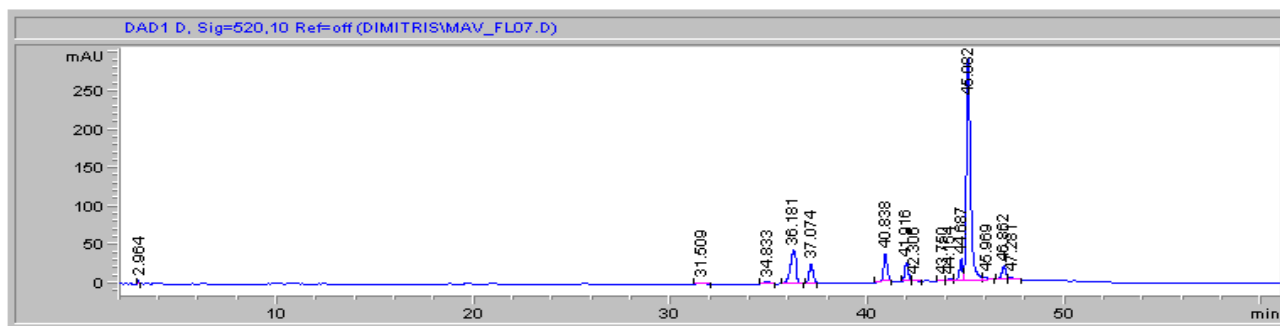
Εικόνα 5-17: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm μετά BSA, Φλοιών (βλ. εικ. 5-4 για σύγκριση)

Προκύπτει από τον Πίνακα 5-3 ότι με την BSA δεν συμπαράσφρονται και ανθοκυάνες μαζί με τις ταννίνες, καθώς φαίνεται να μη μεταβάλλεται ουσιαστικά το εμβαδόν των κορυφών που παρουσιάζονται πριν και μετά την εφαρμογή της μεθόδου BSA στους φλοιούς.

Πίνακας 5-3: Σύγκριση Ανθοκυανών στα Εκχυλίσματα Φλοιών, Ακατέργαστων και μετά BSA

	Ποσοστό Ανθοκυανών %
Εκχύλισμα Φλοιών	100
Εκχύλισμα Φλοιών, μετά BSA	98

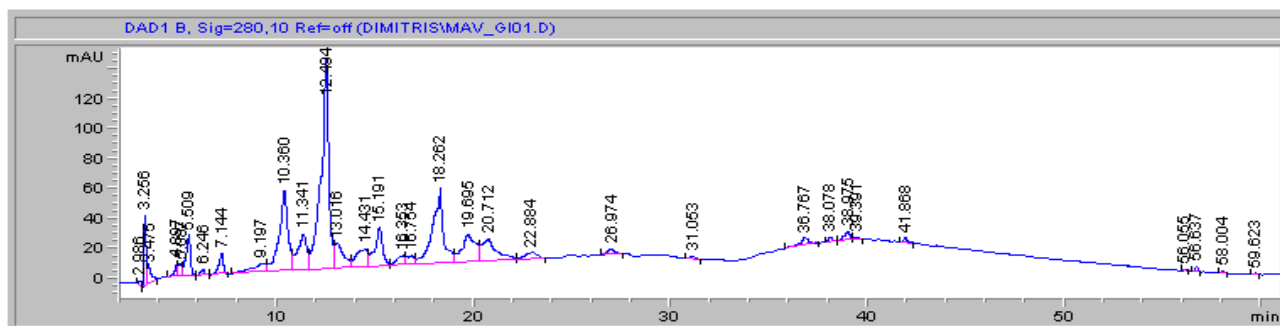
Όλα αυτά, επιβεβαιώνουν ότι τα συμπεράσματα ως προς την υδρόλυση των ανθοκυανών στο 5.1.2.1 είναι ασφαλή, ότι δηλαδή η κορυφή που εμφανίζεται στο χρωματογράφημα των 520 nm των φλοιών είναι παράγωγο μόνο ανθοκυανών. Το ίδιο μπορεί να επιβεβαιωθεί και μελετώντας τα χρωματογραφήματα στα 520 nm του υδρολυμένου αρχικού δείγματος φλοιών (εικ. 5-4) και του υδρολυμένου υπερκείμενου υγρού της BSA των φλοιών (εικ. 5-18) όπου παρατηρείται ότι υπάρχει και στα δύο μόνο μία κορυφή στον ίδιο χρόνο και σχεδόν με το ίδιο εμβαδόν.



Εικόνα 5-18: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm μετά BSA, Υδρολυμένων Φλοιών

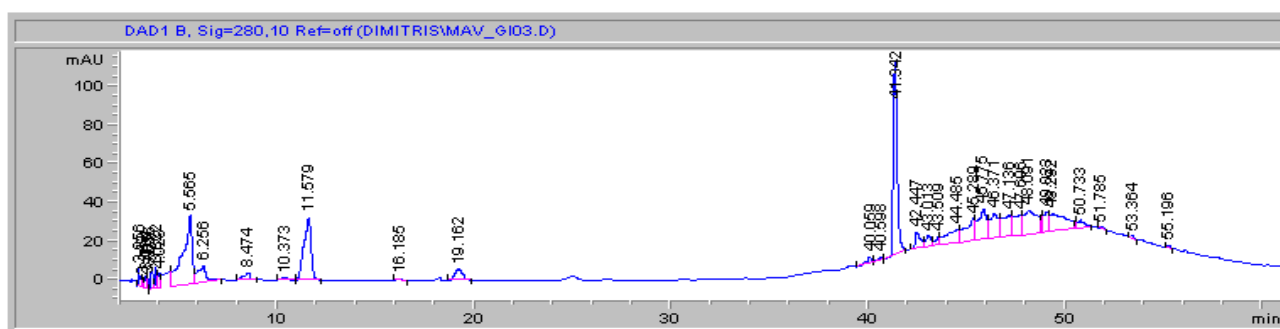
Β. ΓΙΓΑΡΤΑ

Τα γίγαρτα είναι όπως έχει αναφερθεί (κεφ. 3.1.2.2, James A. Kennedy, 2008) πολύ πλούσια σε ταννίνες και είναι αυτά τα οποία προσδίδουν τις ταννίνες τους στον οίνο. Αυτό επιβεβαιώθηκε και από το χρωματογράφημα στα 280 nm για τα γίγαρτα της *Μαυροκουντούρας* (εικ.5-19). Το συγκεκριμένο χρωματογράφημα είναι ιδιαίτερος πολύπλοκο με πολλές σημαντικές κορυφές που δείχνουν την ποικιλία και την ποσότητα των περιεχόμενων ταννινών.

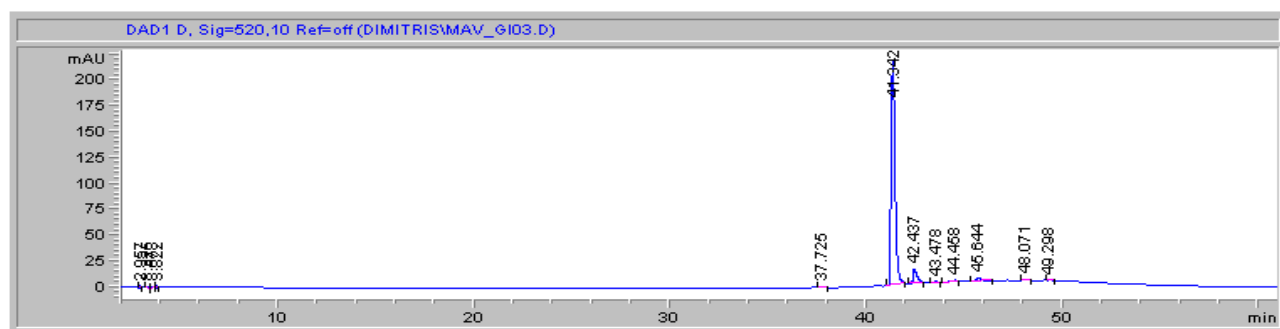


Εικόνα 5-19: Χρωματογράφημα HPLC στα 280 nm Εκχυλισμένων Γιγάρτων *Μαυροκουντούρας*

Υδρολύοντας το δείγμα των γιγάρτων είναι δυνατό να βρεθεί ποια είναι τελικά η πρώτη ύλη των ταννινών και κατά προέκταση η φύση τους. Έτσι παραλήφθηκε μετά την υδρόλυσή τους το χρωματογράφημα στα 280 nm και στα 520 nm όπως φαίνεται στις εικόνες 5-20 και 5-21 αντιστοίχως.



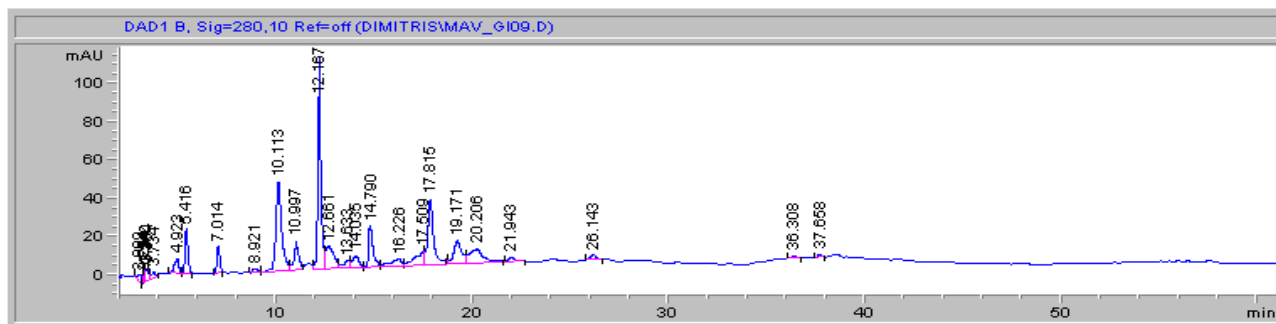
Εικόνα 5-20: Χρωματογράφημα HPLC στα 280 nm Υδρoλυμένων Γιγάρτων



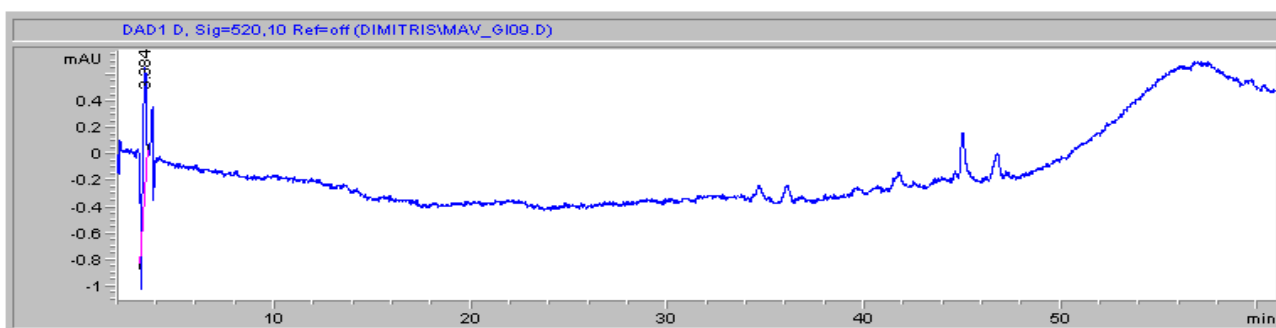
Εικόνα 5-21: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm Υδρoλυμένων Γιγάρτων

Φαίνεται (εικ. 5-20) ότι πλέον οι περισσότερες κορυφές στα 280 nm αν δεν έχουν εξαφανιστεί, έχουν μειωθεί σημαντικά. Αντίστοιχα στο χρωματογράφημα των 520 nm (εικ. 5-21) παρατηρείται ότι πλέον εμφανίζεται μια κύρια κορυφή στα 41,34 min (iv), η οποία αφού βρίσκεται στο ορατό είναι φανερό ότι ανήκει σε κάποια ανθοκυανιδίνη για την οποία θα γίνει προσπάθεια ταυτοποίησης. Επίσης υπάρχει επιπλέον και μία μικρότερη, αλλά σημαντική, κορυφή στα 42,44 min (v) που επίσης βρίσκεται στο ορατό και φυσικά αφορά σε κάποια ανθοκυανιδίνη που θα ταυτοποιηθεί. Μετά από την καταβύθιση των ταννινών με BSA και μελετώντας τα αντίστοιχα

χρωματογραφήματα στα 280 nm (εικ. 5-22) και 520 nm (εικ. 5-23) αντιστοίχως, παρατηρείται στα 280 nm η εξαφάνιση ή η μείωση του εμβαδού των κορυφών που συσχετίζεται με την απόδοση της BSA, ενώ παραμένει η σχεδόν μηδενική τιμή του χρωματογραφήματος για τα 520 nm όπως αναμενόταν καθώς η BSA δεν απορροφάει στα 520 nm όπως φάνηκε μετά από δοκιμαστικό πείραμα.



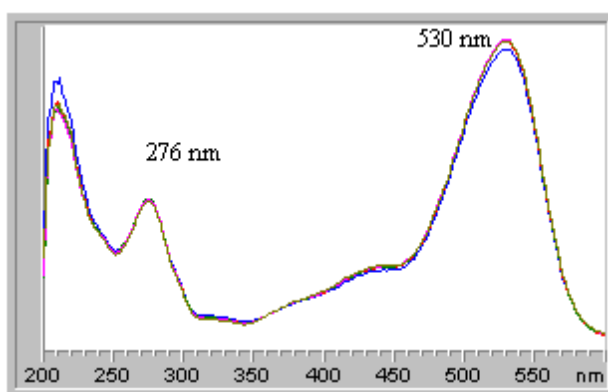
Εικόνα 5-22: Χρωματογράφημα HPLC στα 280 nm, μετά BSA, Γιγάρτων



Εικόνα 5-23: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm, μετά BSA, Γιγάρτων

Λόγω της έλλειψης ανθοκυανών στο δείγμα των γιγάρτων δεν κρίνεται απαραίτητη η υδρόλυση του υπερκειμένου υγρού της BSA.

Τώρα όσον αφορά στην ταυτοποίηση της κορυφής στα 41,34 min (iv) λαμβάνεται καταρχάς το φάσμα της στο UV-Vis όπως φαίνεται στην εικόνα 5-24 και συγκρίνοντάς το με τα φάσματα των προτύπων ανθοκυανιδινών διαπιστώνεται ότι αφορά στην κυανιδίνη (εικ. 5-1), γεγονός αναμενόμενο καθώς οι ταννίνες είναι πολυμερή επικατεχινών οπότε η ανθοκυανιδίνη- «δείκτης μονομερών κατεχινών» είναι η κυανιδίνη. Πραγματοποιώντας και ανάλυση με LC-MS για την συγκεκριμένη κορυφή επιβεβαιώνεται ότι είναι η κυανιδίνη.



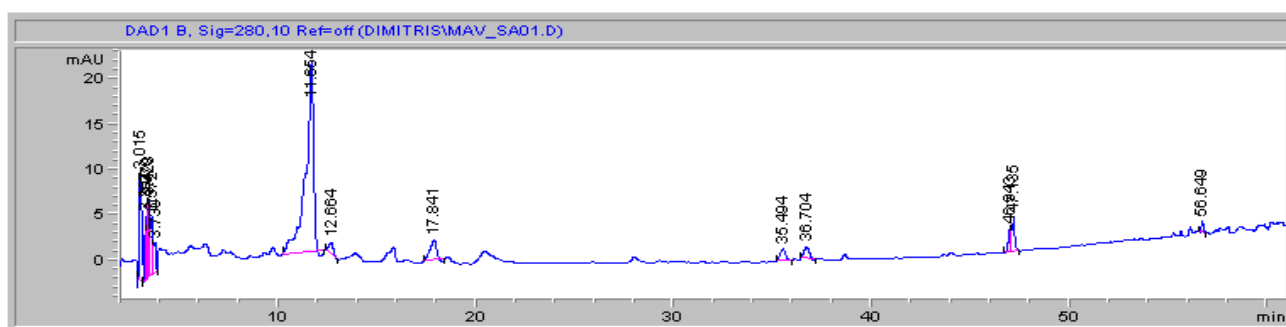
Εικόνα 5-24: Φάσμα UV-Vis κορυφής (iv)

Κεφάλαιο 5ο: Αποτελέσματα και Συζήτηση

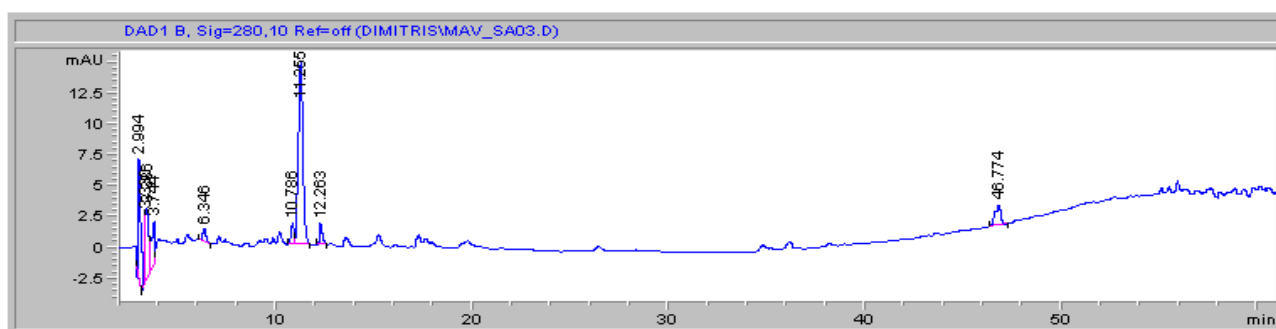
Έτσι λοιπόν, σύμφωνα με όλα τα παραπάνω, διαπιστώνεται ότι οι ταννίνες που περιέχονται στα γίγαρτα της *Μαυροκουντούρας*, αποτελούνται ουσιαστικά κυρίως από μονομερή κατεχίνης. Αυτό προκύπτει λόγω της ύπαρξης της κυανιδίνης στα υδρολυμένα δείγματα των γιγάρτων. Η ύπαρξη της συγκεκριμένης ανθοκυανιδίνης και συνεπώς των μονομερών κατεχίνης φαίνεται να εμφανίζεται και σε άλλες ποικιλίες που ανήκουν στο *V. Vinifera* (F.Cosme et al., 2008, Luca Laghi et al., 2009).

Γ. ΣΑΡΚΕΣ

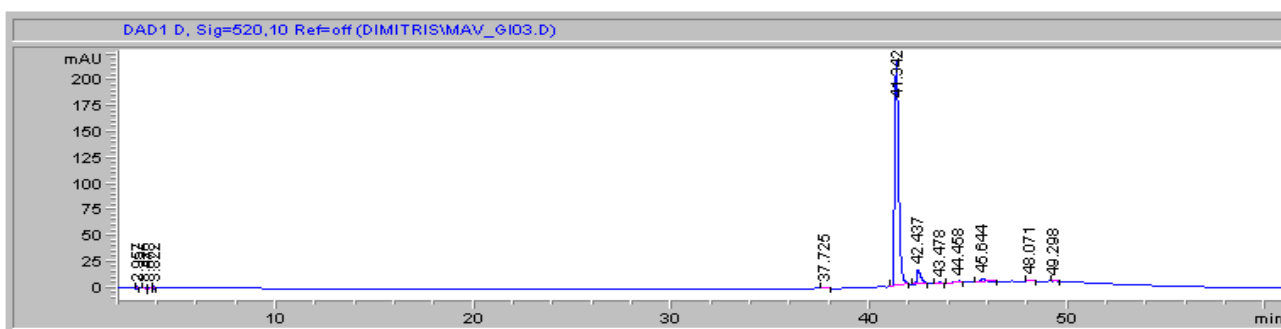
Στη σάρκα γενικά όπως αναφέρθηκε (παρ. 1.8.2) δεν περιέχονται ταννίνες, κάτι που μπορεί να επιβεβαιωθεί και πειραματικά από το χρωματογράφημά της στα 280 nm (εικ. 5-25) για την *Μαυροκουντούρα*. Ακόμα και εκτελώντας την καταβύθιση ταννινών με την BSA και αναλύοντας το υπερκείμενο υγρό, δεν παρατηρείται καμία μεταβολή τόσο στο χρωματογράφημα στα 280 nm (εικ. 5-26) όσο και σε αυτό των 520 nm (εικ. 5-27), το οποίο σημαίνει ότι δεν υπήρχαν ταννίνες να καταβυθιστούν, οπότε και το δείγμα παρέμεινε ουσιαστικά αμετάβλητο μετά την BSA. Επιβεβαιώθηκε, λοιπόν, το γεγονός ότι η σάρκα είναι εξαιρετικά φτωχή σε φαινολικά συστατικά.



Εικόνα 5-25: Χρωματογράφημα HPLC στα 280 nm Εκχυλισμένων Σαρκών



Εικόνα 5-26: Χρωματογράφημα HPLC στα 280 nm, μετά BSA, Σαρκών

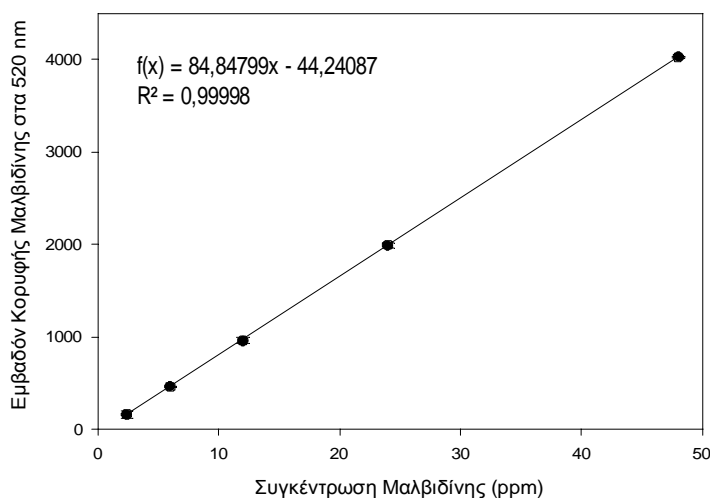


Εικόνα 5-27: Χρωματογράφημα HPLC στα 520 nm, μετά BSA, Σαρκών

5.2.2.3 Ποσοτικοποιήσεις Φαινολικών Συστατικών στα Μέρη της Ρώγας του Σταφυλιού:

Μετά την επιβεβαίωση (παρ. 5.1.2.2) ότι η κύρια ανθοκυανιδίνη στους φλοιούς είναι η μαλβιδίνη θεωρήθηκε χρήσιμο να δημιουργηθεί μία καμπύλη αναφοράς απόκρισης στην HPLC του προτύπου

της μαλβιδίνης συναρτήσει της συγκέντρωσής της, για τον υπολογισμό της περιεκτικότητας των φλοιών σε μαλβιδίνη. Έτσι μετά από διαδοχικές αραιώσεις της πρότυπης μαλβιδίνης σε MeOH - μυρμηγκικό οξύ 1% προκύπτει η καμπύλη αναφοράς του διαγράμματος 1.

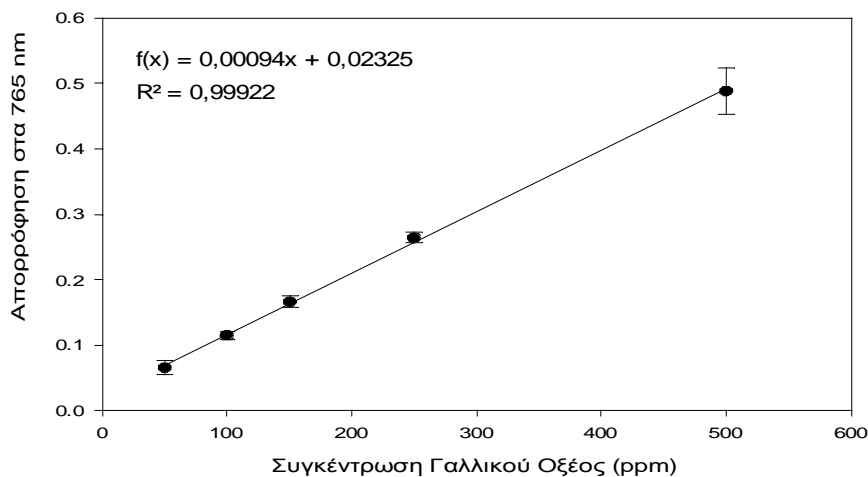


Διάγραμμα 5-1: Καμπύλη Αναφοράς Μαλβιδίνης (HPLC)

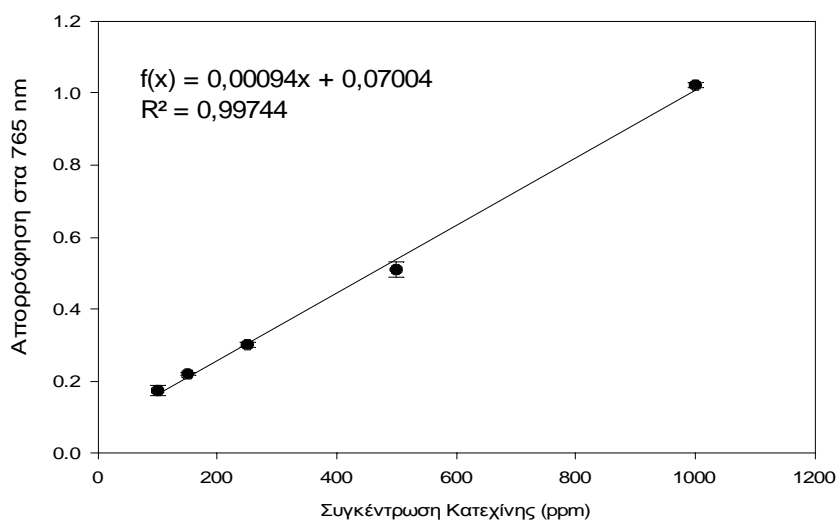
Σύμφωνα με την καμπύλη αναφοράς της μαλβιδίνης είναι πλέον εφικτό να γίνουν ποσοτικοποιήσεις στα υδρολυμένα δείγματα ως προς αυτή την ίδια, ή ως προς τις υπόλοιπες ανθοκυανιδίνες ανηγμένες ως προς αυτή. Συγκεκριμένα λοιπόν στους φλοιούς έχουμε $406,3 \pm 8$ ppm μαλβιδίνης και 760 ± 40 ppm συνολικών ανθοκυανών ανηγμένες σε μαλβιδίνη.

Η μέθοδος της Folin-Ciocalteu όπως περιγράφεται στο 4.5.5 (Waterhouse, 2001) είναι αυτή που χρησιμοποιήθηκε για να προσδιοριστεί συνολικά το φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων ανηγμένο είτε σε γαλλικό οξύ, είτε σε κατεχίνη. Η καμπύλη αναφοράς απορρόφησης στο φωτόμετρο ως προς τη συγκέντρωση γαλλικού οξέος φαίνεται στο διάγραμμα 5-2 και ως προς τη συγκέντρωση κατεχίνης στο 5-3.

Παρατηρώντας τις δύο πρότυπες καμπύλες, του γαλλικού οξέος και της κατεχίνης, διαπιστώνεται ότι οι σχέσεις που τις εκφράζουν είναι σχεδόν ίδιες. Οπότε όπου φαίνεται η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών εκφρασμένη σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος ισούται αντίστοιχα και με ισοδύναμα κατεχίνης.



Διάγραμμα 5-2: Καμπύλη Αναφοράς Γαλλικού Οξέος (Folin - Ciocalteu)



Διάγραμμα 5-3: Καμπύλη Αναφοράς Κατεχίνης (Folin-Ciocalteu)

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών στα αρχικά δείγματα των μερών της ρώγας του σταφυλιού ήταν ιδιαίτερος χρήσιμη για την ποσοτικοποίηση επίσης των ανθοκυανών και έμμεσα και των ταννινών ξεχωριστά, μετρώντας το υπερκείμενο υγρό της BSA (Kallithraka et al., 2011, Gina Lee, 2011). Να σημειωθεί εδώ ότι μετά από δοκιμές με δείγμα αναφοράς, η αλβουμίνη δεν είχε απόκριση στο φωτόμετρο με τη μέθοδο της Folin-Ciocalteu, οπότε τα πρωτεϊνικά υπολείμματα στο διάλυμα δεν προκαλούν παρεμποδίσεις ή ψευδή αποτελέσματα στη μέθοδο. Είναι επίσης ένας τρόπος επιβεβαίωσης των προηγούμενων αναλύσεων με την HPLC που αφορά στην ύπαρξη ή μη ανθοκυανών ή ταννινών στα μέρη της ρώγας του σταφυλιού.

Είναι δυνατό επίσης με τη μέθοδο αυτή να προσδιορίσουμε αντίστοιχα το φαινολικό περιεχόμενο στα υδρολυμένα δείγματα (ακατέργαστα ή υπερκείμενο BSA). Έτσι λοιπόν προκύπτει ο ακόλουθος Πίνακας 5-4.

Πίνακας 5-4: Φαινολικά συστατικά των μερών της ρώγας του σταφυλιού εκφρασμένα σε Γαλλικό Οξύ σύμφωνα με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

	Ολικές Φαινόλες (ppm)	Μη ταννικές φαινόλες (ppm)	Τανίνες (ppm)
Φλοιοί	1686±129	1665±115	21±14
Γίγαρτα	4969±398	1193±483	3775±85
Σάρκες	140±18	108±34	31±16
Σταφύλι (συνολικά)	6795	2967	3829

Παρατηρώντας τον πίνακα 5-4 προκύπτει ότι:

- ◆ Οι φλοιοί φαίνεται ότι έχουν πολύ υψηλό φαινολικό περιεχόμενο, το οποίο οφείλεται σχεδόν εξολοκλήρου σε μη ταννικές φαινόλες.
- ◆ Οι σάρκες έχουν σχεδόν μηδενικό φαινολικό περιεχόμενο. Κάποια ποσότητα ανθοκυανών που φαίνεται να περιέχουν πιθανότητα έχει εισχωρήσει κατά το διαχωρισμό τους από τους φλοιούς.
- ◆ Τα γίγαρτα έχουν το υψηλότερο συνολικό φαινολικό περιεχόμενο, το οποίο οφείλεται κατά το μεγαλύτερο ποσοστό του στις ταννίνες. Η ποσότητα των μη ταννικών συστατικών εδώ μάλλον οφείλεται σε άλλα φαινολικά εκτός των ανθοκυανών.

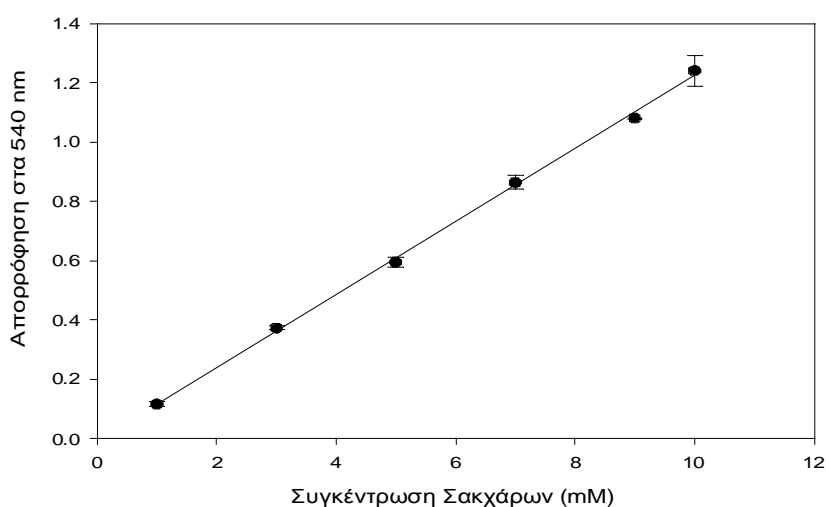
Τα παραπάνω δεδομένα που προέκυψαν με τη μέθοδο της Folin-Ciocalteu επιβεβαιώνουν τα στοιχεία που δόθηκαν με τη μέθοδο της HPLC που αφορά στην ύπαρξη του είδους των φαινολικών

(ανθοκυανών, ταννινών) στους φλοιούς και στις σάρκες. Επίσης επιβεβαίωσε την εξαιρετικά μεγάλη περιεκτικότητα σε ταννίνες για τα γίγαρτα.

5.3 Μελέτη της Επίδρασης Συνθηκών Οινοποίησης στα Ποιοτικά Χαρακτηριστικά του Παραγόμενου Οίνου *Μαυροκουντούρας*:

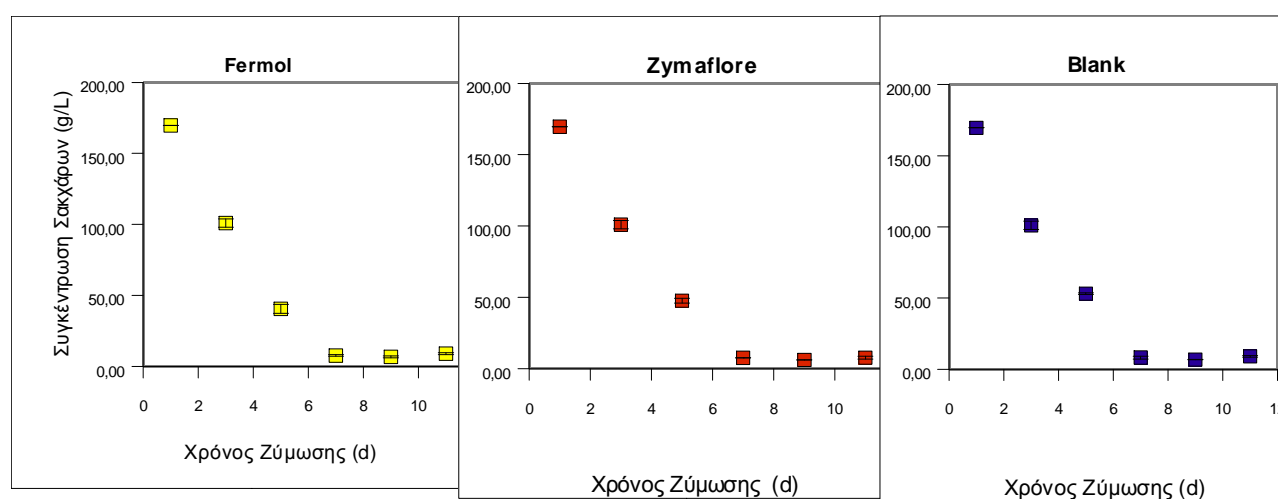
Θέλοντας να διαπιστωθεί το πως επηρεάζουν οι συνθήκες οινοποίησης το τελικό προϊόν (οίνο), πραγματοποιήθηκε σε εργαστηριακή κλίμακα οινοποίηση σε διαφορετικές συνθήκες. Το τέλος της εργαστηριακής ζύμωσης του οίνου για κάθε δείγμα, επιλέχθηκε βάσει της πορεία μεταβολής των αναγωγικών σακχάρων από την αρχική σταφυλόμαζα. Όταν παρατηρήθηκε μια σταθερότητα της συγκέντρωσης των αναγωγικών σακχάρων στα δείγματα (πλατό), αυτή κρίθηκε να είναι η στιγμή της ολοκλήρωσης της ζύμωσης των δειγμάτων.

Η μελέτη της συγκέντρωσης των σακχάρων έγινε με τη μέθοδο DNS σύμφωνα με την καμπύλη αναφοράς του διαγράμματος 5-4.



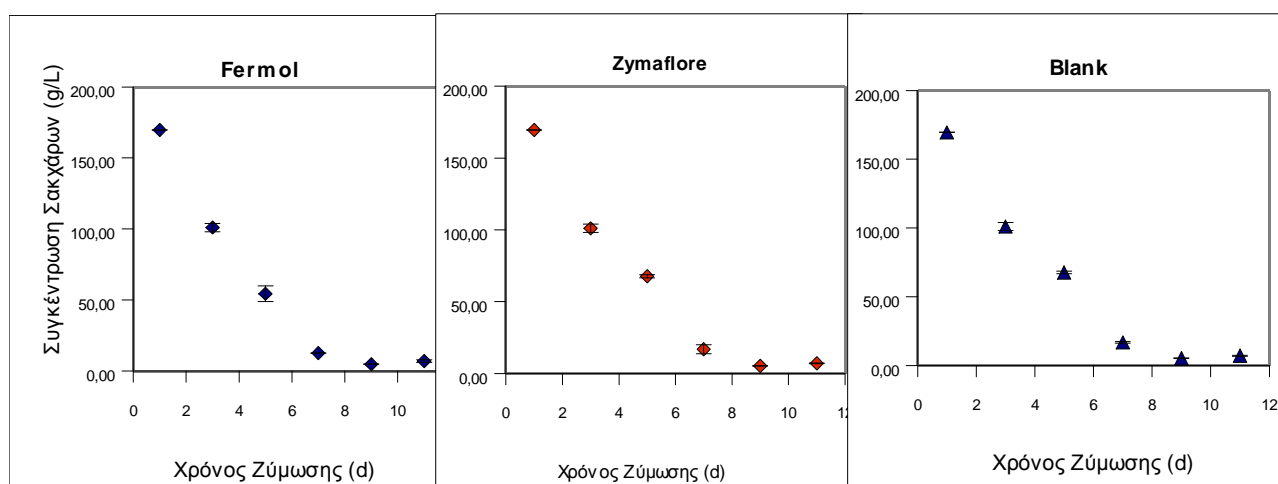
Διάγραμμα 5-4: Καμπύλη Αναφοράς Αναγωγικών Σακχάρων (DNS)

Παρακάτω φαίνονται τα διαγράμματα της πορείας της συγκέντρωσης των σακχάρων σε σχέση με το χρόνο (διαγρ. 5-5) στους 26°C και στους 22°C (διαγρ. 5-6):



Διαγράμματα 5-5: Πορεία Μεταβολής Σακχάρων στους 26°C

Κεφάλαιο 5ο: Αποτελέσματα και Συζήτηση



Διαγράμματα 5-6: Πορεία Μεταβολής Σακχάρων στους 22°C

Παρατηρώντας τα παραπάνω διαγράμματα (5-5 και 5-6) διαπιστώνεται καταρχάς ότι το είδος του μικροοργανισμού δεν επηρεάζει ιδιαίτερος την πορεία των σακχάρων κατά τη ζύμωση. Επίσης διαπιστώνεται ότι η ζύμωση (κατανάλωση των σακχάρων από τους μικροοργανισμούς) ήταν ελαφρώς ταχύτερη στην υψηλότερη θερμοκρασία ζύμωσης των 26°C από αυτήν των 22°C όπως αναμενόταν από τη βιβλιογραφία (Tronchoni *et al.*, 2009). Βέβαια ταχύτερη ζύμωση σε υψηλότερη θερμοκρασία δε σημαίνει και βέλτιστο οίνο, καθώς σε χαμηλότερες θερμοκρασίες μπορεί να έχει ο οίνος και καλύτερο, για παράδειγμα, αρωματικό χαρακτήρα (Killian and Ough, 1979, Kunkee, 1984).

Με σκοπό να μελετηθεί το πώς επηρεάζουν το τελικό προϊόν (οίνο) η θερμοκρασία, καθώς και το είδος του μικροοργανισμού κατά τη διεργασία της ζύμωσης επιλέχθηκαν να μελετηθούν κάποια ποιοτικά χαρακτηριστικά, αυτού του τελικού προϊόντος (οίνου) στις διάφορες περιπτώσεις. Αυτά είναι:

- ◆ οι αλκοολικοί βαθμοί
- ◆ η πτητική οξύτητα, και
- ◆ το χρώμα

Ακόμα κρίθηκε σκόπιμο να μελετηθούν και τα φαινορικά συστατικά στις διάφορες περιπτώσεις ζύμωσης και το πώς αυτά προκύπτουν από την πρώτη ύλη, που είναι τα σταφύλια. Μεγαλύτερη σημασία θα δοθεί στις διαφορές μεταξύ των ανθοκυανιδινών.

5.3.1 Μελέτη Ποιοτικών χαρακτηριστικών:

Όπως αναφέρθηκε και στην παρ.1.9.3 η *Μανδηλαριά* γενικά δίνει οίνους με χαμηλούς αλκοολικούς βαθμούς και μέτρια οξύτητα, έτσι αναμένεται και η *Μαυροκουντούρα* έστω και σε διαφορετικές συνθήκες οινοποίησης να δίνει οίνους με μικρή σχετικά περιεκτικότητα σε αιθανόλη και με χαμηλή πτητική οξύτητα. Στον Πίνακα 5-5 φαίνονται οι αλκοολικοί βαθμοί και η πτητική οξύτητα ανάλογα με τη θερμοκρασία και το είδος της ζύμης που χρησιμοποιήθηκε.

Πίνακας 5-5: Αλκοολικοί Βαθμοί και Πτητική Οξύτητα *Μαυροκουντούρας* σε Διαφορετικές Συνθήκες Ζύμωσης

26oC					
Fermol		Zymaflore		Blank	
Αλκοολικοί Βαθμοί	8,9±0,0	Αλκοολικοί Βαθμοί	9,2±0,8	Αλκοολικοί Βαθμοί	9,8±0,1
Πτητική Οξύτητα (g οξικού/L)	0,26±0,02	Πτητική Οξύτητα (g οξικού/L)	0,23±0,02	Πτητική Οξύτητα (g οξικού/L)	0,18±0,0
22oC					
Fermol		Zymaflore		Blank	
Αλκοολικοί Βαθμοί	10,2±0,3	Αλκοολικοί Βαθμοί	10,2±0,0	Αλκοολικοί Βαθμοί	10,2±0,3
Πτητική Οξύτητα (g οξικού/L)	0,17±0,02	Πτητική Οξύτητα (g οξικού/L)	0,14±0,02	Πτητική Οξύτητα (g οξικού/L)	0,15±0,0

Παρατηρώντας των πίνακα 5-5 διαπιστώνεται ότι η θερμοκρασία των 22°C δίνει οίνο, σε κάθε περίπτωση ζύμης, με υψηλότερη περιεκτικότητα σε αιθανόλη (μεγαλύτεροι αλκοολικοί βαθμοί) και με χαμηλότερη πτητική οξύτητα από τη θερμοκρασία των 26°C. Ακόμα στους 22°C δεν παρατηρείται διαφοροποίηση ως προς τους αλκοολικούς βαθμούς μεταξύ των ζυμών σε αντίθεση με τους 26°C, όπου παρατηρείται το δείγμα χωρίς παρουσία κάποιας επιπλέον ζύμης, να δίνει τους περισσότερους αλκοολικούς βαθμούς. Η χαμηλότερη πτητική οξύτητα στους 22°C δίνεται από το δείγμα με τη ζύμη Zymaflore ή χωρίς παρουσία ζύμης, ενώ στους 26°C από το δείγμα χωρίς παρουσία ζύμης. Όλα αυτά οδηγούν στο συμπέρασμα ότι ο βέλτιστος οίνος δίνεται στη θερμοκρασία των 22°C από τη ζύμη Zymaflore ή χωρίς πρόσθετη ζύμη, καθώς σε αυτή την περίπτωση δίνεται οίνος με υψηλότερους αλκοολικούς βαθμούς και χαμηλότερη πτητική οξύτητα, παράγοντες γενικά που προσφέρουν στην ποιότητα του οίνου.

Παρόλα τα παραπάνω πραγματοποιώντας ANOVA ήταν φανερό ότι η διαφορά των μέσων τιμών των αλκοολικών βαθμών και της πτητικής οξύτητας μεταξύ των διαφόρων επιπέδων της θερμοκρασίας και των ζυμών δεν ήταν αρκετά μεγάλη για να αποκλείσει το ενδεχόμενο ότι η διαφορά αυτή οφείλεται στην τυχαία μεταβλητότητα των δειγμάτων. Δεν υπάρχει λοιπόν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων (P=0,349).

Γενικά το χρώμα του οίνου είναι ένα σημαντικό χαρακτηριστικό ποιότητάς του καθώς σχετίζεται τόσο με την "τέρψη του οφθαλμού" αλλά ακόμα περισσότερο, όπως έχει αναφερθεί (παρ. 3.1.3), με την παρουσία των ανθοκυανών σε αυτόν, η *Μανδηλαριά* δε, φημίζεται για τους οίνους για το βαθύ έντονο χρώμα που δίνει (κεφ 1.9). Έτσι είναι εύκολα κατανοητό γιατί επιλέχθηκε η μελέτη του χρώματος του παραγόμενου οίνου ανάλογα με τη θερμοκρασία και το είδος της ζύμης που χρησιμοποιήθηκε κατά την παραγωγή του. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης φαίνονται στον Πίνακα 5-6 με χρήση φασματοφωτομέτρου (Glories) και στον Πίνακα 5-7 με χρήση χρωματομέτρου Minolta.

Πίνακας 5-6: Χρώμα Οίνου *Μαυροκουντούρας* υπό Διαφορετικές Συνθήκες Οινοποίησης (Glories)

26oC			
	Fermol	Zymaflore	Blank
dA%	44,248±0,094	43,455±0,626	38,069±6,505
CI	0,46±0,01	0,44±0,05	0,58±0,15
Yellow:A420(%)	41,323±0,022	41,157±0,050	39,790±1,089
Red:A520(%)	47,280±0,042	46,929±0,276	44,746±2,601
Blue:A620(%)	11,397±0,020	11,914±0,225	15,465±3,690
22oC			
	Fermol	Zymaflore	Blank
dA%	39,112±8,741	44,198±8,570	45,637±1,180
CI	0,60±0,14	0,42±0,04	0,47±0,06
Yellow:A420(%)	39,095±1,761	41,917±1,876	40,361±0,328
Red:A520(%)	45,231±3,566	47,414±3,841	47,913±0,542
Blue:A620(%)	15,674±5,327	10,669±1,965	11,726±0,870

Πίνακας 5-7: Χρώμα Οίνου *Μαυροκουντούρας* υπό Διαφορετικές Συνθήκες Οινοποίησης (Minolta)

26oC			
	Fermol	Zymaflore	Blank
E (Ολικό Χρώμα)	58,671±0,617	58,017±0,483	56,244±0,787
C (Χρώμα)	7,836±0,162	7,650±0,472	7,909±0,132
22oC			
	Fermol	Zymaflore	Blank
E (Ολικό Χρώμα)	58,167±0,493	57,299±0,376	58,325±1,541
C (Χρώμα)	8,412±0,315	7,539±0,445	8,307±0,188

Όσον αφορά στον πίνακα 5-6 παρατηρείται όλα τα δείγματα (έχουν παρόμοιο χρώμα (CI)=Color Intensity) στους 22°C, ενώ στους 26°C πιο έντονο χρώμα έχει το δείγμα με τη ζύμη Fermol. Παρόλα αυτά το δείγμα Blank φαίνεται να υστερεί τόσο ως προς το dA% (ποσοστό συνεισφοράς

Κεφάλαιο 5ο: Αποτελέσματα και Συζήτηση

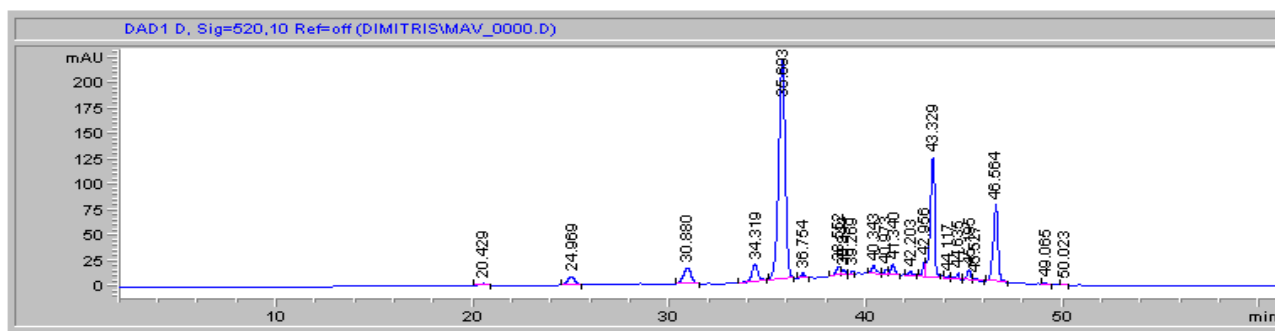
του κόκκινου χρώματος) όσο και ως προς το πόσο κόκκινα είναι τελικά τα δείγματα (Red:A520%) στους 26°C, ενώ στους 22°C υστερεί αντίστοιχα το δείγμα Fermol. Τα δείγματα με τη ζύμη Zymaflore φαίνεται να έχουν μια σχετική σταθερότητα ως προς τα μεγέθη χρώματος σε σχέση με τη θερμοκρασία αν και στους 22°C βαθμούς είναι ελαφρώς βελτιωμένα, Επίσης τα δείγματα Zymaflore υστερούν γενικά ως προς το πόσο έντονο είναι το χρώμα τους (CI).

Αντίστοιχα αποτελέσματα λαμβάνονται με το χρωματομέτρο Minolta (πιν. 5-7) όπου παρατηρείται ότι στους 26°C ότι το δείγμα Blank έχει το μέγιστο χρώμα C με το ελάχιστο ολικό χρώμα E, ενώ στους 22°C το δείγμα Fermol αντίστοιχα έχει το μέγιστο χρώμα C με το ελάχιστο ολικό χρώμα E. Το δείγμα Zymaflore διατηρεί σχεδόν σταθερό το χρώμα C ενώ είναι αυξημένο το ολικό χρώμα E για τους 26 °C.

Παρόλα τα παραπάνω και πραγματοποιώντας ANOVA ήταν φανερό ότι η διαφορά των μέσων τιμών των παραμέτρων του χρώματος μεταξύ των διαφόρων επιπέδων της θερμοκρασίας και των ζυμών δεν ήταν αρκετά μεγάλη για να αποκλείσει το ενδεχόμενο ότι η διαφορά αυτή οφείλεται στην τυχαία μεταβλητότητα των δειγμάτων. Δεν υπάρχει λοιπόν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων ($P=0,499$).

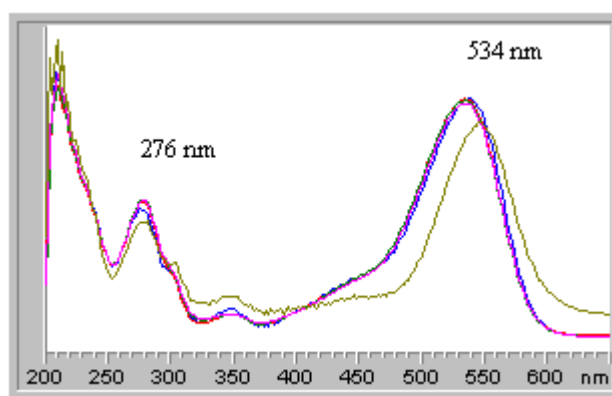
5.3.2 Μελέτη Φαινολικών Συστατικών:

Τα χαρακτηριστικά χρωματογραφήματα γενικά του οίνου *Μαυροκουντούρας* φαίνονται στις εικόνες 5-11 έως 5-14 και 5-28. Το ίδιο μοντέλο χρωματογραφημάτων αντιστοιχεί για κάθε συνθήκη ζύμωσης, και αυτό που μεταβάλλεται είναι τα εμβαδά των διάφορων κορυφών.



Εικόνα 5-28: Χρωματογράφημα στα 520 nm, Ακατέργαστου Οίνου *Μαυροκουντούρας*

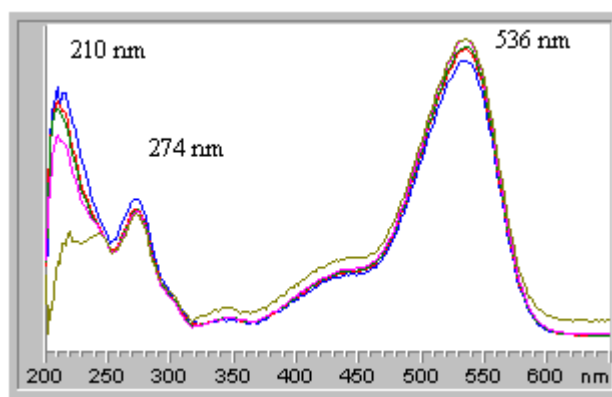
Παρατηρώντας το χρωματογράφημα (εικ. 5-29) φαίνεται ότι στον οίνο εμφανίζεται μια νέα κορυφή που δεν προϋπήρχε στο σταφύλι (κεφ.5.2), αυτή στα 43,33 min (v). Αυτό εύκολα δημιουργεί την ασφαλή υπόθεση ότι η δημιουργία μιας νέας κορυφής, και άρα νέας ανθοκυάνης, προκύπτει ως αποτέλεσμα της ζύμωσης. Το φάσμα της συγκεκριμένης κορυφής φαίνεται στην εικόνα 5-29.



Εικόνα 5-29: Φάσμα UV-Vis Κορυφής (v)

Ακόμα πραγματοποιώντας υδρόλυση του οίνου αυτού και παρατηρώντας το χρωματογράφημα του στα 520 nm (εικ. 5-13) παρατηρείται ότι υπάρχουν 3 κύριες κορυφές. Δηλαδή παραλαμβάνεται

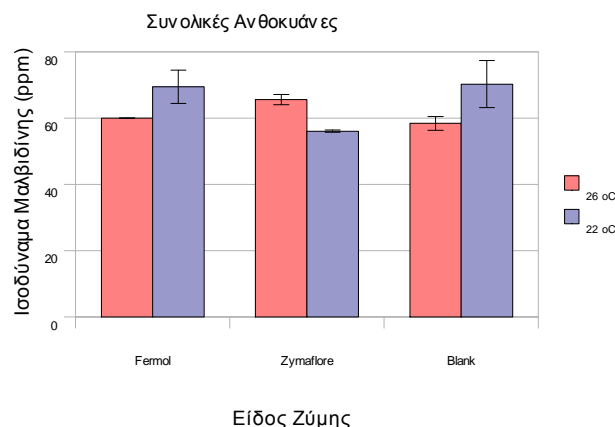
ακόμα μία πρόσθετη κορυφή πέραν της μαλβιδίνης και της κυανιδίνης, που υπήρχαν στον καρπό, κάτι που εύκολα οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η κορυφή (ν) αντιστοιχεί σε μία άλλη τρίτη ανθοκυανιδίνη. Το φάσμα της υδρολυμένης κορυφής (ν) φαίνεται στην εικόνα 5-30.



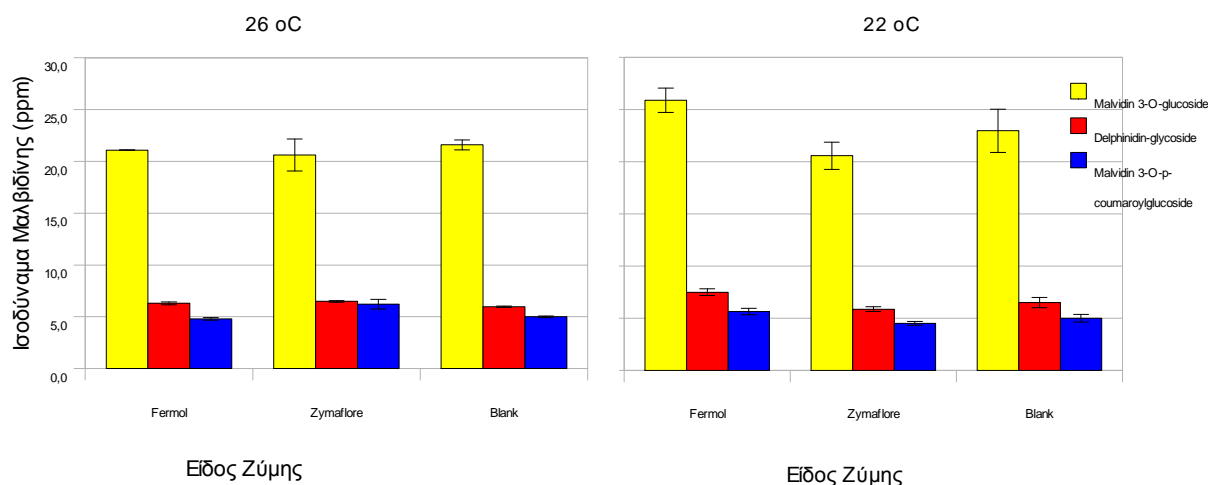
Εικόνα 5-30: Φάσμα UV-Vis Υδρολυμένης Κορυφής (ν)

Συγκρίνοντας το συγκεκριμένο φάσμα UV-Vis της κορυφής (ν) (εικ. 5-31) και σύμφωνα με όσα έχουν αναφερθεί στο κεφάλαιο 5.1.2 γίνεται αντιληπτό ότι η κορυφή (ν) αντιστοιχεί στην δελφινιδίνη (φάσμα εικ. 5-3).

Να σημειωθεί εδώ ότι δεν έχει μελετηθεί η κορυφή στα 43,33 min ως προς τη σίγουρη ταυτοποίηση της με LC-MS και για αυτό θα αναφέρεται ως γλυκοζίτης της δελφινιδίνης.



Ραβδόγραμμα 5-1: Συνολικές Ανθοκυάνες Εκφρασμένες Σε Ισοδύναμα Μαλβιδίνης (ppm)



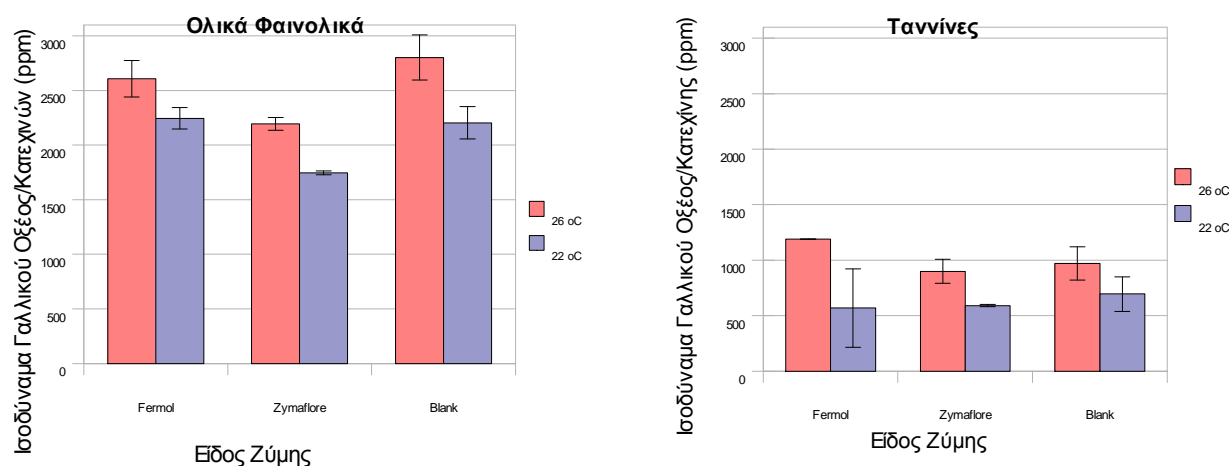
Ραβδόγραμμα 5-2: Κύριες Ανθοκυάνες Εκφρασμένες σε Ισοδύναμα Μαλβιδίνης (ppm)

Κεφάλαιο 5ο: Αποτελέσματα και Συζήτηση

Στο ραβδόγραμμα 5-1 δίνεται το ολικό εμβαδόν όλων των χρωμοφόρων κορυφών (520 nm) εκφρασμένα σε ισοδύναμα μαλβιδίνης σύμφωνα με την πρότυπη καμπύλη του διαγρ. 5-1, ενώ στο ραβδόγραμμα 5-2 τα εμβαδά των 3 κύριων κορυφών ξεχωριστά (520 nm).

Σύμφωνα με τα αυτά είναι φανερό ότι περισσότερες συνολικές ανθοκυάνες εμφανίζονται γενικά στους 22°C εκτός από την περίπτωση του Zymaflore, με το blank να υπερέχει. Επίσης παρατηρείται ότι στους 26°C δεν υπάρχει ιδιαίτερη διαφοροποίηση μεταξύ των διάφορων ζυμών ως προς τις κύριες ανθοκυάνες, εκτός από την περίπτωση του Zymaflore, το οποίο σε αυτή τη θερμοκρασία υπερέχει. Μεταξύ των κύριων ανθοκυανών δεν παρατηρούνται ιδιαίτερες μεταβολές αναλόγως των ζυμών στη θερμοκρασία των 26°C, ίσως μόνο στην περίπτωση της τρίτης ανθοκυάνης Malvidin 3-O-p-coumaroylglucoside, ενώ αντίθετα στους 22°C παρατηρούνται μεγαλύτερες διαφοροποιήσεις μεταξύ τους. Ειδικά το δείγμα Zymaflore στους 22°C φαίνεται να υστερεί ως προς κάθε ανθοκυάνη έναντι των άλλων δύο δειγμάτων, με μεγαλύτερη διαφοροποίηση στην περίπτωση της πρώτης ανθοκυάνης. Το δείγμα Fermol στους 22°C φαίνεται να έχει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ως προς τις κύριες ανθοκυάνες.

Αντίστοιχα συγκριτικά ραβδογράμματα με τα προηγούμενα φαίνονται παρακάτω ως προς τις ολικές φαινόλες και τις ταννίνες εκφρασμένες σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος, για κάθε συνθήκη οινοποίησης, με χρήση της μεθόδου Folin-Ciocalteu (ραβδ. 5-3 και 5-4).



Ραβδόγραμμα 5-3: Φαινολικά Συστατικά εκφρασμένα σε Ισοδύναμα Γαλλικού Οξέος/Κατεχίνης

Σύμφωνα με τα παραπάνω είναι φανερό ότι περισσότερες συνολικές ανθοκυάνες εμφανίζονται γενικά στους 22°C εκτός από την περίπτωση του Zymaflore, με το blank να υπερέχει, επίσης παρατηρείται ότι στους 26°C δεν υπάρχει ιδιαίτερη διαφοροποίηση μεταξύ των διάφορων ζυμών ως προς τις κύριες ανθοκυάνες, εκτός από την περίπτωση του Zymaflore, το οποίο σε αυτή τη θερμοκρασία υπερέχει. Μεταξύ των κύριων ανθοκυανών δεν παρατηρούνται ιδιαίτερες μεταβολές αναλόγως των ζυμών στη θερμοκρασία των 26°C, ίσως μόνο στην περίπτωση της τρίτης ανθοκυάνης Malvidin 3-O-p-coumaroylglucoside, ενώ αντίθετα στους 22°C παρατηρούνται μεγαλύτερες διαφοροποιήσεις μεταξύ τους. Ειδικά το δείγμα Zymaflore στους 22°C φαίνεται να υστερεί ως προς κάθε ανθοκυάνη έναντι των άλλων δύο δειγμάτων, με μεγαλύτερη διαφοροποίηση στην περίπτωση της πρώτης ανθοκυάνης. Το δείγμα Fermol στους 22°C φαίνεται να έχει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ως προς τις κύριες ανθοκυάνες.

Από το ραβδόγραμμα 5-3 φαίνεται ότι στους 26°C τα δείγματα σε κάθε περίπτωση έχουν περισσότερα ολικά φαινολικά από τους 22°C που οφείλονται πιθανότατα στις ταννίνες που εκχυλίζονται από τα γίγαρτα. Το δείγμα Blank φαίνεται να υπερέχει στα ολικά φαινολικά στους 26°C έναντι των άλλων δύο δειγμάτων, ενώ στις ταννίνες υπερέχει το δείγμα Fermol. Το δείγμα Zymaflore υστερεί τόσο ως προς τα ολικά φαινολικά, όσο και ως προς τις ταννίνες.

Να σημειωθεί εδώ ότι γενικώς, όπως έχει αναφερθεί (κεφ. 1), οι ταννίνες των γιγάρτων, καθώς χαρακτηρίζονται ως "επιθετικές", δεν είναι ιδιαίτερος επιθυμητές στο τελικό προϊόν, λόγω της χαρακτηριστικής στυφάδας που του αποδίδουν.

Εν τέλει είναι εύκολο κανείς να καταλήξει στο συμπέρασμα ότι τόσο το είδος της πρόσθετης ή μη ζύμης, όσο και η θερμοκρασία ζύμωσης μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τόσο το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο, όσο και αυτό των ταννινών, και των σημαντικών ανθοκυανών του οίνου. Αντίστοιχα αποτελέσματα φαίνεται να παρουσιάζονται και σε άλλες έρευνες με διαφορετικές ποικιλίες οίνου ή ζυμών (Monagas et al., 2005). Επίσης φαίνεται για τη *Μαυροκουντούρα* το υψηλό φαινολικό περιεχόμενο σε κάθε περίπτωση ζύμωσης που έχει σε σχέση με αρκετούς μονοποικιλιακούς οίνους. Επίσης φαίνεται ότι το φαινολικό της περιεχόμενο είναι αντίστοιχο με αυτό της *Μανδηλαριάς* (Kalithraka et al., 2005, 2010).

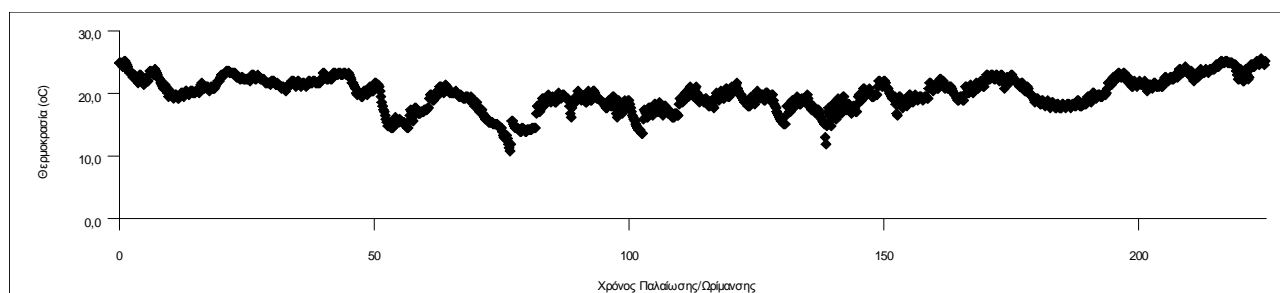
5.4 Μελέτη των Ανθοκυανών και Λοιπών Φαινολικών κατά την Ωρίμανση/Παλαίωση του Πρώιμου Οίνου *Μαυροκουντούρας* σε Τροποποιημένες Ατμόσφαιρες:

Πριν ξεκινήσει η μελέτη της ωρίμανσης/παλαίωσης του οίνου είναι σημαντικό να εξετασθεί ο πρώιμος οίνος της αποθήκευσης ως προς τα επιμέρους χαρακτηριστικά του, στα οποία πρόκειται να εξετασθεί και ο υπό αποθήκευση οίνος. Τα χαρακτηριστικά χρωματογραφήματα του οίνου είναι αντίστοιχα όπως στο κεφ. 5.2 (εικ. 5-11 έως 5-14 και 5-29). Οι κύριες ανθοκυάνες είναι οι Malvidin 3-O-glucoside, Malvidin 3-O-p-coumaroylglucoside και η Delphinidin-glycoside. Τα αρχικά χαρακτηριστικά του οίνου παρουσιάζονται στον Πίνακα 5-8.

Πίνακας 5-8: Αρχικά Χαρακτηριστικά Οίνου προ Αποθήκευσης

Φαινολικά ως ισοδύναμα Οξέος/Κατεχίνης (ppm)	Γαλλικό	Κύριες Ανθοκυάνες ως Ισοδύναμα Μαλβιδίνης (ppm)	Παράμετροι Χρώματος
Ολικές φαινόλες	2165±69	Malvidin 3-O-glucoside 60±6	dA% 53,19±0,07
Ταννίνες	446±106	Delphinidin-lglucoside 28±3	CI 1,20±0,07
		Malvidin 3-O-p-coumaroylglucoside 17±2	E (Ολικό Χρώμα) 51,00±0,98
			C (Χρώμα) 14,89±0,08
			Yellow:A420(%) 35,16±0,09
			Red:A520(%) 1,76±10
			Blue:A620(%) 8,98±0,04

Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος αποθήκευσης του οίνου δεν ήταν σταθερή, καθώς ήταν σκοπός να μελετηθεί η συνήθης εμπορική αποθήκευση του οίνου, σε μη ελεγχόμενη θερμοκρασία. Η μεταβολή της θερμοκρασίας σε σχέση με το χρόνο ωρίμανσης/παλαίωσης φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα (διαγρ. 5-5).



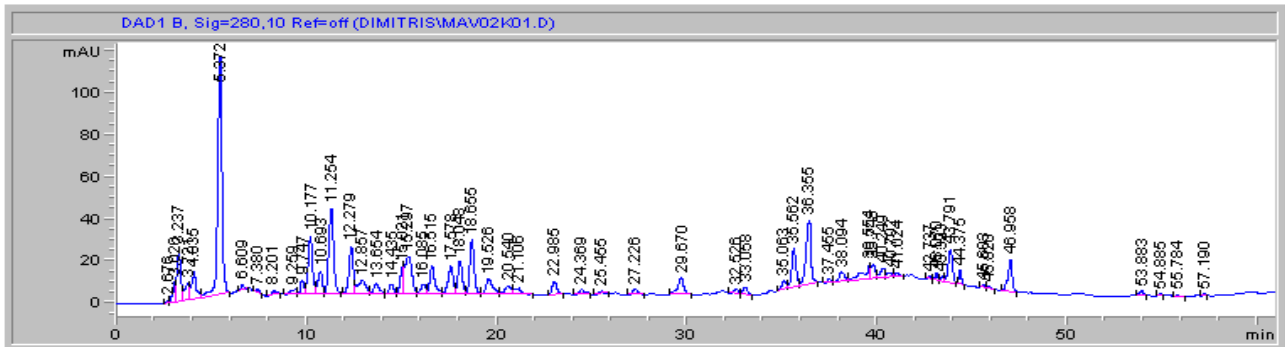
Διάγραμμα 5-5: Μεταβολή της Θερμοκρασίας σε Σχέση με το Χρόνο Παλαίωσης/Ωρίμανσης του Οίνου.

Η μέση θερμοκρασία παλαίωσης/ωρίμανσης του οίνου ήταν 19,9°C, ενώ η μέγιστη ήταν 26,2°C και η ελάχιστη 10,8°C. Και οι τέσσερις περιπτώσεις των δειγμάτων βρίσκονταν στην ίδια μετρούμενη θερμοκρασία περιβάλλοντος.

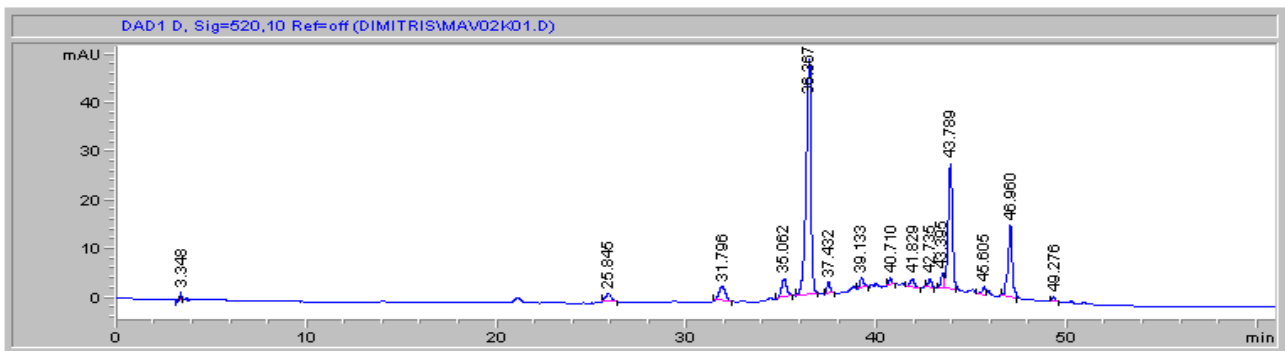
Τα δείγματα της αποθήκευσης παράχθηκαν από το οινοποιείο Αβαντίς όπως αναφέρεται στο 4ο κεφάλαιο για τα δείγματα προς αποθήκευση, οπότε, όπως είναι φυσικό, είχαν τα ίδια αρχικά ποιοτικά χαρακτηριστικά όπως φαίνονται στον πίνακα 5-8 (εκτός από του CO₂). Το μόνο ποιοτικό χαρακτηριστικό που μελετήθηκε, κατά την αποθήκευση, στην παρούσα εργασία, ήταν το χρώμα.

Κεφάλαιο 5ο: Αποτελέσματα και Συζήτηση

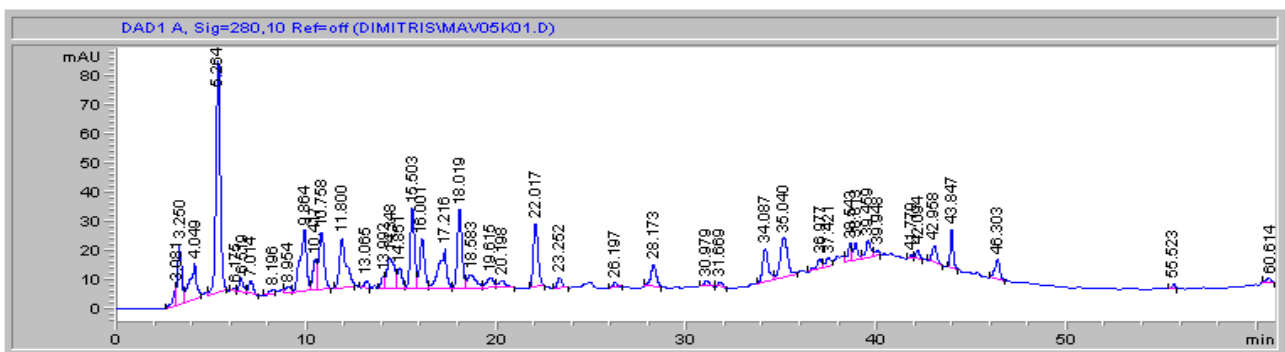
Σε αυτό το σημείο αξίζει να σημειωθεί ότι κατά την πορεία της ωρίμανσης/παλαίωσης των δειγμάτων οίνου παρατηρείται στα χρωματογραφήματα των 280 nm και 520 nm στις διάφορες συνθήκες αποθήκευσης να σχηματίζεται ένα βουνό (πιο έντονο στα 280 nm) στην περιοχή μεταξύ 30 min και 54 min το οποίο δείχνει σε κάθε περίπτωση να αυξάνει με το χρόνο αποθήκευσης, όπως φαίνεται στα παρακάτω ενδεικτικά χρωματογραφήματα (εικ. 5-31 έως 5-34).



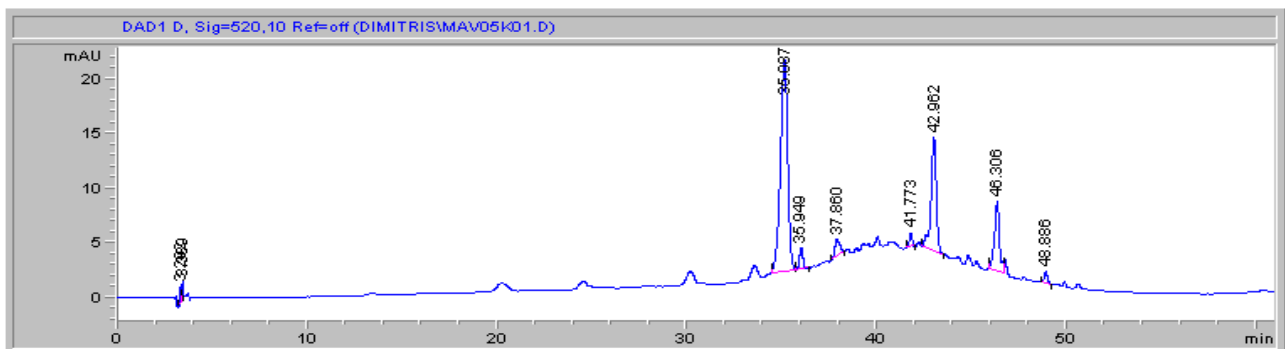
Εικόνα 5-31: Χρωματογράφημα στα 280 nm, Οίνου Αποθηκευμένου 92 μέρες σε Κενό



Εικόνα 5-32: Χρωματογράφημα στα 520 nm, Οίνου Αποθηκευμένου 92 μέρες σε Κενό



Εικόνα 5-33: Χρωματογράφημα στα 280 nm, Οίνου Αποθηκευμένου 211 μέρες σε Κενό



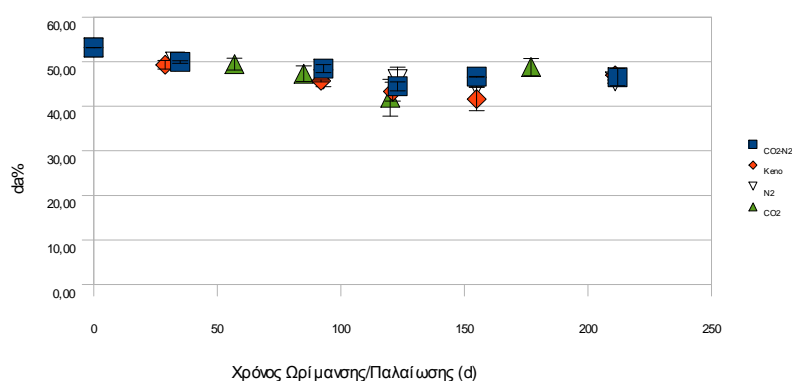
Εικόνα 5-34: Χρωματογράφημα στα 520 nm, Οίνου Αποθηκευμένου 211 μέρες σε Κενό

Αυτό το "βουνό" σύμφωνα με τη βιβλιογραφία είναι η απόκριση στην HPLC των πολυμερών φαινολικών συστατικών του οίνου (Versari *et al.*, 2007). Η αύξηση λοιπόν του "βουνού" αυτού είναι δείκτης δημιουργίας ολοένα και περισσότερων πολυμερών φαινολικών συστατικών κατά την ωρίμανση/παλαίωση του οίνου σε κάθε συνθήκη αποθήκευσης.

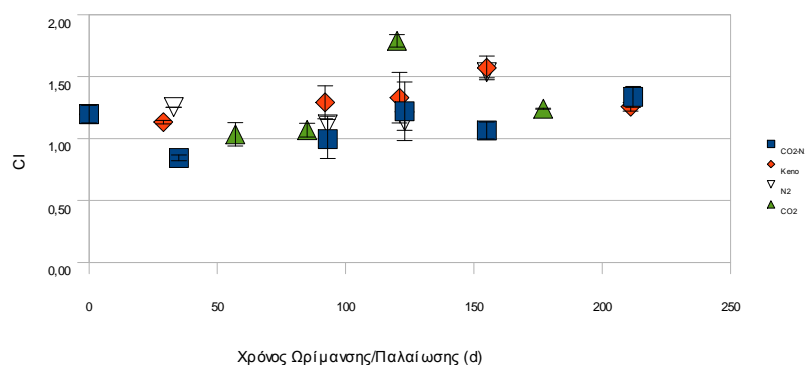
Επίσης να αναφερθεί εδώ ότι ο οίνος αποθηκευμένος σε ατμόσφαιρα CO₂ μετά από 57 ημέρες όπου λήφθηκε το πρώτο δείγμα προς ανάλυση (μετά την αποθήκευση) είχε προσροφήσει το υπερκείμενο CO₂ δημιουργώντας κενό εντός του σακιδίου αποθήκευσης.

5.4.1 Μεταβολή του Χρώματος:

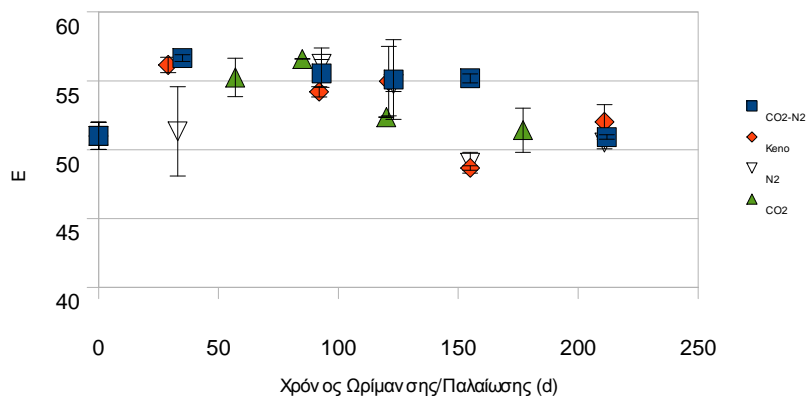
Στα παρακάτω διαγράμματα φαίνεται η μεταβολή του χρώματος της κάθε περίπτωσης τροποποιημένης ατμόσφαιρας (ή κενού) σε σχέση με το χρόνο ωρίμανσης/παλαίωσης των δειγμάτων. Το χρώμα μελετάται όπως στο 5.2 σύμφωνα με το dA%, το CI και το E.



Διάγραμμα 5-6: Μεταβολή dA% ως προς το Χρόνο Ωρίμανσης/Παλαίωσης του Οίνου



Διάγραμμα 5-7: Μεταβολή CI ως προς το Χρόνο Ωρίμανσης/Παλαίωσης του Οίνου



Διάγραμμα 5-8: Μεταβολή E ως προς το Χρόνο Ωρίμανσης/Παλαίωσης του Οίνου

Κεφάλαιο 5ο: Αποτελέσματα και Συζήτηση

Σύμφωνα με τα παραπάνω διαγράμματα είναι φανερό ότι το dA% (ποσοστό της συνεισφοράς του κόκκινου χρώματος στο τελικό χρώμα του οίνου) με το πέρασμα του χρόνου τείνει να μειώνεται. Οπότε παρατηρείται ότι με το χρόνο ο οίνος γίνεται λιγότερο κόκκινος σε κάθε περίπτωση, με το δείγμα κενού να έχει το μικρότερο αναλογικά dA% στον τελικό χρόνο. Να αναφερθεί εδώ ότι ο Boulton (2001) πρότεινε ότι το 30%-50% του κόκκινου χρώματος των νέων ερυθρών οίνων εξαρτάται από την ανάπτυξη και την συγκέντρωση των συμπυκνωμένων ανθοκυανών.

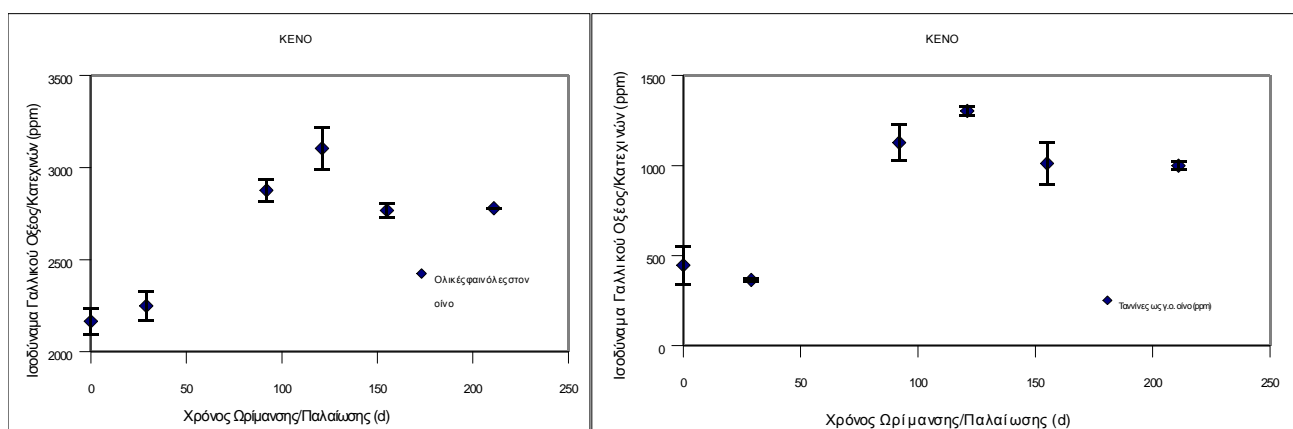
Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι το CI (ένταση του χρώματος) γίνεται εντονότερη σε κάθε περίπτωση και ειδικά στην περίπτωση του κενού σε αντίθεση με το dA% του κενού. Ακόμα ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει το γεγονός ότι μετά από διαφορετικές μεταβολές του χρώματος που ακολουθεί κάθε περίπτωση δείγματος, το CI καταλήγει σε πολύ όμοιο αποτέλεσμα στις 212 μέρες, πράγμα που οδηγεί στην υπόθεση ότι υφίσταται κάποιου είδους ισορροπία σε αυτό το χρόνο που δεν διαφοροποιεί ιδιαίτερος τα δείγματα ως προς το χρώμα. Αυτό που φαίνεται να διαφέρει είναι το δείγμα του κενού, όπου είναι μεν λιγότερο κόκκινο, αλλά έχει χρώμα με μεγαλύτερη ένταση. Αυτό φαίνεται και από το διάγραμμα του E (ολικού χρώματος).

Στις παραμέτρους E και CI παρατηρούνται και οι πιο έντονες μεταβολές μέχρι την αποκατάσταση της χρωματικής "ισορροπίας" στις 212 μέρες. Η διαφορά στο dA% σε κάθε περίπτωση των δειγμάτων φαίνεται να είναι αντίστοιχη, παρουσιάζοντας ένα ελάχιστο κοντά στις 150 μέρες.

Η μεταβολή του χρώματος αποτελεί σημαντικό αισθητηριακό κριτήριο εκτίμησης του οίνου (Revilla and Gonzalez-SanJose, 2001). Η μη σταθερότητα του χρώματος κατά την παλαίωση/ωρίμανση είναι φανερή. Η αστάθεια του χρώματος συσχετίζεται με τη μεταβολή που προκαλείται από τον πολυμερισμό, την οξειδωση και τη συμπύκνωση των ανθοκυανών και των πολυφαινόλων κατά την ωρίμανση/παλαίωση του οίνου (Heredla and Guzman-Chozas, 1993, Davis and Mazza, 1993). Η μείωση των παραμέτρων του χρώματος για το μελετούμενο χρόνο της παρούσας εργασίας είναι αντίστοιχη με κάποιες περιπτώσεις της βιβλιογραφίας (Monagas, 2005, Gomez-Plaza et al., 2001, Glories, 1984, Ribereau-Gayon, 1982) όπως επίσης και η αύξηση της έντασης (αντίθετα μείωση της φωτεινότητας) (Chung et al., 2008, Garcia-Falcon et al., 2006 (οίνος *Brancelallo*)). Παρόλα αυτά φαίνεται να υπάρχει μεγάλη ανομοιομορφία ανάλογη των περιπτώσεων οίνου, όπου φαίνεται να υπάρχουν διαφορετικών ειδών μεταβολές που εξαρτώνται έντονα από το χρόνο παλαίωσης (π.χ. Bautista-Ortin et al., 2006, Garcia-Falcon et al., 2006 (οίνος *Mencia*))

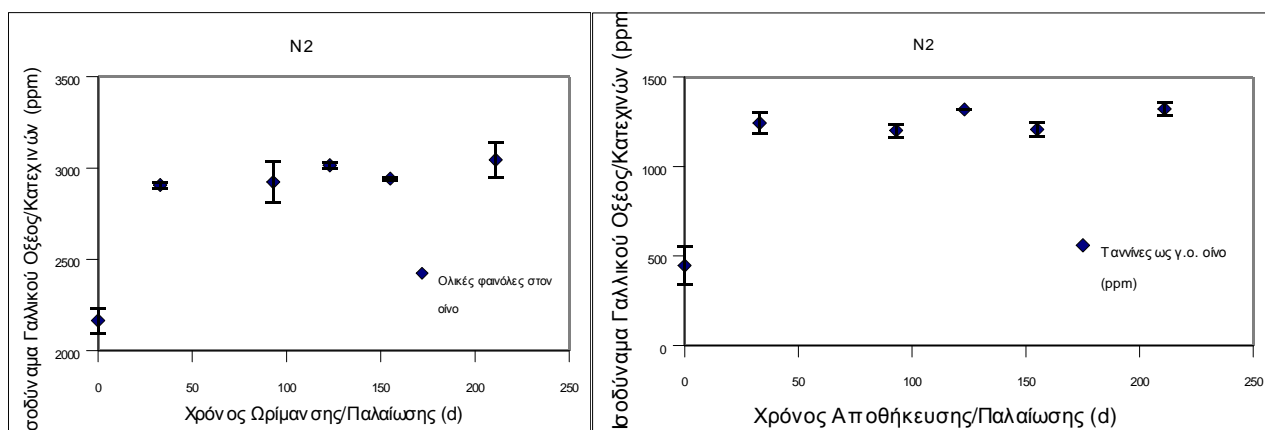
5.4.2 Μεταβολή των Φαινολικών Συστατικών:

Τα συνολικά φαινολικά συστατικά μετρήθηκαν σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος όπως περιγράφηκαν στο κεφ. 5.1.2.3. Έτσι φαίνονται για κάθε περίπτωση αποθήκευσης του οίνου στα παρακάτω διαγράμματα (διαγρ. 5-9 έως 5-12) οι μεταβολές των συνολικών φαινολικών συστατικών καθώς και των περιεχόμενων ταννινών.



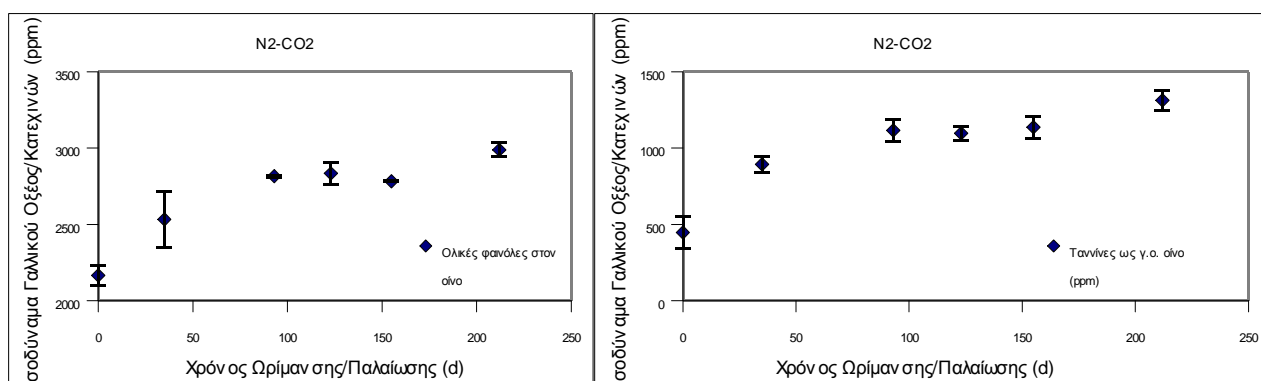
Διαγράμματα 5-9: Μεταβολή των Ολικών Φαινολών και Ταννινών στο Κερό

Στην περίπτωση, λοιπόν, του οίνου υπό κενό είναι φανερό ότι οι συνολικές φαινόλες αυξάνονται σταδιακά (σχεδόν γραμμικά) μέχρι ενός μεγίστου στις 121 μέρες και εν συνεχεία μειώνονται, ώστε στις 155 μέρες παρατηρείται αποκατάσταση κάποιου είδους ισορροπίας. Αντίστοιχη σχεδόν τάση φαίνεται να παρουσιάζει και η μεταβολή των ταννινών.



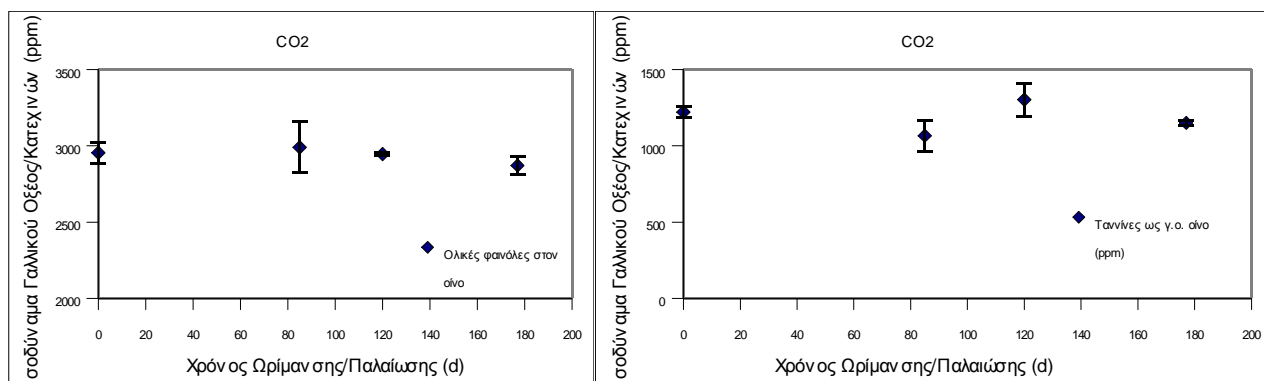
Διάγραμμα 5-10: Μεταβολή των Ολικών Φαινολών και Ταννινών στο N₂

Στην περίπτωση του οίνου υπό ατμόσφαιρα N₂, παρατηρείται αύξηση των ολικών φαινολικών συστατικών μέχρι τις 33 μέρες όπου είτε αποκαθίσταται κάποιου είδους ισορροπία είτε έχει πολύ αργό ρυθμό αύξησής τους. Αντίστοιχη τάση φαίνεται να παρουσιάζει και η μεταβολή των ταννινών.



Διάγραμμα 5-11: Μεταβολή των Ολικών Φαινολών και Ταννινών στο Μίγμα N₂-CO₂

Στην περίπτωση του οίνου αποθηκευμένου υπό ατμόσφαιρα μίγματος N₂-CO₂, παρατηρείται μία σταδιακή αύξηση των συνολικών φαινολών, με μία προσωρινή ισορροπία μεταξύ 93-123 ημερών. Αντίστοιχη μεταβολή φαίνεται να παρουσιάζουν και οι ταννινών.



Διάγραμμα 5-12: Μεταβολή των Ολικών Ανθοκυανών και Ταννινών στο CO₂

Στην περίπτωση του οίνου αποθηκευμένου υπό ατμόσφαιρα CO₂, παρουσιάζεται ισορροπία από την έναρξη μέτρησης των συνολικών φαινολών και αντίστοιχα των ταννινών. Αυτό πιθανώς οφείλεται στην καθυστέρηση της αποθήκευσης του οίνου υπό τη συγκεκριμένη ατμόσφαιρα με αποτέλεσμα να μην έχει ληφθεί υπόψη μια πιθανή μεταβολή των συνολικών φαινολικών συστατικών και των ταννινών. Αυτό φαίνεται και από το γεγονός ότι οι ταννίνες και τα συνολικά φαινολικά του αρχικού οίνου αποθήκευσης στο διοξειδίου του άνθρακα έχουν ήδη αυξηθεί κατά πολύ και έχουν φτάσει τις τιμές κοντά στις τελικές τιμές των άλλων περιπτώσεων των δειγμάτων.

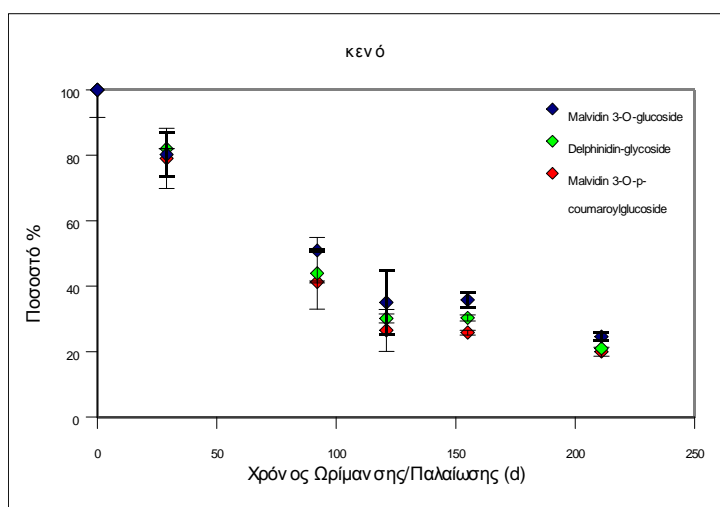
Φαίνεται γενικά ότι τόσο τα ολικά φαινολικά, όσο και οι ταννίνες αυξάνονται αρχικά αρκετά γρήγορα και ύστερα μειώνεται ο ρυθμός αύξησής τους και στην περίπτωση δε του κενού έχουμε και μείωση. Καθώς η μεταβολή των ολικών φαινολών φαίνεται να είναι αντίστοιχη με αυτή των ταννινών, είναι εύλογο να υποθεθεί ότι η αύξηση των ολικών φαινολών οφείλεται στην αυτή αύξηση των ταννινών. Επίσης μπορεί να συνδυαστεί με το γεγονός, όπως θα παρουσιαστεί παρακάτω, ότι οι ανθοκυάνες μειώνονται συστηματικά με το χρόνο αποθήκευσης, καθώς πιθανότητα παράγουν κατεχίνες και πολυμερίζονται σε ταννίνες που ενδεχομένως έχουν μεγαλύτερη απόκριση στη χρησιμοποιούμενη μέθοδο.

Η αύξηση των συνολικών φαινολικών έχει παρατηρηθεί και από άλλες έρευνες κατά τους πρώτους μήνες της αποθήκευσης των οίνων (Gomez-Plaza et al., 1999, 2001) ενώ ακολουθείται από μείωσή τους μετά. Φαίνεται ότι μόνο το δείγμα του κενού έχει φτάσει στο σημείο να μειώνονται τα ολικά φαινολικά του, μετά την επίτευξη κάποιου μεγίστου. Το δείγμα του αζώτου δε έχει τη μέγιστη συγκέντρωση τόσο σε ολικά φαινολικά όσο και σε ταννίνες, ακολουθεί το δείγμα μίγματος N₂-CO₂, το δείγμα CO₂ και φυσικά τέλος το δείγμα κενού. Αυτό δημιουργεί την υπόθεση ότι η ατμόσφαιρα N₂ ευνοεί την αύξηση των ολικών φαινολών και ταννινών σε αντίθεση με την πλήρη έλλειψη υπερκείμενης ατμόσφαιρας στο δείγμα κενού.

Να σημειωθεί εδώ επίσης ότι στον οίνο της *Μαυροκουντούρας* παρατηρείται πολύ υψηλό φαινολικό περιεχόμενο μετά την αποθήκευση σε κάθε περίπτωση σε σχέση με πολλούς τύπους ξένου ή ελληνικού οίνου ακόμα και της *Μανδηλαριάς* (Kallithraka et al., 2001, 2005, 2009, Cliff et al., 2006, Gomez-Plaza et al., 1999, 2001, Lee et al., 2010)

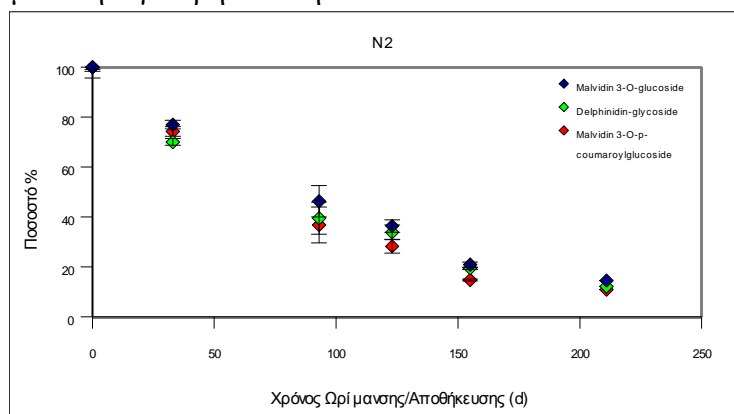
5.4.3 Μεταβολή των Ανθοκυανών:

Οι κύριες ανθοκυάνες που φαίνονται στο χρωματογράφημα 5-29 είναι αυτές που θα μελετηθούν ως προς τη μεταβολή τους με το χρόνο ωρίμανσης/παλαίωσης του οίνου σε κάθε περίπτωση τροποποιημένης ατμόσφαιρας (ή κενού). Στα παρακάτω λοιπόν διαγράμματα (5-13 έως 5-16) φαίνεται αυτή ακριβώς η μεταβολή των ανθοκυανών ως ποσοστό επί της αρχικής τους συγκέντρωσης σε σχέση με το χρόνο.



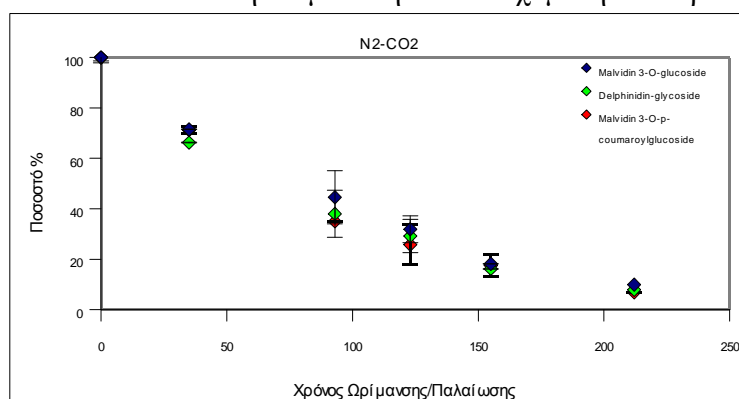
Διάγραμμα 5-13: Μεταβολή Επιμέρους Ανθοκυανών στο Κενό

Στην περίπτωση του οίνου αποθηκευμένου υπό κενό φαίνεται ότι οι ανθοκυάνες ακολουθούν και οι τρεις αντίστοιχες μεταβολές. Παρατηρείται ότι μέχρι τις 121 μέρες έχουν σχεδόν γραμμική μείωση ακολουθούμενη από μείωση λιγότερη έντονη.



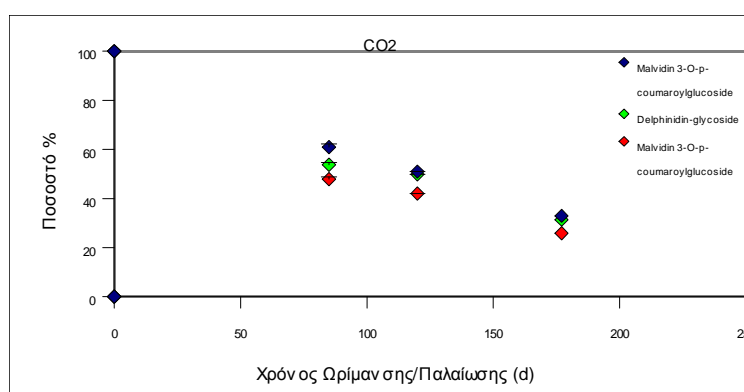
Διάγραμμα 5-14: Μεταβολή Επιμέρους Ανθοκυανών στο N₂

Στην περίπτωση του οίνου αποθηκευμένου υπό ατμόσφαιρα N₂ φαίνεται ότι οι ανθοκυάνες ακολουθούν και οι τρεις αντίστοιχες μεταβολές. Παρατηρείται ότι εδώ σχεδόν γραμμική μείωση μέχρι τις 155 μέρες και ακολουθεί πιο ήπια μείωση και ενδεχόμενη σταθεροποίηση.



Διάγραμμα 5-15: Μεταβολή Επιμέρους Ανθοκυανών στο Μίγμα N₂-CO₂

Στην περίπτωση του οίνου αποθηκευμένου υπό ατμόσφαιρα μίγματος N₂-CO₂ φαίνεται ότι οι ανθοκυάνες ακολουθούν και εδώ και οι τρεις αντίστοιχες μεταβολές. Παρατηρείται δε ότι έχουν μέχρι τις 155 μέρες σχεδόν γραμμική μείωση και ακολουθεί ηπιότερη μείωση και ενδεχόμενη σταθεροποίηση, όπως στην περίπτωση του N₂ αλλά ίσως σε αυτή την περίπτωση πραγματοποιείται πιο απότομη μείωση προς το τέλος.



Διάγραμμα 5-16: Μεταβολή Επιμέρους Ανθοκυανών στο CO₂

Κεφάλαιο 5ο: Αποτελέσματα και Συζήτηση

Στην περίπτωση του CO₂ (λαμβάνοντας υπόψη τα προβλήματα που αναφέρθηκαν σε προηγούμενο υποκεφάλαιο) φαίνεται επίσης ότι οι ανθοκυάνες ακολουθούν αντίστοιχες μεταβολές μεταξύ τους, με σχεδόν γραμμική μείωση.

Για να συνοψιστούν τα ανωτέρω είναι φανερό ότι, σε κάθε περίπτωση δείγματος οι ανθοκυάνες μειώνονται σε σχέση με το χρόνο, για τις τρεις δε ξεχωριστές ανθοκυάνες παρατηρούνται αντίστοιχες μεταβολές μεταξύ τους. Συγκρίνοντας, επίσης, τα διαφορετικά δείγματα είναι φανερό ότι το δείγμα του CO₂, στον ίδιο χρόνο (τηρουμένων των αναλογιών), φθάνει σε υψηλότερο ποσοστό ανθοκυανών από τα υπόλοιπα, και ακολουθούν το δείγμα του αζώτου, του κενού και τέλος το μείγμα αζώτου-διοξειδίου του άνθρακα.

Η συστηματική μείωση των ανθοκυανών (παρ. 2.4) κατά την αποθήκευση έχει αναφερθεί από αρκετούς ερευνητές (Gomez-Plaza et al., 2001, Alcalde-Eon et al., 2006, Boido et al., 2006, Fulcrand et al., 2006, Gonzalez-Neves et al., 2009, Burin et al., 2010). Αυτό μπορεί να εξηγηθεί καθώς τα μονομερή αυτά των ανθοκυανών μπορούν να συμμετάσχουν σε πολλές αντιδράσεις συμπύκνωσης (πολυμερή) κατά την αποθήκευση όπως αναφέρθηκαν και για το χρώμα, όπως και σε υδρολυτικές και άλλες αντιδράσεις αποικοδόμησής τους σε μικρότερο βαθμό (Santos-Buelga et al., 1999, Monagas et al., 2005, Ribichaud & Noble, 1990). Η μείωση των ανθοκυανών που προκαλείται, ενδεχομένως, από τον πολυμερισμό τους μπορεί να συσχετιστεί με την αύξηση του "βουνού" που παρατηρείται στα χρωματογραφήματα κατά την ωρίμανση/παλαίωση του οίνου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6ο: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**Σταφύλι Μαυροκουντούρας:**

Συγκρίνοντας τη μέση διάμετρο και τη μέση μάζα της *Μαυροκουντούρας* με αυτές της *Μανδηλαριάς* παρατηρείται ότι η *Μαυροκουντούρα* έχει σαφώς μικρότερες ρώγες τόσο ως προς τη διάμετρο όσο και ως προς τη μάζα, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η *Μαυροκουντούρα* έχει μεγαλύτερο ποσοστό φλοιών στο καρπό (14% στη *Μαυροκουντούρα*), από αυτό της *Μανδηλαριάς* (5% στη *Μανδηλαριάς*). Παρατηρώντας την απόδοση της λυοφιλίωσης επιβεβαιώνεται ότι η σάρκα είναι αυτή που ουσιαστικά προσδίδει το νερό για την παραγωγή του οίνου (στον οποίο βρίσκονται διαλυμένα τα σάκχαρα) ενώ οι φλοιοί έχουν πολύ μικρό ποσοστό νερού, μηδενικό δε τα γίγαρτα. Στην απολίπανση των γιγάρτων η περιεκτικότητα των μαζών του ελαίου που παραλήφθηκε ως προς τα γίγαρτα είναι 16% w/w και σε βάση νωπού σταφυλιού 0,5% w/w, ποσότητα αρκετά υψηλή γενικά για διάφορες ποικιλίες σταφυλιών (8-15% w/w).

Διαπιστώθηκε ότι οι κύριες ανθοκυάνες που περιέχονται είναι οι Malvidin 3-O-glucoside και Malvidin 3-O-p-coumaroylglucoside, οι οποίες στο σύνολο τους απαντώνται στο φλοιό 406,3±8 ppm μαλβιδίνης και 760±40 ppm συνολικών ανθοκυανών ανηγμένες σε μαλβιδίνη. Οι ταννίνες διαπιστώθηκε ότι αποτελούνται από κυανιδίνη ("δείκτης μονομερών κατεχινών") μέσω της όξινης υδρόλυσης τους και το σύνολο τους απαντάται στα γίγαρτα. Οι σάρκες φάνηκε να είναι γενικά φτωχές σε φανολικές ενώσεις. Το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο της ρώγας *Μαυροκουντούρας* είναι ιδιαίτερα υψηλό. Οι φλοιοί φαίνεται ότι έχουν πολύ υψηλό φαινολικό περιεχόμενο, το οποίο οφείλεται σχεδόν εξολοκλήρου σε μη ταννικές φαινόλες, τα γίγαρτα έχουν το υψηλότερο συνολικό φαινολικό περιεχόμενο, το οποίο οφείλεται κατά το μεγαλύτερο ποσοστό του στις ταννίνες ενώ οι σάρκες έχουν σχεδόν μηδενικό φαινολικό περιεχόμενο.

Ζύμωση Σταφυλόμαζας Μαυροκουντούρας:

Η πορεία των σακχάρων κατά τη ζύμωση δεν επηρεάζεται από το είδος του μικροοργανισμού. Οι διαφορετικές συνθήκες οινοποίησης που εφαρμόστηκαν (θερμοκρασία, ζύμη) φάνηκε να μην επηρεάζουν σημαντικά τις παραμέτρους του χρώματος, τους αλκοολικούς βαθμούς (9,75) και την πτητική οξύτητα (0,19 g οξικού /L) του οίνου. Οι κύριες ανθοκυάνες που παρατηρήθηκαν σε κάθε περίπτωση στον οίνο *Μαυροκουντούρας* κατά ποσοτική σειρά κατάταξης βρέθηκε να είναι: Malvidin 3-O-glucoside (20,61-25,88 ppm ισοδύναμα Μαλβιδίνης), Delphinidin glucoside (5,86-7,41 ppm ισοδύναμα Μαλβιδίνης) και Malvidin 3-O-p-coumaroylglucoside (4,50-6,21 ppm ισοδύναμα Μαλβιδίνης). Μια επιπλέον κορυφή φαίνεται στον οίνο που δεν προϋπήρχε στο σταφύλι, αυτή του γλυκοζίτη της δελφινιδίνης ως πιθανό αποτέλεσμα της ζύμωσης της σταφυλόμαζας. Για τη *Μαυροκουντούρα* φάνηκε το υψηλό φαινολικό περιεχόμενο που έχει (2802-1746 ppm ισοδύναμα γαλλικού οξέος) σε κάθε περίπτωση ζύμωσης, αντίστοιχο με αυτό της *Μανδηλαριάς*, σε σχέση με αρκετούς μονοποικιλιακούς οίνους, όπως επίσης και το ταννικό περιεχόμενο (695-1189 ppm ισοδύναμα γαλλικού οξέος).

Αποθήκευση Οίνου Μαυροκουντούρας:

Όσον αφορά την μεταβολή των παραμέτρων του χρώματος κατά την αποθήκευση κατέστη φανερό ότι με το χρόνο ο οίνος γίνεται λιγότερο κόκκινος σε κάθε περίπτωση, με το δείγμα κενού να έχει το μικρότερο αναλογικά dA% στον τελικό χρόνο. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσίασε το γεγονός ότι το CI έγινε εντονότερο σε κάθε περίπτωση (ειδικά στην περίπτωση του κενού σε αντίθεση με το dA % του) όπου μετά από διαφορετικές μεταβολές του χρώματος που ακολούθησε κάθε περίπτωση δείγματος, το CI κατέληξε σε πολύ όμοιο αποτέλεσμα στις 212 μέρες. Στις παραμέτρους E και CI παρατηρήθηκαν οι πιο έντονες μεταβολές μέχρι την αποκατάσταση της χρωματικής "ισορροπίας" στις 212 μέρες. Η αστάθεια του χρώματος συσχετίζεται μέσω της βιβλιογραφίας με τη μεταβολή που προκαλείται από τον πολυμερισμό, την οξειδωση και τη συμπύκνωση των ανθοκυανών και των πολυφαινολών κατά την ωρίμανση/παλαίωση του οίνου.

Κεφάλαιο 6ο: Συμπεράσματα

Φάνηκε γενικά ότι τόσο τα ολικά φαινολικά, όσο και οι ταννίνες αυξάνονται αρχικά αρκετά γρήγορα και ύστερα μειώνεται ο ρυθμός αύξησής τους όπου στην περίπτωση δε του κενού έχουμε και μείωση. Καθώς η μεταβολή των ολικών φαινολών φαίνεται να είναι αντίστοιχη με αυτή των ταννινών, ήταν εύλογο να υποθεθεί ότι η αύξηση των ολικών φαινολών οφείλεται στην αυτή αύξηση των ταννινών. Επίσης συνδυάζεται με το γεγονός, ότι οι ανθοκυάνες μειώνονται συστηματικά με το χρόνο αποθήκευσης, καθώς πιθανότητα παράγουν κατεχίνες και πολυμερίζονται σε ταννίνες οπότε ενδεχομένως έχουν μεγαλύτερη απόκριση στη χρησιμοποιούμενη μέθοδο. Φάνηκε ότι μόνο το δείγμα του κενού έχει φτάσει στο σημείο να μειώνονται τα ολικά φαινολικά του, μετά την επίτευξη κάποιου μεγίστου. Το δείγμα του αζώτου δε έχει τη μέγιστη συγκέντρωση τόσο σε ολικά φαινολικά όσο και σε ταννίνες, ακολουθεί το δείγμα μίγματος N_2-CO_2 , το δείγμα CO_2 και φυσικά τέλος το δείγμα κενού. Αυτό δημιουργεί την υπόθεση ότι η ατμόσφαιρα N_2 ευνοεί την αύξηση των ολικών φαινολών και ταννινών σε αντίθεση με την πλήρη έλλειψη υπερκείμενης ατμόσφαιρας στο δείγμα κενού. Επίσης να σημειωθεί ότι στον οίνο της *Μαυροκουντούρας* παρατηρείται πολύ υψηλό φαινολικό περιεχόμενο μετά την αποθήκευση σε κάθε περίπτωση σε σχέση με πολλούς τύπους ξένους ή ελληνικούς οίνους ακόμα και της *Μανδηλαριάς*.

Κατέστη φανερό ότι, σε κάθε περίπτωση δείγματος οι ανθοκυάνες μειώνονται σε σχέση με το χρόνο, για τις τρεις δε ξεχωριστές ανθοκυάνες παρατηρήθηκαν αντίστοιχες μεταβολές μεταξύ τους. Συγκρίνοντας, επίσης, τα διαφορετικά δείγματα φάνηκε ότι το δείγμα του CO_2 , στον ίδιο χρόνο (τηρουμένων των αναλογιών), φθάνει σε υψηλότερο ποσοστό ανθοκυανών από τα υπόλοιπα, και ακολουθούν το δείγμα του αζώτου, του κενού και τέλος το μείγμα αζώτου-διοξειδίου του άνθρακα. Η συστηματική μείωση των ανθοκυανών κατά την αποθήκευση έχει αναφερθεί από αρκετούς ερευνητές. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί καθώς τα μονομερή αυτά των ανθοκυανών μπορούν να συμμετάσχουν σε πολλές αντιδράσεις συμπύκνωσης (πολυμερή) κατά την αποθήκευση όπως αναφέρθηκαν και για το χρώμα, όπως και σε υδρολυτικές και άλλες αντιδράσεις αποικοδόμησής τους σε μικρότερο βαθμό. Η μείωση των ανθοκυανών που προκαλείται, ενδεχομένως, από τον πολυμερισμό τους μπορεί να συσχετιστεί με την αύξηση του "βουνού" που παρατηρείται στα χρωματογραφήματα κατά την ωρίμανση/παλαίωση του οίνου και αποδίδεται στην αύξηση των ταννινών.

Μελλοντικές Εφαρμογές:

Τα αποτελέσματα της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας μπορούν να βρουν εφαρμογή στα ακόλουθα: ως παράγοντες για την ταυτοποίηση του κλώνου *Μαυροκουντούρα Κύμης*, στην παραγωγή οίνου τόσο από το συγκεκριμένου κλώνο όσο και από άλλες ποικιλίες και κλώνους, αλλά ακόμα και σε εφαρμογές που αφορούν σε άλλους κλάδους πέρα της οινοποιίας, όπως για παράδειγμα της ιατρικής λόγω της πιθανής αντιοξειδωτικής δράσης των περιεχόμενων φαινολικών ενώσεων του οίνου.

Μια μελλοντική ερευνητική προσπάθεια θα μπορούσε να συμπεριλάβει την πλήρη ταυτοποίηση όλων των ανθοκυανών στο σταφύλι και τον οίνο *Μαυροκουντούρα Κύμης*, τη μελέτη της μεταβολής των φαινολικών ενώσεων για μεγαλύτερο χρόνο αποθήκευσης, τη μελέτη του πιθανού διαφορετικού οργανοληπτικού χαρακτήρα του οίνου τόσο σε διαφορετικές περιπτώσεις ζύμωσης όσο και σε διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης (ή και σε συνδυασμό τους). Επίσης θα μπορούσε να μελετηθεί η αντιοξειδωτική δράση των περιεχόμενων φαινολικών ενώσεων στο σταφύλι και τον οίνο *Μαυροκουντούρα Κύμης*. Αντίστοιχη έρευνα θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί για διαφορετικές ποικιλίες και κλώνους σταφυλιών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7ο: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Alcalde-Eon, C., Escribano-Bailón, M. T., Santos-Buelga, C., & Rivas-Gonzalo, J. C. 2006. Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing. *Analytica Chimica Acta*, 563, 238–254.
- Alén-Ruiz F., M.S. García-Falcón, M.C. Pérez-Lamela, E. Martínez-Carballo, J. Simal-Gándara. 2006. Determination of phenolic compounds in wines: Influence of bottle storage of young red wines on their evolution, *Food Chemistry* 105 (2007) 248–259
- Araceli Castañeda-Ovando, Ma. de Lourdes Pacheco-Hernández, Ma. Elena Páez-Hernández, José A. Rodríguez, Carlos Andrés Galán-Vidal. 2007. Chemical studies of anthocyanins: A review, *Food Chemistry* 113, 859–871.
- Bautista-Ortin, A. B., Fernandez-Fernandez, J. I., Lopez-Roca, J. M., & Gomez-Plaza, E. 2006. The effects of enological practices in anthocyanins, phenolic compounds and wine colour and their dependence on grape characteristics. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 546–552.
- Boido, E., Alcalde-Eon, C., Carrau, F., Dellacasa, E., Rivas-Gonzalo, J., 2006. Aging effect on the pigment composition and color of *Vitis vinifera* L. cv. Tannat wines. Contribution of the main pigment families to wine color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 6692–6704.
- Boulton Roger B. , Vernon L. Singleton, Linda F Bisson, Ralph E. Kunkee. 1996. Principles and Practices of Winemaking, The Chapman & Hall Enology Library.
- Boulton, R. (2001). The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52, 67–87.
- Burin Vívian Maria , Léa Luzia Freitas Costa, Jean Pierre Rosier, Marilde T. Bordignon-Luiz. 2010. Cabernet Sauvignon wines from two different clones, characterization and evolution during bottle ageing, *LWT - Food Science and Technology* 44, 1931-1938.
- Carlucci Michelle. 1909. Viala-Vermorel. Italy
- 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, 7883–7891.
- Chung Hyun-Jung, Jin-Ho Son, Eun-Young Park, Eun-Jeong Kim, Seung-Taik Lim. 2008. Effect of vibration and storage on some physico-chemical properties of a commercial red wine, *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 655–659
- Cliff Margaret A., Marjoire C. King, Jimmy Schlosser. 2006. Anthocyanin, phenolic composition, colour measurement and sensory analysis of BC commercial red wines, *Food Research*

Κεφάλαιο 7ο: Βιβλιογραφία

- International 40, 92–100
- Davis, A.J., Mazza, G., 1993. Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 41, 716–720.
- Downey, M.O., Mazza M, Kestic, M.P.. 2007. Development of a stable extract for anthocyanins and flavonols from grape skin, *American Journal of Enology and Viticulture*, 58(3), 358-364.
- F. Cosme, J.M. Ricardo-Da-Silva, O. Laureano. 2008, Tannin profiles of *Vitis vinifera* L. cv. red grapes growing in Lisbon and from their monovarietal wines, *Food Chemistry* 112, 197–204.
- Figueiredo-González M. , E. Martínez-Carballo, B. Cancho-Grande, J.L. Santiago, M.C. Martínez, J. Simal-Gándara. 2011. Pattern recognition of three *Vitis vinifera* L. red grapes varieties based on anthocyanin and flavonol profiles, with correlations between their biosynthesis pathways. *Food Chemistry* 130, 9–19.
- Figueiredo-González M., E. Martínez-Carballo, B. Cancho-Grande, J.L. Santiago, M.C. Martínez b, J. Simal-Gándara. 2011. Pattern recognition of three *Vitis vinifera* L. red grapes varieties based on anthocyanin and flavonol profiles, with correlations between their biosynthesis pathways, *Food Chemistry* 130, 9–19
- Fulcrand, H., Dueñas, M., Salas, E., Cheynier, V.. 2006. Phenolic reactions during winemaking and aging. *American Journal of Enology and Viticulture* 57 (3), 289-297.
- G. Gonzalez-Neves, G. Gil, L. Barreiro, G. Favre. 2009. Pigment profile of red wines cv. Tannat made with alternative winemaking techniques, *Journal of Food Composition and Analysis* 23, 447–454
- Garrido Jorge, Fernanda Borges. 2011. Wine and grape polyphenols-A chemical perspective, *Food Research International*, 44, 3134-3148.
- Giuseppe di Rovasenda. 1877. *Saggio di Ampelografia Universale (Essay on Universal Ampelography)*. Italy.
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E.. 2001. Anthocyanins. Characterization and measurement of anthocyanins by UV–Visible spectroscopy. In R. E. Wrolstad (Ed.), *Current protocols in food analytical chemistry*. New York: John Wiley & Sons.
- Glories, Y. .1984. *La couleur des vins rouges. 2e. Partie: mesure, origine et interpretation. Connaissance de la Vigne et du Vin*, 18, 253–271
- Gómez A. Molero, C. Pereyra López, E. Martinez de la Ossa. 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, 227-231.
- Gomez-Plaza E., Gil-Munoz R., Martinez A. and Lopez-Roca, J. M.. 1999. Color and phenolic

- compounds of a young red wine as discriminating variables of its ageing status. *Food Research International*, 32, 503–507
- 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(3), 736–741.
- Hagerman Ann E. . 2002. Tannin Chemistry.
- Hagerman, A.E. and Butler, L.G.. 1981. The specificity of proantho-cyanidin-protein interactions. *Journal of Biological Chemistry* 256, 4494–4497.
- Harbertson, J.F., Picciotto, E.A. and Adams, D.O.. 2003. Measurement of polymeric pigments in grape berry extracts and wines using a protein precipitation assay combined with bisulfite bleaching. *American Journal of Enology and Viticulture* 54, 301–306.
- Hartmann, H.T., D.E. Kester, and F.T. Davies, Jr.. 1990. *Plant Propagation Principles and Practices*, 5 Edition. Prentice Hall. Englewood Cliffs, New Jersey.
- Hellman Ed . 2007. *Winegrape Varieties and Clones*, Texas Cooperative Extension
- Herderich M.J. and P.A. Smith. 2005. Analysis of grape and wine tannins: Methods, applications and challenges, *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11 (2), 205-214.
- Heredla and Guzman-Chozas.1993. The color of wine: a historical perspective. I. spectral evaluations, *Journal of Food Quality*, 16 (6), 429-437.
- Kallithraka S., D. Kimb, A. Tsakiris, I. Paraskevopoulos, G. Soleas. 2011. Sensory assessment and chemical measurement of astringency of Greek wines: Correlations with analytical polyphenolic composition, *Food Chemistry* 126, 1953–1958.
- Kallithraka, S., Arvanitoyannis, I., Kefalas, P., I. Soufleros, E., El-Zajouli, A., & Psarra, E..2001. Instrumental and sensory analysis of Greek wines; implementation of Principal Component Analysis (PCA) for classification according to geographical origin. *Food Chemistry*, 73, 501–514.
- Kallithraka, S., Mohdaly, A. A. A., Makris, D., & Kefalas, P. 2005. Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp.): Association with antiradical efficiency. *Food Composition and Analysis*, 18, 375–386.
- Kapasakalidis, P. G., Rastall, R. A., & Gordon, M. H.. 2006. Extraction of polyphenols from processed black currant (*Ribes nigrum* L.) residues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(11), 4016–4021.
- Kennedy James A. . 2008. Grape and wine phenolics: Observations and recent findings, *Inv. Agr.* 35(2): 77-90.
- Kennedy James A., Gordon J. Troup, John R. Pilbrow, Donald R. Hutton, David Hewitt, Charles R.

Κεφάλαιο 7ο: Βιβλιογραφία

- hunter, Renata Ristic, Patrick G. Iland and Graham P. Jones. 2002. Development of seed polyphenols in berries from *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz, Australian Journal of Grape and Wine Research 6, 244–254.
- Keusch Peter. 2003. Anthocyanins as pH Indicators and Complexing Agents
- Killian, R.E., Ough, C.S., 1979. Fermentation esters-formation and retention as affected by Dermentation temperature. Am. J. Enol. Vitic. 30, 301– 305.
- Kunkee, R.E., 1984. Selection and modification of yeasts and lactic acid bacteria for wine fermentation. Food Microbiol. 1, 315– 322.
- Laghi Luca , Giuseppina P. Parpinello, Daniele Del Rio, Luca Calani, Alessia U. Mattioli, Andrea Versari. 2009. Fingerprint of enological tannins by multiple techniques approach, Food Chemistry 121, 783–788.
- Lee Gina , Maura Vincenza Rossi, Nina Coichev, Horacio Dorigan Moya, The reduction of Cu(II)/neocuproine complexes by some polyphenols: Total polyphenols determination in wine samples, Food Chemistry 126 (2011) 679–686.
- Levadoux Louis . 1951. La Sélection et L'Hybridation Chez La Vigne, Montpellier : Déhan
- Levi Maria Alice B., Ieda S. Scarminio, Ronei J. Poppi, Marcello G. Trevisan. 2003. Three-way chemometric method study and UV-Vis absorbance for the study of simultaneous degradation of anthocyanins in flowers of the *Hibiscus rosa-sinensis* species, Talanta 62, 299–305.
- Llaudy, Mc. Canals, R. Canals, Jm. Rozès, N. Arola, L. Zamora, F. 2004. New method for evaluating astringency in red wine. J. Agric. Food Chem. 52:742-746.
- Llobera, A., Canellas, J., 2007. Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. Food Chem. 1001, 659–666.
- Manhita Ana C. , Dora M. Teixeira, Cristina T. da Costa. 2006. Application of sample disruption methods in the extraction of anthocyanins from solid or semi-solid vegetable samples, Journal of Chromatography A, 1129 (1), 14-20.
- Merken, H. M., & Beecher, G. R. 2000. Measurement of food flavonoids by high performance liquid chromatography: A review. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(3), 577–599.
- Miller, G.L.. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar
- Monagas Maria , Carmen Gomez-Cordoves, Begona Bartolome. 2005. Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. during ageing in bottle, Food Chemistry 95 (2006) 405–412.
- Ortega-Regules, A., Romero-Cascales, I., Ros, J., Lopez, J. & Gomez-Plaza, E. 2006. A first approach towards the relationship between grape skin cell-wall composition and anthocyanin extractability, Analytica Chimica Acta, 563, 26–32.

- Pinga Lan, Antonio Pizzi, Zhou Ding Guo, Nicolas Brosse. 2011. Condensed tannins extraction from grape pomace: Characterization and utilization as wood adhesives for wood particleboard, *Industrial Crops and Products* 34, 907–914.
- Pomar, F., Novo, M. and Masa, A.. 2005. Varietal differences among the anthocyanin profiles of 50 red table grape cultivars studied by high performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*, 1094 (34).
- Preston, N.W. and Timberlake, C.F. 1981. Separation of anthocyanin chalcones by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, 214 (2): 222–228.
- Prieur, C., J. Rigaud, V. Cheynier, and M. Moutounet. 1994. Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochemistry* 36, 781-784.
- 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, 281–285.
- Ribereau-Gayon, P., & Stonestreet, E. (1965). Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bulletin de la Societe des Chimiques des France*, 9, 2649–2652.
- Ribichaud, J. L., & Noble, A. C. 1990. Astringency and bitterness of selected phenolic in wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 53, 343–353.
- Rice, A. C. 1976. Solid-waste generation and by-product recovery potential from winery residues. *American Journal of Enology and Viticulture*, 27(1), 21–26.
- Rigaud, J., Perez-Illarbe, J., Ricardo-da-Silva, J. M., & Cheynier, V. (1991). Micro method for the identification of proanthocyanidin using thiolysis monitored by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, 540, 401–405.
- Río Segade, S., Orriols, I., Grabí, V., & Rolle, L. 2009. Phenolic characterization of thirteen red grape cultivars from Galicia by anthocyanin profile and flavonol composition, *Journal International of Science de la Vigne et du Vin*, 43, 189–198.
- Rotter Ben . 2009. Pre-fermentation Cold Maceration (<http://www.brsquared.org/wine/Articles/coldsoak.htm>)
- S. Kallithraka, M.I. Salacha, I. Tzourou. 2009. Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage, *Food Chemistry*, 113 (2), 500-505.
- Santos-Buelga, C., Francia-Aricha, E. M., De Pascual-Teresa, S., & Rivas-Gonzalo, J. C. 1999. Contribution to the identification of the pigments responsible for the browning of anthocyanin–flavanol solutions. *European Food Research and Technology*, 209, 411–415.
- Sovova, H., Kucera, J., & Jez, J. 1994. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical Co₂. Extraction of grape oil. *Chemical Engineering Science*, 49(3), 415–420.

Κεφάλαιο 7ο: Βιβλιογραφία

- Stavrakakis, M. N.. 1982. Identification of grape cultivars (*Utis vinifera* L.) by pollen isozyme polymorphisms, Ph.D Thesis. Agric. Univ. of Athens, Athens.
- Tronchoni Jordi , Amparo Gamero, Francisco Noé Arroyo-López, Eladio Barrio and Amparo Querol. 2009. Differences in the glucose and fructose consumption profiles in diverse *Saccharomyces* wine species and their hybrids during grape juice fermentation.
- Vergara Carola, Claudia Mardones, Isidro Hermosín-Gutiérrez, Dietrich von Baer. 2010. Comparison of high-performance liquid chromatography separation of red wine anthocyanins on a mixed-mode ion-exchange reversed-phase and on a reversed-phase column, *Journal of Chromatography A*, 1217 (36), 5710-5717.
- Versari Andrea, Roger B. Boulton, Giuseppina P. Parpinello. 2007. A comparison of analytical methods for measuring the color components of red wines, *Food Chemistry* 106 397–402.
- Waterhouse Andrew. 2001. Folin-Ciocalteu Micro Method for Total Phenol in Wine
EOK 1108/82 (L 133)
- Κριμπάς, Βάσος Δ. 1943α. Ελληνική Αμπελογραφία. Αθήναι: Υπουργείο Γεωργίας
- Κουράκου-Δραγωνά Σ.. 1998. Θέματα Οινολογίας, Εκδόσεις: Τροχαλία.
- Σαρίκα-Χατζηνικολάου Μ.. 1998. Μορφολογικά γνωρίσματα χρησιμοποιούμενα στην ταξινόμηση των φυτών. Ταξινομική αξία των διαφόρων μορφολογικών χαρακτήρων: ρίζα, βλαστός, φύλλα, άνθος, ταξιανθίες, καρποί, Πρακτικά Συνεδρίου: Συστηματική βοτανική από την θεωρία στην πράξη, Αθήνα, 7-8 Φεβρουαρίου 1998.
- Σταυρακάκης Μανόλης Ν.. 2010. Αμπελογραφία. Εκδόσεις: Τροπή.
- Τσακίρης Α.. 1988. Οινολογία, Εκδόσεις: Τρίαίνα.
- Τσιμογιάννης Δ.. 2008. Διδακτορική διατριβή, Αντιοξειδωτική δράση φλαβονοειδών ενώσεων και εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών: Αναγωγή ελευθέρων ριζών και Προστασία Φυτικών Ελαίων, Αθήνα.

www.shutterstock.com

dragoart.com

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ANOVA Tables (Statistica)

Αλκοολικοί Βαθμοί

Ζύμη	{1} 9,9750	{2} 9,7250	{3} 9,5500
1		0,375564	0,164436
2	0,375564		0,529775
3	0,164436	0,529775	

Πτητική Οξύτητα

Ζυμη	1) 0,16500	2) 0,18000	3) 5,2275
1		0,994450	0,044798
2	0,994450		0,038865
3	0,044798	0,038865	

dA%

Ζύμη	{1} 41,853	{2} 43,826	{3} 41,680
1		0,646835	0,967794
2	0,646835		0,632513
3	0,967794	0,632513	

CI

Ζύμη	{1} ,52533	{2} ,42878	{3} ,52530
1		0,240110	0,999777
2	0,240110		0,222624
3	0,999777	0,222624	

E

Ζύμη	{1} 57,285	{2} 57,658	{3} 58,419
1		0,629144	0,181640
2	0,629144		0,336449
3	0,181640	0,336449	

Όπου 1-Blank, 2-Zymaflore, 3-Fermol