



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ **AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS**

**Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων - Τμήμα
Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής**

Δ.Π.Μ.Σ. «Αμπελουργία – Οινολογία»

**«Αξιολόγηση του οινολογικού δυναμικού επιλεγμένων αμπελοτεμαχίων Αγιοργίτικου
στην Νεμέα.»**

Μεταπτυχιακή διατριβή

Παπαγιαννακόπουλος Παναγιώτης

Επιβλέπουσα: Επίκουρος Καθηγήτρια Σ. Καλλίθρακα

Αθήνα 2014

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

**Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων - Τμήμα
Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής
Δ.Π.Μ.Σ. «Αμπελουργία – Οινολογία»**

Εργαστήριο Οινολογίας

**“ Αξιολόγηση του οινολογικού δυναμικού επιλεγμένων
αμπελοτεμαχίων Αγιωργίτικου στην Νεμέα.”**

Μεταπτυχιακή διατριβή

Παπαγιαννακόπουλος Παναγιώτης

Μέλη τριμελούς εξεταστικής επιτροπής:

ΚΑΛΛΙΘΡΑΚΑ ΣΤΑΜΑΤΙΝΑ, Επίκουρος Καθηγήτρια Οινολογίας, Τμήματος
Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

ΚΟΤΣΕΡΙΑΔΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ, Επίκουρος Καθηγητής Οινολογίας, Τμήματος Επιστήμης
και Τεχνολογίας Τροφίμων Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

ΜΠΙΝΙΑΡΗ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ, Επίκουρος Καθηγήτρια Αμπελουργίας, Τμήματος
Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

Περίληψη

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν τα φαινολικά συστατικά των ραγών της ποικιλίας *Vitis vinifera* Αγιωργίτικο. Οι αμπελώνες που συλλέχθηκαν τα δείγματα βρίσκονται εντός της αμπελουργικής ζώνης ΠΟΠ Νεμέα. Κατά την διάρκεια της μελέτης επιλέχθηκαν παράμετροι που σχετίζονται με το αμπέλι, το έδαφος, το υψόμετρο την κλίση του εδάφους και την ηλιοφάνεια έτσι ώστε να αποδίδεται μια ακριβή «εικόνα ποιότητας» πολύ κοντά στο χρόνο συγκομιδής. Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε ράγες που προήλθαν από τον τρύγο της χρονιάς 2013, καθώς και σε εκχυλίσματα φλοιών και γιγάρτων των ραγών. Πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις προσδιορισμού του φαινολικού δυναμικού των ραγών, προσδιορισμού της συγκέντρωσης των ολικών φλαβονολών και ανθοκυανών καθώς και εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητάς τους. Επίσης εφαρμόστηκε ανάλυση HPLC για τον προσδιορισμό των επιμέρους ανθοκυανών σε φλοιούς των ραγών και σε εκχυλίσματα φλοιών και γιγάρτων για τον προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών. Τα αποτελέσματα της μελέτης ανέδειξαν συγκεκριμένους αμπελώνες οι οποίοι υπερέχουν σε ένα σύνολο χαρακτηριστικών, όπως συγκέντρωση σε ανθοκυάνες, φαινολικό δυναμικό, αντιοξειδωτική ικανότητα, τα οποία είναι καθοριστικής σημασίας για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των και την ποιότητα των παραγόμενων οίνων.

Λέξεις κλειδιά: Νεμέα, Αγιωργίτικο, φαινολικές ενώσεις, ανθοκυάνες, ράγα, φλοιοί, γιγάρτα.

Abstract

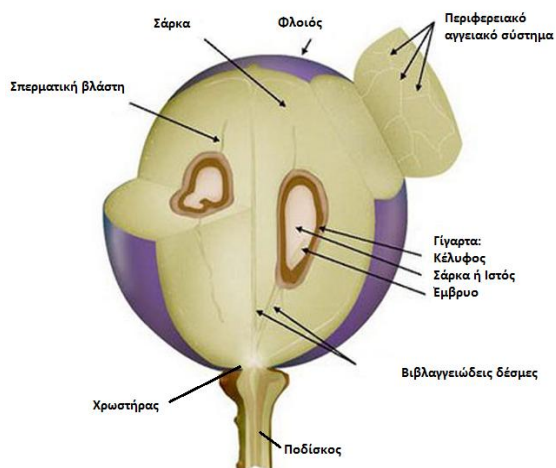
In the current study it was investigated the phenolic composition of *Vitis vinifera* var. "Agiorgitiko". The experimental vineyard is located in the region P.D.O Nemea. The selection of the vineyards was based on different parameters that are related with grape and wine quality such as type of soil, altitude, and slope. Anthocyanin extractability and seed maturity were determined in grapes of the 2013 vintage. In addition, various analytical methods (color parameters, anthocyanin and phenolic content, antioxidant activity, tannin concentration) were applied to skin and seed extracts. Individual anthocyanins and oligomeric phenolic compounds were determined by HPLC. The results of this study varied among the samples of the different vineyards in terms of their phenolic composition.

Key words: Nemea, Agiorgitiko, phenol composes, anthocyanins, grape, skin, seed.

Ευχαριστίες

Για την παρούσα διπλωματική εργασία θα ήθελα να ευχαριστήσω για την ανάθεση του θέματος τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Γ. Κοτσερίδη και την Επίκουρο Καθηγήτρια κα.Σ.Καλίθρακα. Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον κ. Γ. Κοτσερίδη, την κα.Σ.Καλίθρακα και τη κα.Α.Μπινιάρη , οι οποίοι, πέραν των πανεπιστημιακών γνώσεων, συνέβαλλαν στην διαμόρφωση του οινολογικού μου και αμπελουργικό μου χαρακτήρα. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Επίκουρο Καθηγήτρια κα. Σ. Καλίθρακα για την επίβλεψη της μεταπτυχιακής μου εργασίας, την πολύτιμη καθοδήγησή της για την εκπόνησή της. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ.Σ.Πετρόπουλο υποψήφιο διδάκτωρ του τμήματος Οινολογίας για την ουσιαστική βοήθεια στην εκπόνηση της εργασίας μου.

1. Εισαγωγή



Η μορφολογία της ράγας :

Η ράγα αποτελείται από το φλοιό (10-20%), το σαρκώδες μέρος ή ράγα (74-87%) και τα γίγαρτα (3-6%). Τα ποσοστά του εκάστοτε μέρους κυμαίνονται ανάλογα με την ποικιλία του σταφυλιού, τις εδαφοκλιματικές συνθήκες και το βαθμό ωρίμανσης

Εικόνα 1: Σχηματική απεικόνιση της ράγας της σταφυλής

(Πηγή: James A. Kennedy. (2008). *Grape and wine phenolics: Observations and recent findings*. *Cien. Inv. Agr.* 35(2): 107-120. *Η εικόνα επεξεργάστηκε ηλεκτρονικά και μεταφράστηκε στα ελληνικά

Ο φλοιός αποτελείται από τα εξής: την εφυμενίδα, την επιδερμίδα και το υπόδερμα, καθένα από τα οποία αποτελείται από μία ή περισσότερες στοιβάδες κυττάρων

Η εφυμενίδα εντοπίζεται στο εξωτερικό μέρος του φλοιού και καλύπτεται από κηρώδεις ουσίες. Οι ουσίες αυτές λειτουργούν ως παρεμποδιστές κατά της υπερβολικής εξάτμισης του χυμού της ράγας, συντελούν στην ταχεία απομάκρυνση της βροχής και δεν επιτρέπουν την είσοδο στους διάφορους μικροοργανισμούς, οι οποίοι μεταφέρονται από τον αέρα και οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τις ζυμώσεις του γλεύκους και του οίνου

Η επιδερμίδα αποτελείται από μία στοιβάδα κυττάρων και είναι το στρώμα του φλοιού στο οποίο περιέχονται αρωματικές και πρόδρομες αρωματικές ενώσεις, χαρακτηριστικά της ποικιλίας του σταφυλιού. Το υπόδερμα αποτελείται από 6-10 στοιβάδες κυττάρων, από τις οποίες οι 2-3 πρώτες περιέχουν τις ανθοκυάνες ή τις φλαβόνες, χρωστικές ουσίες στις οποίες οφείλεται το χρώμα των ερυθρών ή των λευκών σταφυλιών αντιστοίχως (Κοτσερίδης, 2005^α)

Η ράγα τροφοδοτείται από το φυτό χάρη σε ένα δίκτυο από βιβλαγγειώδεις δέσμες. Το αγγειακό αυτό σύστημα βρίσκεται σε επικοινωνία με τα φύλλα και τις ρίζες μέσω

ανάλογων αγγειακών δεσμίδων, με τις οποίες η ράγα προσλαμβάνει ειδικότερα τα σάκχαρα από τα φύλλα και τις ανόργανες ουσίες από τις ρίζες (Κουράκου, 1998)

Η χημική σύσταση της σάρκας, η οποία αποτελεί συστατικό του γλεύκους, είναι κατά ένα μεγάλο μέρος ίδια με τη σύστασή του: 65-80% H₂O, 10-30% ζάχαρα και 5-6% άλλες ουσίες. Αυτές οι ουσίες είναι οργανικά οξέα (ελεύθερα και δεσμευμένα), ανόργανα συστατικά, αζωτούχες ουσίες, πηκτινικές ύλες, αρωματικές ουσίες, χρωστικές ουσίες και ταννίνες (Κοτσερίδης, 2005^α).

Το γίγαρτο είναι ο σπόρος της αμπέλου. Η ωθήκη του άνθους σχηματίζεται από την ένωση δύο καρπόφυλλων, το κάθε ένα από τα οποία περιέχει δύο σπερματικές βλάστες. Κάθε ράγα πρέπει να περικλείει θεωρητικά 4 γίγαρτα. Συνήθως απαντώνται 1-3, ενώ υπάρχουν και ράγες που δεν περικλείουν γίγαρτα. Ο αριθμός των γιγάρτων ανά ράγα επηρεάζεται από την ποικιλία και τις κλιματικές συνθήκες κατά την ανθοφορία. Το γίγαρτο αποτελείται από τη σάρκα, που προστατεύεται εξωτερικά από το κέλυφος ή επισπέρμιο και εμπεριέχει το έμβρυο (Κουράκου, 1998).

Αρχικά λαμβάνει χώρα η φάση της ταχείας ανάπτυξης (ή αλλιώς το στάδιο του πράσινου σταφυλιού ή της πράσινης ράγας), η οποία αρχίζει από την καρπόδεση .

Διαρκεί από 45 έως 65 ημέρες, ανάλογα με την ποικιλία και τις κλιματολογικές συνθήκες οξέων .Σε όλο αυτό το διάστημα, οι ράγες είναι πράσινες λόγω της άφθονης χλωροφύλλης που υπάρχει στο φλοιό τους, έχουν σκληρή υφή και αναπτύσσονται με βραδύ ρυθμό .Οι αυξητικές ορμόνες (κυτοκινίνες και γιβεργιλίνες) επιδρούν άμεσα στον αριθμό των γιγάρτων. Η κυτταρική αύξηση ξεκινά 2 εβδομάδες μετά την γονιμοποίηση και συνεχίζεται μέχρι το τέλος της πρώτης φάσης. Κατά τη διάρκεια της φάσης αυτής η χλωροφύλλη είναι η επικρατούσα χρωστική. Στις ράγες εκδηλώνεται έντονη μεταβολική δραστηριότητα, η οποία χαρακτηρίζεται από αυξημένη αναπνευστική δραστηριότητα και συσσώρευση οξέων (Ribéreau-Gayon *et. al.*, 2006).

Στη συνέχεια ακολουθεί η δεύτερη φάση της ανάπτυξης, που ονομάζεται περκασμός. Ο περκασμός σηματοδοτείται από την αλλαγή του χρώματος στη ράγα (στις ερυθρές ποικιλίες) και τον διάφανο φλοιό στις λευκές ποικιλίες (Ribéreau-Gayon *et. al.*, 2006). Το πράσινο χρώμα των ραγών στις μεν λευκές ποικιλίες περνάει στο κίτρινο, στις δε ερυθρές περνάει πρώτα στο ερυθρό ανοικτό και στη συνέχεια στο βαθύ ερυθρό. Για το σύνολο των ραγών, όμως, είναι ένα έντονο φαινόμενο που μπορεί να διαρκέσει από 8 έως 15 μέρες ή και περισσότερο ανάλογα με το αν η άνθηση είναι αργή. Κατά τη διάρκειά της είναι χαρακτηριστική η εξάντληση των ουσιών που συντίθενται κατά την

ωρίμανση και η αύξηση της συγκέντρωσης του αμπισικού οξέος (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).



Εικ.2 Απεικόνιση του σταδίου του περκασμού(www.123rf.com)

Η κυτταρική αύξηση συνεχίζεται και συνοδεύεται από ποικίλες φυσιολογικές μεταβολές. Η αναπνευστική ένταση μειώνεται, ενώ συγκεκριμένες ενζυματικές δράσεις αυξάνονται με ταχύ ρυθμό. Η περίοδος αυτή διαρκεί από 35 έως 55 ημέρες κατά τη διάρκεια των οποίων συντίθενται τα σάκχαρα, συσσωρεύονται κατιόντα όπως το κάλιο, συντίθενται αμινοξέα και φαινολικά συστατικά, ενώ η συγκέντρωση του μηλικού οξέος μειώνεται θεαματικά, όσο αυξάνεται η συγκέντρωση των σακχάρων στο χυμό της σάρκας των ραγών. Το μέγεθος της ράγας εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό κατά τις διαδικασίες αυτές. (Κουράκου 1998)

Επίσης υπάρχει σημαντικός συσχετισμός ανάμεσα στις διαστάσεις μιας ώριμης ράγας και του αριθμού των γιγάρτων που περιέχει. Στο σταφύλι διακρίνουμε τα ακόλουθα είδη ωριμότητας: **Φυσιολογική ή βιολογική ωριμότητα** – που χαρακτηρίζεται από την ικανότητα των γιγάρτων να βλαστήσουν. **Βιομηχανική ωριμότητα** – που αντιστοιχεί στο ανώτατο απόλυτο ποσό σακχάρων των ώριμων σταφυλιών. **Τεχνολογική ωριμότητα** – που αντιστοιχεί στη στιγμή κατά την οποία το σταφύλι μιας ποικιλίας

δίνει γλεύκος. Πολυφαινολική ωριμότητα – που περιλαμβάνει όχι μόνο την ολική συγκέντρωση των συστατικών της οικογένειας των πολυφαινολών, αλλά και τη δομή τους και την ικανότητά τους να εκχυλίζονται από τα σταφύλια κατά την αλκοολική ζύμωση



Εικόνα 3. Φάσεις ανάπτυξης των ραγών.

2. Πολυφαινολικά Συστατικά.

Τα πολυφαινολικά συστατικά παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην οινολογία. Θεωρούνται υπεύθυνα για όλα τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που αποδίδουν στις ερυθρές και λευκές ποικιλίες

Οι φαινόλες αποτελούν μία μεγάλη και σύνθετη ομάδα ενώσεων, εξίσου σημαντικές στους λευκούς και ερυθρούς οίνους, αλλά εμφανίζονται στους λευκούς οίνους σε πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις. Η σημαντικότητα αυτών των ενώσεων καθορίζει τόσο τα σταφύλια όσο και τους οίνους ποιότητας. Αυτά τα μόρια εκχυλίζονται από διάφορα μέρη της ράγας και η δομή τους τροποποιείται κατά την παλαίωση και τη συντήρηση σε

βαρέλι, σε δεξαμενή ή σε φιάλη, ανάλογα με τις συνθήκες (P. Ribéreau-Gayon *et. al.*, 2006).

Φαινόλες ονομάζονται τα υδροξυλιωμένα παράγωγα των αρωματικών υδρογονανθράκων, τα οποία περιέχουν ένα ή περισσότερα υδροξύλια σε αντικατάσταση ισάριθμων υδρογόνων, συνδεδεμένων με τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου (βενζολικός)(Κουράκου,19982). Διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: στις μη φλαβονοειδείς φαινόλες και στις φλαβονοειδείς φαινόλες.

- ✓ Οι μη φλαβονοειδείς φαινόλες (μονομοριακές φαινόλες) απαντούν ευρύτατα τους φυτικούς ιστούς και σε διάφορα φυτικά προϊόντα. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα είναι το γαλλικό και το καφεϊκό οξύ από τις βασικές ενώσεις του βενζοϊκού και κινναμωμικού οξέος αντίστοιχα με επιπρόσθετες ομάδες –OH.
- ✓ Οι φλαβονοειδείς φαινόλες (πολυμοριακές φαινόλες) έχουν σκελετό C6-C3-C6 και αποτελούνται από δύο βενζολικούς δακτυλίους (A και B) συνδεδεμένα με ένα ετεροκυκλικό δακτύλιο πυρυλίου, που περιέχει οξυγόνο. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν οι πολυμοριακές φαινόλες που προέρχονται από την ίδια μητρική ένωση που είναι η φλαβόνη και διακρίνονται σε δύο μεγάλες ομάδες: στα παράγωγα της φλαβόνης (κυρίως φλαβονοειδή)και στα παράγωγα του κατιόντος φλαβυλίου (ανθοκυάνες ή ανθοκυανίνες). Τα φλαβονοειδή χαρακτηρίζονται από ένα βασικό σκελετό με 15 άτομα άνθρακα του τύπου της φλαβόνης. Στην κατηγορία αυτή υπάγονται οι φλαβονόλες, οι φλαβονόνες, οι φλαβονονόλες, οι κατεχίνες, οι προκυανιδίνες, οι ανθοκυάνες και οι ταννίνες, που είναι τα πολυμερισμένα τους παράγωγα (Κοτσερίδης, 2005^β).

2.1 Μη Φλαβονοειδείς Φαινόλες

Στις μη φλαβονοειδείς φαινόλες υπάγονται τα φαινολικά οξέα που είναι μονομοριακά φαινολικά παράγωγα και διακρίνονται στα ακόλουθα:

1. Τα βενζοϊκά οξέα (απλή μονοκυκλική φαινόλη) δε βρίσκονται ελεύθερα στη σταφυλή, αλλά με μορφή σύνθετων χημικών ενώσεων στις οποίες συμμετέχουν και ανθοκυάνες. Συμμετέχουν επίσης στη δομή των ταννινών, αποτελώντας ένα από τα κύρια συστατικά τους. Η σταφυλή περιέχει κυρίως το γαλλικό οξύ, το οποίο βρίσκεται συνήθως, υπό τη μορφή εστέρων των 3-φλαβονολών (κατεχίνες).
2. Κινναμωμικά οξέα (ένας αρωματικός δακτύλιος πάνω στον οποίο είναι συνδεδεμένη μια πλευρική αλυσίδα τριών ανθράκων) δε βρίσκονται επίσης ελεύθερα στη σταφυλή, αλλά απαντώνται υπό μορφή ενώσεων με τις ανθοκυάνες και με το τρυγικό οξύ.

Τα στυλβένια (ενώσεις με δύο βενζολικούς δακτυλίους που συνδέονται συνήθως με ένα αιθάνιο ή πιθανώς με μία αιθυλενική αλυσίδα) συναντώνται στο σταφύλι, τον οίνο και το ξύλο δρυός.

Από τα στυλβένια αξίζει να αναφερθεί η ρεσβερατρόλη (3,5,4-τρι-υδροξυ-στυλβένιο) που βρίσκεται υπό τη μορφή *trans*, καθώς και το παράγωγό της με τη γλυκόζη. Θεωρείται το σπουδαιότερο στυλβένιο της σταφυλής, καθώς στην εν λόγω ουσία αποδίδονται θεραπευτικές, αντικαρκινικές και αντιθρομβωτικές ιδιότητες, αλλά φαίνεται πως παίζει ρόλο και στην αντίσταση των σταφυλών στην προσβολή τους από κρυπτογαμικές ασθένειες, όπως π.χ. ο *Botrytis cinerea*. (Jeandet *et al.*, 1995).

Η ρεσβερατρόλη βρίσκεται μόνο στους φλοιούς της σταφυλής, συνεπώς μόνο σε ερυθρούς οίνους και εκχυλίζεται κυρίως κατά την αλκοολική τους ζύμωση σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 1 έως 3 mg/L, ανάλογα την ποικιλία (Jeandet *et al.*, 1995)

2.2 Φλαβονοειδείς Φαινόλες

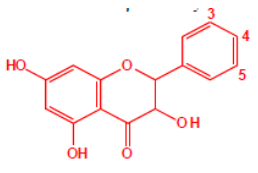
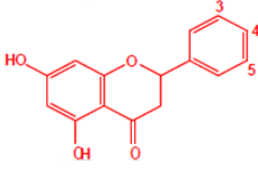
2.2.1 Φλαβονόλες

Οι φλαβονόλες αποτελούν τις κίτρινες χρωστικές των φυτών και βρίσκονται στους φλοιούς των σταφυλών τόσο ερυθρών όσο και των λευκών. Επίσης, περιέχονται στην ίδια συγκέντρωση σε λευκές και ερυθρές ποικιλίες (Σουφλερος 2000). Η περιεκτικότητα των φλαβονολών στις σταφυλές ποικίλει από 10–100 mg/Kg ραγών. Στους λευκούς οίνους, λόγω της απουσίας φλοιών κατά την οινοποίηση, απαντούν στην ποσότητα των 1-3 mg/L ανάλογα με την ποικιλία της σταφυλής (P. Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). Σχηματίζονται με την προσκόλληση στη θέση -3 του κεντρικού δακτυλίου (βενζοπυρόνη) ενός μορίου μονοζαχαρίτη (κυρίως γλυκόζης) ή ενός μορίου γλυκουρονικού οξέος. Στον πίνακα 1 παρουσιάζεται ο χημικός τύπος της άγλυκης μορφής των τεσσάρων βασικών φλαβονολών της σταφυλής.

2.2.2 Φλαβανόνες

Οι φλαβανόνες διαφέρουν από τις φλαβονόλες ως προς τη δομή: στη θέση -3 του μορίου της φλαβονόλης υπάρχει ένα δραστικό -OH. Αυτή η διαφορά είναι υπεύθυνη για τη σημασία της κάθε ομάδας στη φύση. Οι φλαβανόνες είναι ελάχιστα διαδεδομένες στη φύση και τα παράγωγά τους δεν είναι συστατικά των σταφυλιών. Ανήκουν στα φαινολικά συστατικά του ξύλου της δρυός και, ως εκ τούτου, η παρουσία τους έχει διαπιστωθεί μόνο σε οίνους που παλαιώσαν σε βαρέλια (Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Στον πίνακα παρουσιάζονται οι δύο σημαντικότερες φλαβανόνες.

Πίνακας 1: Οι συνηθέστερες φλαβονόλες και φλαβανόνες σε οίνους
(Πηγή: Κουράκου-Δραγώνα, 1998)

Βασική ένωση	Βασικός τύπος	Αγλυκο φαινολικό παράγωγο	Θέση πρόσθετων ομάδων	
			-OH	-OCH ₃
Φλαβονόλες		Καιμπερολόλη	4	
		Κερκετίνη	3, 4	
		Μυρικετίνη	3, 4, 5	
Φλαβανόνες		Ναριγγενίνη	4	
		Εσπεριτίνη	3	4
		Εριδιοκτυόλη	3, 4	

2.2.3 Φλαβανονόλες

Οι ενώσεις που ανήκουν στην οικογένεια των φλαβανονολών είναι γλυκοζίτες και ταυτοποιήθηκαν σε φλοιούς λευκών ποικιλιών. Πρόκειται για τη διυδροκερκετίνη και τη διυδροκαιμπερολόλη και έχουν πολύ ανοιχτό κίτρινο χρώμα. Οι φλαβανονόλες απαντούν επίσης και στους βοστρύχους (Κοτσερίδης, 2005^b).

2.2.4 Κατεχίνες

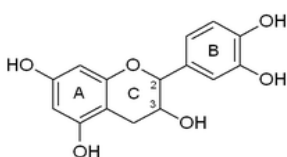
Το παράγωγο της φλαβονόλης που έχει τον κεντρικό ετεροκυκλικό δακτύλιο υδρογονομένο λέγεται φλαβαν-3-όλη. Το πιο γνωστό παράγωγό της είναι η κατεχίνη, που έχει δύο ασύμμετρα άτομα άνθρακα (C₂ και C₃), με αποτέλεσμα να δίνει 2 ισομερή trans, τις επονομαζόμενες κατεχίνες, και 2 ισομερή cis, τις λεγόμενες επικατεχίνες.

Οι πιο σταθερές μορφές που απαντούν στις σταφυλές και τους οίνους είναι η (+) - κατεχίνη και η (-) επικατεχίνη (Ribéreau-Gayon *et. al.* 2006). Τα μόρια κατεχίνης δε συγκαταλέγονται στις ταννίνες, καθώς το μοριακό τους βάρος είναι πολύ μικρό (292), με αποτέλεσμα να έχουν περιορισμένες ιδιότητες σύνδεσης με πρωτεΐνες.

Το μοριακό βάρος της κατεχίνης, όμως, είναι αρκετά μεγάλο ώστε να κάνει σταθερούς δεσμούς με τις πρωτεΐνες. Εξαιτίας των δύο -OH στον πλευρικό βενζολικό δακτύλιο,

όταν θερμανθεί σε όξινο περιβάλλον πολυμερίζεται προς ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους (π.χ. φλοιοβαφένια).

Αρχικά προκύπτει ένα κίτρινο διάλυμα, που στη συνέχεια σκουραίνει σιγά-σιγά ανάλογα με το βαθμό πολυμερισμού και μπορεί να φτάσει μέχρι καστανόμαυρο. Σε τέτοιου φύσεως οξειδώσεις και συνενώσεις οφείλεται το «καφέτιασμα» των οίνων. (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).



Εικόνα 4: Χημικός τύπος κατεχίνης

(Πηγή: Παραδόσεις Χημείας Οίνου, Καλλίθρακα)

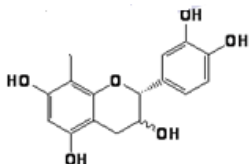
Οι κατεχίνες απαντούν κυρίως στους φλοιούς και στα γίγαρτα των ραγών. Στους λευκούς οίνους η συγκέντρωσή τους κυμαίνεται μεταξύ 10-50 mg/L, ενώ στους ερυθρούς μπορεί να φθάσει 200 mg/L (Zoecklein et al., 1995).

2.2.5 Προκυανιδίνες

Οι φυσικές προκυανιδίνες είναι αφυδρογονωμένες κατεχίνες. Όσο οι αφυδρογονώσεις συνεχίζονται τόσο πιο συμπτυκωμένες προκυανιδίνες σχηματίζονται. Στις ράγες έχουν ανιχνευτεί μέχρι και τετραμερείς προκυανιδίνες. Στους νέους οίνους το μοριακό βάρος τους είναι γύρω στο 600 (σπάνια 900), ενώ κατά την ωρίμανση και παλαίωση του οίνου οι προκυανιδίνες ενώνονται μεταξύ τους αλλά και με άλλα μόρια, ώστε να σχηματίζονται πολυμερή μεγαλύτερου μοριακού βάρους (2000-3000). Κατά συνέπεια οι προκυανιδίνες αποτελούν τον πρόδρομο των συμπτυκωμένων ταννινών (Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982).

Όπως αναφέρει η Κουράκου (1998) σε έρευνες για την παρουσία κατεχινών και προκυανιδινών σε σταφύλια οχτώ ποικιλιών *vitis vinifera* διαπιστώθηκε πως από όλα τα μέρη της σταφυλής, το μεγαλύτερο ποσοστό κατεχινών (Μ.Ο. 65%) και προκυανιδινών (Μ.Ο. 56%) βρίσκεται στα γίγαρτα. Οπότε, από την εν λόγω έρευνα συμπεραίνεται πως ο χυμός των σταφυλών δεν περιέχει ευοξειδωτά υποστρώματα και κατά συνέπεια το γλεύκος τα αποκτά κατά την επεξεργασία του (θλιπτήρια, πιεστήρια). Όσον αφορά στους ερυθρούς οίνους συμπεραίνεται πως οι πρόδρομοι των συμπτυκωμένων ταννινών

που καθορίζουν τη δομή και το «σώμα», αλλά και την αντοχή τους στο χρόνο, βρίσκονται στα γίγαρτα.



Εικόνα 5: Χημικός Τύπος Προανθοκυανιδίνης
(Πηγή: Παραδόσεις Χημείας Οίνου, Καλλίθρακα)

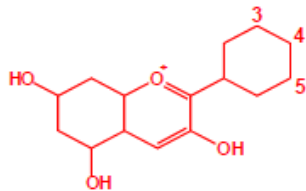
2.2.6 Ανθοκυάνες

Οι ανθοκυάνες είναι τα χρωμοφόρα μόρια που προσδίδουν στις ερυθρές ποικιλίες και στους παραγόμενους από αυτές οίνους χαρακτηριστικό κόκκινο χρώμα. Στα κύτταρα συνυπάρχουν με άλλα φαινολικά συστατικά, όπως φαινολικά οξέα και φλαβονόλες, τα οποία επιδρούν στο χρώμα τους, μέσω αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα. Στις περισσότερες ποικιλίες οι ανθοκυάνες βρίσκονται μόνο στον φλοιό και όχι στη σάρκα της ράγας. Η συγκέντρωσή τους διαφοροποιείται από το κατώτερο προς το ανώτερο στρώμα φλοιού της ράγας (Amrani-Joutei, 1993). Είναι επίσης παρούσες σε μεγάλες ποσότητες στα φύλλα, κυρίως κατά το τέλος της περιόδου ανάπτυξης (Κοτσερίδης, 2005^β). Στις περισσότερες λευκές ποικιλίες, οι ανθοκυάνες απουσιάζουν τελείως (π.χ. Sauvignon blanc, Chardonnay), ενώ σε ορισμένες απαντούν σε ίχνη (π.χ. Pinot blanc, Ugni blanc) (Ribéreau-Gayon *et. al.*, 2006). Από τον ποσοτικό προσδιορισμό των ολικών ανθοκυανών στους φλοιούς των πιο διαδεδομένων ελληνικών ερυθρών ποικιλιών προέκυψε ότι αυτές κυμαίνονται από 100 mg μέχρι 1.500 mg/Kg ραγών (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

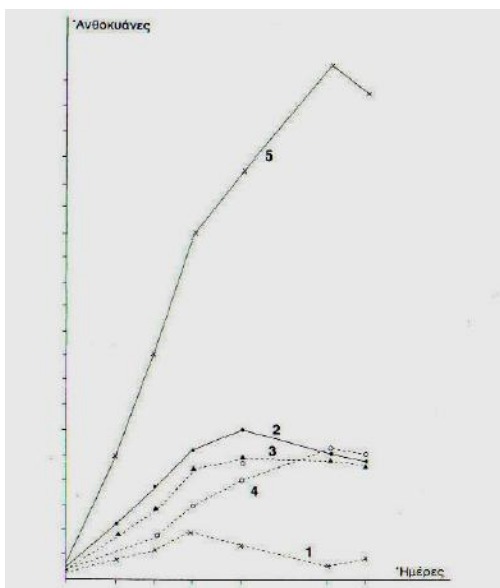
Οι ανθοκυάνες είναι γλυκοζίτες των οποίων το άγλυκο μέρος έχει τη δομή του φλαβυλίου. Στα σταφύλια και στους οίνους απαντούν, ανάλογα με την υποκατάσταση του πλευρικού δακτυλίου, πέντε είδη ανθοκυανών (κυανιδίνη, παιονιδίνη, δελφινιδίνη, πετουινιδίνη, μαλβιδίνη) Πίνακας 2. Αυτά τα μόρια είναι πολύ πιο σταθερά υπό μορφή γλυκοζιτών (ανθοκυάνες) από ότι υπό μορφή άγλυκου (ανθοκυανιδίνες). Στις σταφυλές του *Vitis vinifera*, και συνεπώς στους αντίστοιχους οίνους, βρίσκονται μόνο μονογλυκοζίτες των ανθοκυανιδινών καθώς και οι ακυλιωμένες τους μορφές, με τα οξέα π-κουμαρικό, καφεϊκό και οξικό (Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982.)

Πίνακας 2: Οι ανθοκυανιδίνες της σταφυλής

(Πηγή: Χαρβαλιά και Μπενά-Τζούρου, 1982)

Βασική ένωση	Βασικός τύπος	Αγλυκο φαινολικό παράγωγο	Θέση πρόσθετων ομάδων	
			-OH	-OCH ₃
		Κυανιδίνη	3	
		Δελφινιδίνη	3, 5	
		Μαλβιδίνη		3, 5
		Πετουνιδίνη	5	3
		Παιονιδίνη		3

Το χρώμα των ανθοκυανιδινών εξαρτάται από το pH, το SO₂, τη μοριακή τους δομή, την υποκατάσταση του πλευρικού δακτυλίου και την ένωση με τη γλυκόζη. Πράγματι, αφ' ενός η υποκατάσταση του πλευρικού δακτυλίου μετατοπίζει το μέγιστο της απορρόφησης σε μεγαλύτερα μήκη κύματος (φαινόμενο βαθυχρωμίας) αφ' ετέρου η ένωση με τη γλυκόζη και η ακυλίωσή της μετατοπίζουν το μέγιστο της απορρόφησης σε μικρότερα μήκη κύματος (φαινόμενα υψιχρωμίας). Ο σχηματισμός των παραπάνω ενώσεων είναι ένας βασικός παράγοντας διαφοροποίησης του χρώματος των ερυθρών σταφυλιών, αν και όλες οι ποικιλίες περιέχουν βασικά τις ίδιες ανθοκυάνες με μικρές διαφορές στα ποσοστά τους. Πράγματι, μεταξύ των πέντε ανθοκυανών που απαντούν σε όλες τις ποικιλίες, κυριαρχεί ο μονογλυκοζίτης της μαλβιδίνης, σε ποσοστό μόλις 50% (Sangiovese) μέχρι και 90% (Grenache). Μπορούμε, λοιπόν, να θεωρήσουμε ότι ο μονογλυκοζίτης της μαλβιδίνης αποτελεί τη βάση του χρώματος των ερυθρών σταφυλιών και οίνων. Αντίθετα η ακυλιωμένη μορφή του διαφέρει από ποικιλία σε ποικιλία (Κοτσερίδης, 2005^β).



Εικόνα 6: Ενδεικτικό σχήμα των καμπυλών μεταβολής των ανθοκυανών κατά την πορεία ωρίμανσης των σταφυλών από τον περκασμό μέχρι την ωριμότητα. Μονογλυκοζίτες-3 της κυανιδίνης(1), δελφινιδίνης(2), πετουνιδίνης(3), παιονιδίνης(4) και μαλβιδίνης(5). (Πηγή: Κουράκου-Δραγώνα, 1998)

2.2.7 Ταννίνες

Οι ταννίνες απαντούν στους φλοιούς (12%), στα γίγαρτα (65%), στους βόστρυχους (22%) και στη σάρκα (μόλις 1%) της σταφυλής. Είναι, εξ' ορισμού, ουσίες που δημιουργούν σταθερούς δεσμούς με πρωτεΐνες και άλλα πολυμερή, όπως οι πολυσακχαρίτες. Από χημικής άποψης, οι ταννίνες είναι σχετικά ογκώδη μακρομόρια με φαινολικό δακτύλιο, που παράγονται από τον πολυμερισμό στοιχειωδών μακρομορίων με φαινολική ομάδα. Ο μετασχηματισμός τους επηρεάζει την αντίδρασή τους. Μπορούν να παράξουν σταθερούς δεσμούς με πρωτεΐνες όταν είναι αρκετά ογκώδη, αλλά όχι όταν είναι υπερβολικά ογκώδη. Το ενεργό βάρος των ενεργών ταννινών κυμαίνεται από 600 έως 3500 (Ribéreau-Gayon *et. al.*, 2, 2006). Σε αυτή τους την ιδιότητα οφείλεται και η στυφή γεύση των οίνων – σχηματισμός ένωσης των ταννινών του οίνου και των πρωτεϊνών της σιέλου. Επίσης, αναστέλλουν τη δράση των ενζύμων αυτού του εκκρίματος λόγω δέσμευσης της πρωτεϊνικής ομάδας τους, με συνέπεια να φράσσουν οι βλεννογόνοι και να παρεμποδίζεται η εκροή του σάλιου. Έτσι προκαλείται μία αίσθηση ξηρότητας και τραχύτητας στη γλώσσα και σε όλη τη

στοματική κοιλότητα – όπως κατά την κατεργασία των δερμάτων στη βυρσοδεψία (Κουράκου-Δραγώνα, 1998).

Ανάλογα με τη φύση της βασικής μονάδας οι ταννίνες διακρίνονται στις συμπυκνωμένες ταννίνες (ταννίνες της κατεχίνης με δομική μονάδα τη φλαβανόλη-3) και στις υδρολυόμενες ταννίνες. Οι συμπυκνωμένες ταννίνες των σταφυλιών και των οίνων είναι πολυμερή, περισσότερο ή λιγότερο πολύπλοκα, των φλαβονολών- ή κατεχινών, και συγκεκριμένα της (+) –κατεχίνης και της (-) –επικατεχίνης (Κοτσερίδης, 2005^β). Οι υδρολυόμενες ταννίνες αποτελούνται από ένα μόριο σακχάρου, κυρίως γλυκόζης, ή ένα μόριο πολυσακχαρίτη, του οποίου πολλά –OH είναι εστεροποιημένα με διάφορα φαινολικά οξέα, από τα οποία τα σημαντικότερα είναι το γαλλικό, το διγαλλικό και το ελλαγικό, γνωστά και ως δεψικά οξέα. Τέτοιες ταννίνες αφθονούν στο ξύλο ορισμένων δένδρων (π.χ. δρυς, καστασιά), στα φύλλα και στους καρπούς τους (Κουράκου-Δραγώνα, 1998). Στα είδη της ευρωπαϊκής βελανιδιάς υπάρχουν τέσσερα μονομερή και τέσσερα διμερή ελλαγικών ταννινών, ενώ στο αμερικάνικο είδος δεν ανιχνεύονται διμερή (. Ribéreau-Gayon *et. al.*, 2006). Η περιεκτικότητα ενός ερυθρού οίνου σε ταννίνες εξαρτάται από την ποικιλία και τις συνθήκες οινοποίησης και κυμαίνεται μεταξύ των 1-4 g/L. Στην περίπτωση των λευκών οίνων επηρεάζεται από την ένταση της απολάσπωσης και είναι της τάξης των 100 mg/L ή 200-300 mg/L σε μη απολασπωμένα γλεύκη (. Ribéreau-Gayon *et. al.*, , 2006, Κοτσερίδης, 2005).

Θερμαίνοντας τις συμπυκνωμένες ταννίνες σε όξινο περιβάλλον, αυτά τα πολυμερή μετασχηματίζονται κυρίως σε ερυθρή κυανιδίνη. Αυτό εξηγεί το λόγο για τον οποίο αυτά τα συμπλέγματα είναι γνωστά και ως προκυανιδίνες, αντικαθιστώντας τον όρο «γλυκοκυανιδίνες». Η ανάλυση αυτών των μακρομορίων είναι ιδιαίτερα περίπλοκη εξαιτίας της μεγάλης διαφοροποίησης στη δομή των ενώσεων, που οφείλεται στο πλήθος των υδροξυλικών ομάδων, στη θέση τους στην νουκλεϊκή ομάδα, στη στερεοχημεία των ασύμμετρων ατόμων άνθρακα στην πυρυλική αλυσίδα και στον αριθμό και τον τύπο των δεσμών μεταξύ των στοιχειωδών μονομερών. Παρά την πρόοδο στην HPLC (liquid chromatography), στη φασματοφωτομετρία μάζας και στο NMR, δεν έχει αναλυθεί η δομή όλων των ταννινών: μόνο οι δομές των διμερών και μερικών τριμερών προκυανιδινών έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως (. Ribéreau-Gayon *et. al.*, 2006).

2.3 Παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση των ανθοκυανών

Κάθε ποικιλία μπορεί να αποδώσει μία μέγιστη συγκέντρωση φαινολικών (φαινολικό δυναμικό), η οποία όμως καθορίζεται και από ένα εύρος παραγόντων. Οι παράγοντες αυτοί είναι οι ακόλουθοι:

1. Έδαφος: Στη συγκέντρωση των φλαβονοειδών επιδρούν φυσικά χαρακτηριστικά του εδάφους όπως η δομή, η σύστασή του αλλά και η ηλικία του. Η κύρια όμως επίδραση του τύπου του εδάφους είναι η ικανότητά του να συγκρατεί νερό επιτρέποντας παράλληλα την καλή στράγγιστη της υγρασίας που περισσεύει (Σταυρακάκης, 2004^β, Downey *et. al.*, 2006). Ακόμα και χημικές ιδιότητες του εδάφους όπως το pH και η γονιμότητα παίζουν ρόλο στη συσσώρευση των ανθοκυανών.
2. Υψόμετρο: Από το υψόμετρο προσδιορίζονται οι θερμικές δυνατότητες του κλίματος μιας περιοχής. Η επίδραση του υψόμετρου είναι ευνοϊκή στις μεσημβρινές περιοχές, αλλά δυσμενής για τις περιοχές που βρίσκονται κοντά στο βόρειο όριο καλλιέργειας της αμπέλου. Σε ερευνητική μελέτη σε δύο ισπανικές ερυθρές ποικιλίες *V. Vinifera*, παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης των ανθοκυανών, όταν αυξήθηκε το υψόμετρο από τα 150 στα 250 μέτρα πάνω από το επίπεδο της θάλασσας (Downey *et. al.*, 2006).
3. Θερμοκρασία: Είναι δύσκολο να προσδιοριστούν οι επιδράσεις της θερμοκρασίας στη συσσώρευση των ανθοκυανών. Συμπεράσματα όμως μελετών καταγράφουν πως η θερμοκρασία ίσως παίζει το σημαντικότερο ρόλο στη βιοσύνθεση των ανθοκυανών. Το βέλτιστο εύρος θερμοκρασίας για τη σύνθεση των ανθοκυανών κυμαίνεται από 17°C έως 26°C.

Γενικά έως σήμερα, από ερευνητικά δεδομένα προκύπτει ότι πολύ υψηλές και πολύ χαμηλές θερμοκρασίες, αναστέλλουν την παραγωγή χρωστικών ουσιών (Jackson and Lombard, 1993). Επίσης, παρατηρήθηκε ότι χαμηλές νυχτερινές θερμοκρασίες (15-20°C) συμβάλλουν περισσότερο στο χρωματισμό των σταφυλιών. Οι Yamame *et. al.*, 2006 αναφέρουν ότι οι ράγες που θερμάνθηκαν στους 20°C για 2 εβδομάδες – από την πρώτη μέχρι την τρίτη εβδομάδα μετά την έναρξη του χρωματισμού των φλοιών τους- παρουσίασαν τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ανθοκυανές.

4. Ηλιακή ακτινοβολία: Η επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας στη βιοσύνθεση των ανθοκυανών έχει αποτελέσει αντικείμενο έρευνας πολλών ερευνητικών εργασιών. Οι Cortell and Kennedy (2006) παρατήρησαν ότι στους βότρυες με σκίαση η συγκέντρωση των ανθοκυανών ήταν περίπου 30% λιγότερη από αυτή των μη σκιαζόμενων.

Μία ενδιαφέρουσα παρατήρηση στην ίδια εργασία είναι ότι ο μονογλυκοζίτης-3 της παιονιδίνης είχε αντίθετη συμπεριφορά από τις υπόλοιπες ανθοκυάνες και στις σκιαζόμενες ράγες η συγκέντρωσή του ήταν διπλάσια. Επίσης, από την ερευνητική μελέτη των Dokoozlian and Kliewer (1996) για τις ποικιλίες Cabernet Sauvignon και Pinot noir, φαίνεται ότι η έκθεση των ραγών σε ηλιακή ακτινοβολία στα στάδια I και II της ανάπτυξής τους είναι απαραίτητη για τη μέγιστη παραγωγή χρωστικών.

Αν και η βιοσύνθεσή τους ξεκινά στο στάδιο III της ανάπτυξης των ραγών, όταν οι ράγες εκτίθενται από το πρώτο στάδιο μέχρι και το τελευταίο παρατηρείται η μέγιστη συσσώρευση ανθοκυανών. Με αυτό τον τρόπο αυξάνεται η αρχική συγκέντρωση ή η δραστηριότητα ενός ή μερικών ενζύμων που καταλύουν αντιδράσεις της βιοσύνθεσης των ανθοκυανών.

5. Κλάδεμα: Ξεκινώντας από το σύστημα μόρφωσης, το σχήμα που δίνεται στα πρέμνα, αξιοποιεί κατά το καλύτερο δυνατό τρόπο κάποια φυσικά χαρακτηριστικά του φυλλώματος (γεωμετρικό σχήμα, ύψος και κατεύθυνση), τα οποία επηρεάζουν σημαντικά τη δημιουργία επιθυμητού μικροκλίματος εντός του φυλλώματος και στο επίπεδο των ραγών (Σταυρακάκης, 2004^α). Τα νεότερα σχήματα μόρφωσης όπου το φυλλικό τοίχος είναι διαιρούμενο (π.χ. Geneva Double Curtain, Lyre) σχεδιάστηκαν για τη βελτίωση του μικροκλίματος και σε περιπτώσεις ερυθρών ποικιλιών παρατηρήθηκε αύξηση των ανθοκυανών (Jackson, 2008). Επίσης, με το κατάλληλο χειμερινό κλάδεμα καρποφορίας επιτυγχάνεται η ισορροπία βλάστησης προς καρποφορίας με αποτέλεσμα την παραγωγή αμπελουργικού προϊόντος ποιότητας.

Για παράδειγμα, σε περιπτώσεις πολύ ζωνρών ποικιλιών – ανάλογα και το υποκείμενο – με τη σωστή επιλογή χειμερινού κλαδέματος (μόρφωσης και καρποφορίας) μειώνεται έως ένα όριο η ζωνρότητα των πρέμων, ώστε να μην αποβαίνει σε βάρος της ποιότητας του φορτίου και γενικά στην ευρωστία του.

Γενικά με τα γλωρά κλαδέματα (κορφολόγημα, βλαστολόγημα, ξεφύλλισμα και αραίωμα φορτίου, χαραγή) επιδιώκεται η βελτιστοποίηση της παραγωγής ποιοτικά.

Πιο συγκεκριμένα, το ξεφύλλισμα αποσκοπεί κυρίως στη βελτίωση των

χαρακτήρων ποιότητας των ραγών και ιδιαιτέρως του χρώματός τους, αφού η εφαρμογή του συμβάλλει στην καλύτερη έκθεση των ραγών στο φως.

6. Εφαρμογή φυτορρυθμιστικών ουσιών: Η επίδραση φυτορρυθμιστικών ουσιών όπως το αμπισικό οξύ, το αιθυλένιο, οι κυτοκινίνες, οι γιββερελλίνες και οι αυξίνες θεωρείται ένας ακόμη παράγοντας επιρροής της βιοσύνθεσης των φαιολικών συστατικών. Σε πρέμνα της ποικιλίας Cabernet Sauvignon το αμπισικό οξύ αύξησε τη συγκέντρωση των ανθοκυανών, ενώ η εφαρμογή γιββερελλινών (GA₃) σε ράγες φαίνεται να μειώνει την περιεκτικότητά τους. Επίσης, οι αυξίνες και οι κυτοκινίνες έχουν θετική επίδραση στη βιοσύνθεση των ανθοκυανών και η εξωγενής εφαρμογή αιθυλενίου ενίσχυσε το χρώμα τους φλοιούς ραγών (Downey *et. al.*, 2006).
7. Λίπανση: Με τη λίπανση εμπλουτίζουμε το έδαφος με θρεπτικά στοιχεία απαραίτητα για την ανάπτυξη και παραγωγή των πρέμων
8. Άρδευση: Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι το υδατικό έλλειμμα αυξάνει στις ράγες την περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες (Downey *et. al.*, 2006). Η επίδραση της έλλειψης νερού έχει αντίκτυπο στο μέγεθος των ραγών (μείωση) και έτσι αλλάζει η αναλογία βάρους φλοιού της ράγας προς ολικό βάρος ράγας με αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα των ανθοκυανών και ταννινών στις ράγες. Το πολύπλοκο με τις επεμβάσεις υδατικού στρες είναι ότι κύριες λειτουργίες του πρέμνου όπως και κάθε φυτού είναι αδύνατες χωρίς την απαραίτητη ποσότητα νερού. Έτσι το πρέμνο αντιδρώντας στην έλλειψη νερού μειώνει τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα κλείνοντας τα στομάτια, με συνέπεια πιθανόν τη μείωση της συσσώρευσης των μεταβολιτών (υδατάνθρακες) και τέλος τη μειωμένη ανάπτυξη των βλαστών και του ριζικού συστήματος.

3. Αγιωργίτικο

Οι αναλύσεις της παρούσας εργασίας έγιναν σε ράγες και σε εκχυλίσματα φλοιών και γιγάρτων των ραγών του τρύγου 2012 της ποικιλίας Αγιωργίτικο. Το Αγιωργίτικο είναι από τις ευγενέστερες ερυθρές ελληνικές ποικιλίες και καλλιεργείται εδώ και πολλά χρόνια στην περιοχή της Νεμέας, αν και η καλλιέργειά της συνιστάται και για το αμπελουργικό διαμέρισμα της Πελοποννήσου, για της Ν.Α. Αττικής, Πειραιώς, τους νομούς Αιτωλοακαρνανίας, Βοιωτίας και Εύβοιας και επιτρέπεται στους νομούς Δράμας, Πέλλας, Πιερίας και Φλώρινας (Σταυρακάκης. 2010).



Εικόνα 7: Η ποικιλία *Vitis vinifera* «Αγιωργίτικο»
(Πηγή: <http://www.antemisar.gr/product.aspx?iid=11515>)

3.1 Αμπελογραφικοί χαρακτήρες και φαινολογικά στάδια

Όπως αναφέρει ο κ. Σταυρακάκης (2010), το Αγιωργίτικο έχει κορυφή νεαρής βλάστησης μετρίως ανοιχτή έως ανοιχτή, κιτρινοπράσινη, χνοώδης, κατά τόπους βαμβακώδης, με ρόδινη παρυφή. Τα νεαρά φύλλα είναι πράσινα, χνοώδη-βαμβακώδη στην κάτω επιφάνεια, στιλπνά, με μικρές ροδόχρως και ορειχάλκινες περιοχές, μεταξωτή στην άνω επιφάνεια του ελάσματος, ενώ τα ανεπτυγμένα φύλλα είναι μέτρια έως μεγάλα, σφηνοειδή και πεντάκολλα.

Ο ποδίσκος είναι βραχύς έως μέτριος που κατά κανόνα ξυλοποιείται πλήρως και αποκόπτεται δυσχερώς. Ο πόωδης βλαστός είναι οριζόντιος, αραχνοϋφής, πράσινος έως

κιτρινοπράσινος στην κοιλιακή πλευρά, πράσινος με ερυθρές ραβδώσεις στη νωτιαία πλευρά. Οι κόμβοι είναι αραχνοϋφείς και ερυθροί με πράσινα στίγματα. Οι 32 οφθαλμοί είναι πράσινοι με ερυθρές περιοχές. Η κληματίδα είναι ερυθροκαστανή έως ερυθροϊώδη με φακίδια, κυκλικής έως ελλειψοειδούς τομής, γωνιώδης και λεία. Το έλασμα είναι κυματώδες, ελαφρώς πομφολυγώδες, παχύ, με αναδιπλώσεις κατά μήκος των κύριων νευρώσεων, βαθυπράσινο και λείο στην άνω επιφάνεια, φαιοπράσινο και χνοώδες στην κάτω επιφάνεια. Ο μισχικός κόλπος είναι κλειστός, σχήματος V και έχει επικαλυπτόμενους λοβούς. Οι κατώτεροι κόλποι είναι βαθείς, με συγκλίνοντα χείλη, σχήματος U ή V. Οι νευρώσεις είναι κιτρινοπράσινες και χνοώδεις στην κάτω επιφάνεια του ελάσματος, ενώ οι οδόντες θεωρούνται μέτριοι έως μεγάλοι, με τις πλευρές σχεδόν ευθείες. Ο μίσχος είναι μέτριου μήκους και πάχους, πράσινος με ερυθροϊώδεις ραβδώσεις, χνοώδης και διαθέτει αραιά όρθια τριχίδια. Οι έλικες είναι διαλείπουσες, λείες, πράσινες, δισχιδείς και πολυσχιδείς, μέτριου έως μεγάλου μήκους (Σταυρακάκης, 2010).

Η σταφυλή είναι μέτρια, κωνική ή κυλινδροκωνική, συχνά διπλή, πυκνή έως πολύ πυκνή. Η ράγα θεωρείται μικρή έως μέτρια, σφαιρική και ενίοτε ωοειδής. Ο φλοιός είναι μετρίως παχύς έως παχύς, μετρίως ανθεκτικός, κυανομέλας, πλούσιος σε ανθοκυάνες και καλυμμένος με άφθονη ανθηρότητα. Η σάρκα είναι χυμώδης, γλυκιά έως ελαφρώς υπόξινη και μετρίως μαλακή. Τα γίγαρτα είναι συνήθως δύο ανά ράγα (2-3), μέτρια, αποειδή και με παχύ ράμφος (Σταυρακάκης, 2010)

Η έναρξη βλάστησης συντελείται στα του 3ου δεκαήμερου του Μαρτίου και η πλήρης βλάστηση στις αρχές του 3ου δεκαήμερου του Απριλίου. Η έναρξη της άνθησης μέχρι την πλήρη άνθηση λαμβάνει χώρα το 2ο δεκαήμερο του Μαΐου, η έναρξη ωρίμανσης στα τέλη του 3ου δεκαήμερου του Ιουλίου και η πλήρης ωρίμανση το 3ο δεκαήμερο του Σεπτεμβρίου (μερικές φορές και νωρίτερα) (Σταυρακάκης, 2010).

3.2 Ιδιότητες και καλλιεργητική συμπεριφορά

Πρόκειται για μία ποικιλία μετρίως ζωνρή έως ζωνρή, εύρωστη, όψιμης ωρίμανσης και πολύ παραγωγική. Στο Αγιωργίτικο ο τυφλός οφθαλμός είναι γόνιμος και ο καρποφόρος βλαστός φέρει δύο σταφυλές-συνήθως στον 4ο και 5ο κόμβο, συχνά όμως εμφανίζονται 3-4 σταφυλές από τον 2ο έως τον 6ο κόμβο (Σταυρακάκης, 2010).

Στους παλαιούς αμπελώνες η ποικιλία μορφώνεται σε κύπελλο, με 3-5 βραχίονες και δέχεται κλάδεμα βραχύ (παραγωγική μονάδα με δύο οφθαλμούς), ενώ στους νέους

αμπελώνες τα πρέμνα μορφώνονται σε γραμμικά σχήματα (συνήθως σε αμφίπλευρο Royat με 6-8 βραχίονες) και το κλάδεμα καρποφορίας είναι βραχύ (μία κεφαλή με 1-2 οφθαλμούς ανά βραχίονα) (Σταυρακάκης, 2010)

Η ποικιλία Αγιωργίτικο καλλιεργείται σε διαφόρων ειδών εδάφη, αργιλώδη, αργιλοπηλώδη, αμμοαργιλώδη, μαργώδη, σχιστολιθικά, όπως είναι τα περισσότερα εδάφη της αμπελουργικής ζώνης της Νεμέας. Υψηλής ποιότητας αμπελοοινικά προϊόντα δίνει σε λοφώδεις περιοχές (υψόμετρο άνω των 300μ.), σε χαλκώδη, μέσης σύστασης, γόνιμα εδάφη, στις οποίες η ευρωστία των πρέμνων είναι κανονική και η πορεία της θερμοκρασίας συμβάλλει στην ωρίμανση του φορτίου με βραδύ ρυθμό, συνθήκες που ευνοούν την απόκτηση βαθμού τεχνολογικής ωριμότητας ανάλογα με τον τύπο του οίνου (Σταυρακάκης, 2010).

Παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία στο οίδιο και τις ιώσεις, κυρίως στον μολυσματικό εκφυλισμό και μέτρια ευαισθησία στον περονόσπορο. Είναι επίσης ευαίσθητη στην ξηρασία και στις πολύ χαμηλές θερμοκρασίες του χειμώνα και τον ανοιξιάτικο παγετό. Ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται στην άρδευση, ώστε να αποφευχθεί η έντονη υδατική καταπόνηση αλλά να διατηρηθούν τα πρέμνα σε κατάσταση πολύ ήπιας καταπόνησης, η οποία συμβάλλει στη βελτίωση των φυσιολογικών λειτουργιών. Ανάλογη προσοχή απαιτείται σε αμπελώνες με βαριά, αργιλώδη, συνεκτικά εδάφη, ώστε με τους κατάλληλους χειρισμούς να αμβλυνθούν οι αρνητικές επιπτώσεις από την υπερβολική υγρασία. Την άνοιξη, σε πρέμνα υψηλής ζωηρότητας, παρατηρούνται προβλήματα στην άνθηση, τη γονιμοποίηση και την καρπόδεση, με αποτέλεσμα τη μικρορραγία και την παρουσία μικρών, πράσινων, αγίγαρτων ραγών. Τα προβλήματα αυτά εντείνονται όταν παρατηρείται σημαντική αυξομείωση της θερμοκρασίας, αλλά πιθανόν να συνδέονται με την τροφопενία μολυβδαίνιου (Σταυρακάκης, 2010)

4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1 Στόχος του πειράματος

Σκοπός του πειράματος ήταν η μελέτη επιλεγμένων ποιοτικών παραμέτρων σε ράγες της ποικιλίας Αγιωργίτικο από αντιπροσωπευτικές περιοχές της ζώνης Π.Ο.Π. Νεμέας. Συλλέχθηκαν δείγματα σταφυλιών από 14 αμπελώνες κοντά στο χρόνο συγκομιδής(τρύγος 2012). Η ζώνη Π.Ο.Π. Νεμέας χωρίστηκε σε τέσσερις κοινότητες Α) Κούτσι, Β) Κάμπος, Γ) Αρχαία Νεμέα, Δ) Ασπρόκαμπος όπου απεικονίζονται στα διαγράμματα με αρίθμηση 1-6, 8-10, 7, 11-14 και στα γραφήματα κίτρινο, μπλε, μοβ και κόκκινο αντίστοιχα.

4.2 Περιοχές του πειράματος

Το Κούτσι βρίσκεται Βόρειο-Ανατολικά του δήμου Νεμέας σε υψόμετρο 550 μ. Οι αμπελώνες που επιλέχθηκαν στην ημιορεινή περιοχή έχουν έντονες κλίσεις δυτικά και τα εδάφη είναι φτωχά ασβεστολιθικά. Οι θερμοκρασίες είναι χαμηλότερες και οι αμπελώνες έχουν καλή έκθεση στον ήλιο. Ο Κάμπος της Νεμέας και συγκεκριμένα οι αμπελώνες που επιλέχθηκαν βρίσκονται κάτω από το Κούτσι μέχρι και το χωριό Πετρί. σε υψόμετρο 400 μ. Οι αμπελώνες δεν παρουσιάζουν έντονες κλίσεις και έχουν πολύ καλή έκθεση στον ήλιο. Η Αρχαία Νεμέα βρίσκεται Νότιο-Ανατολικά της Νεμέας. Ο αμπελώνας βρίσκεται σε υψόμετρο 360 μ. χωρίς έντονη κλίση και είναι καλά εκτεθειμένος στο ηλιακό φως. Ο Ασπρόκαμπος είναι ορεινός, Βόρειο-Δυτικά της Νεμέας. Οι αμπελώνες βρίσκονται σε υψόμετρο 800 μ. χωρίς έντονες κλίσεις και τα εδάφη είναι αργιλώδη με αρκετό αμθρακικό ασβέστιο. Το κλίμα που επικρατεί είναι χειμώνας ψυχρός με χιόνια και βροχές, ενώ το καλοκαίρι επικρατούν πολύ υψηλές θερμοκρασίες την ημέρα και δροσερά βράδια.

4.3 Αναλύσεις σε ράγες

Οι ράγες των επεμβάσεων συντηρούνται στην βαθιά κατάψυξη. Για τις αναλύσεις σε ολόκληρες ράγες μετρώνται 50 ράγες και τοποθετούνται σε θερμοκρασία δωματίου έως ότου ξεπαγώσουν. Στη συνέχεια ζυγίζονται και τοποθετούνται σε πλαστικό περιέκτη για να ομογενοποιηθούν. Η ομογενοποίηση γίνεται με το Ultra Turrax T25 και ακολουθήθηκε πρόγραμμα ομογενοποίησης 2 min. Τα πρώτα 30 s οι στροφές του ομογενοποιητή είναι χαμηλές (6500 rpm) για να πολτοποιηθούν οι ράγες, το διάστημα 30 – 60 s οι στροφές ανεβαίνουν χειροκίνητα στις 9500 rpm και οι ράγες υφίσταται πολτοποίηση σε μεγαλύτερο βαθμό και τέλος το διάστημα από 60 – 120 s οι στροφές ρυθμίζονται στις 17000 – 20000 rpm για το τελικό στάδιο της ομογενοποίησης. Όλα τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν με τον τρόπο που περιγράφηκε παραπάνω. Τα δείγματα παραμένουν στους πλαστικούς περιέκτες που ομογενοποιήθηκαν.

4.3.1 Μέθοδος προσδιορισμού της εκχυλισματικότητας των ανθοκυανών και ταννινών και του φαινολικού δυναμικού των ραγών (Glories *et. al.*, 1990)

Η «Glories» θεωρείται η πιο ακριβής μέθοδος εκτίμησης της φαινολικής ωρίμανσης των ραγών των ερυθρών ποικιλιών. Δίνει αποτελέσματα σχετικά με το ολικό δυναμικό σε ανθοκυάνες και ταννίνες, την εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών και το βαθμό ωρίμανσης των γιγάρτων. Στην πράξη η μέθοδος αποτελεί ένα μέσο διάκρισης του φαινολικού δυναμικού μιας ποικιλίας και της δυνατότητας εκχύλισης των ανθοκυανών που περιέχει. Για την εφαρμογή της μεθόδου χρησιμοποιείται ένα διάλυμα pH 1 και ένα διάλυμα pH 3,6. Στο pH 1 γίνεται εκχύλιση όλων των ανθοκυανών του δείγματος και στο pH 3,6 προσομοιώνονται οι πραγματικές συνθήκες εκχύλισης και η απελευθέρωση των ανθοκυανών από το φλοιό των ραγών εξαρτάται από το πορώδες των κυτταρικών μεμβρανών.

Σε μια κωνική φιάλη προστίθενται 20 g ομογενοποιημένου πολτού ραγών και 20 ml διαλύματος pH 1, ενώ σε μια άλλη 20 g ομογενοποιημένου πολτού και 20 ml διαλύματος pH 3,6. Οι δυο φιάλες παραμένουν σε σκοτεινό μέρος για 4 ώρες. Εν συνεχεία τα διαλύματα μεταφέρονται σε πλαστικό σωλήνα φυγοκέντρου (10mL) και φυγοκεντρώνται για 10 min στις 4000rpm προκειμένου. Για τον προσδιορισμό του Δ.Φ.Ο. (Flanzy και Roux, 1958, Ribéreau- Gayon, 1966) λαμβάνονται 50 μ L του υπερκείμενου της φυγοκέντρωσης του διαλύματος pH 3,6. Προστίθενται 4,95 ml H₂O και το νέο διάλυμα αναδεύεται στο vortex. Έπειτα γίνεται φωτομέτρηση στα 280nm με λάμπα δευτερίου και κυψελίδες χαλαζία. Για τον προσδιορισμό των ανθοκυανών δημιουργούνται δύο κύρια διαλύματα. Στο πρώτο διάλυμα τοποθετείται 1 mL εκχυλίσματος pH 1, 1 mL αλκοολικού διαλύματος HCl 0,1% και 20 mL υδατικού διαλύματος HCl 2%. Στο δεύτερο διάλυμα τοποθετούνται 1 mL εκχυλίσματος pH 3,6, 1 mL αλκοολικού διαλύματος HCl 0,1% και 20 mL υδατικού διαλύματος HCl 2%. Για κάθε κύριο διάλυμα δημιουργούνται δύο δευτερεύοντα σε δοκιμαστικούς σωλήνες, στα οποία γίνεται διπλή επανάληψη:

- για pH 1 – 5 mL κύριου διαλύματος εκχυλίσματος pH 1 και 2 mL H₂O
- για pH 1 - 5 mL κύριου διαλύματος εκχυλίσματος pH 1 και 2 mL διαλύματος Na₂SO₃ 15%
- για pH 3,6 - 5 mL κύριου διαλύματος εκχυλίσματος pH 3,6 και 2 mL H₂O

- για pH 3,6 - 5 mL κύριου διαλύματος εκχυλίσματος pH 3,6 και 2 mL διαλύματος Na₂SO₃ 15%

Οι δοκιμαστικοί σωλήνες κλείνονται με parafilm, όπου αφήνονται για 20 min. Κατόπιν μετρώνται οι απορροφήσεις όλων των δειγμάτων στα 520 nm με πλαστικές κυψελίδες και λάμπα αλογόνου (Ribéreau-Gayon, *et. al.*, 2006).

Για τη μέτρηση του Δείκτη Φαινολικών Ουσιών χρησιμοποιείται ο ακόλουθος τύπος:

$$\Delta.Φ.Ο. = OD_{280} * 100$$

Η ποσότητα των ανθοκυανών δίνεται από τη σχέση:

$$A_{pH 1} \text{ (mg/L)} = (OD_2 - OD_1) * 885,3$$

$$A_{pH 3,6} \text{ (mg/L)} = (OD_2 - OD_1) * 885,3$$

όπου για κάθε εκχύλισμα pH 1 και pH 3,6 αντίστοιχα

OD₁ = η απορρόφηση του δείγματος στο οποίο προστέθηκε το διάλυμα Na₂SO₃ 15%

OD₂ = η απορρόφηση του δείγματος στο οποίο προστέθηκε το H₂O

Οι τιμές που προκύπτουν από τις εν λόγω εξισώσεις χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό των παρακάτω αποτελεσμάτων:

1. Ολικές ανθοκυάνες
TA = A pH 1
2. Εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών AE%

$$\frac{A_{pH1} - A_{pH 3,6}}{A_{pH1}} * 100$$

Όσο μικρότερη είναι η τιμή AE%, τόσο πιο εύκολα εκχυλίζονται οι ανθοκυάνες.

3. Συνεισφορά των ταννινών των γιγάρτων στα ολικά φαινολικά MP%
(Βαθμός ωριμότητας των γιγάρτων, βαθμός συμμετοχής των ταννινών των γιγάρτων στο σύνολο των φαινολικών)

$$\frac{OD_{280} - (A_{pH 3,6} * 40)}{OD_{280}} * 100$$

Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή MP%, τόσο μεγαλύτερη αρνητική επίδραση έχει στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των ραγών.

4. Συγκέντρωση ταννινών που προέρχονται από τους φλοιούς

$$dpell = \frac{A_{pH 3,6} * 40 / 1000}{OD_{280}}$$

5. Συνεισφορά των ταννινών των φλοιών

$$d_{pell} \% = \frac{d_{pell}}{A_{280}} * 100$$

6. Συγκέντρωση ταννινών που προέρχονται από τα γίγαρτα

$$dTrep = A_{280} - d_{pell}$$

7. Συνεισφορά των ταννινών των γιγάρτων $dTrep \% = \frac{dTrep}{A_{280}} * 100$

4.3.2 Προσδιορισμός ολικών ανθοκυανών και φαινολικών με τη μέθοδο Pand *et. al.* 1996, 2000

Η μέθοδος του «Pand» χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των ολικών ανθοκυανών και φαινολικών στις ερυθρές ποικιλίες. Η μέθοδος στηρίζεται στην παραδοχή ότι σε διάλυμα pH 1 παρατηρείται πλήρης αποδιοργάνωση των μεμβρανών και ολική εκχύλιση των ανθοκυανών και των ολικών φαινολικών από τα χυμοτόπια των κυττάρων. Στη συνέχεια τα συστατικά που έχουν εκχυλιστεί είναι εμφανή στις οπτικές πυκνότητες 700, 520 και 280nm του φασματοφωτόμετρου.

Για την εκχύλιση των ανθοκυανών και των ολικών φαινολικών σε δοκιμαστικό σωλήνα χρησιμοποιείται 1g δείγματος (πολτοποιημένες ράγες) και 10mL υδατικού διαλύματος αιθανόλης (50% υδατικό διάλυμα αιθανόλης διορθωμένο σε pH 2 με HCl). Το διάλυμα μένει για 1h υπό ανάδευση προκειμένου να εκχυλιστεί το 94% των ανθοκυανών του δείγματος. Ακολουθείται φυγοκέντρωση στις 4000rpm για 10min και λαμβάνονται άμεσα από το υπερκείμενο της φυγοκέντρωσης 0,5mL, τα οποία τοποθετούνται σε δοκιμαστικούς σωλήνες και προστίθενται 10mL υδατικού διαλύματος HCl (1M). Τα δείγματα τοποθετούνται σε σκοτεινό μέρος για 3 ώρες και στη συνέχεια λαμβάνονται οι οπτικές πυκνότητες στα 700, 520 και 280nm. Η απορρόφηση στα 700nm δείχνει την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων στα 520 και 280nm. Όταν στα 700nm η τιμή είναι μεγαλύτερη του 0,01 (700nm>0,01), τότε το αποτέλεσμα δεν είναι έγκυρο. Οι τιμές των απορροφήσεων στα 520 και 280nm χρησιμοποιούνται στους τύπους:

$$\text{Ανθοκυάνες mg/ράγα} = \frac{A520}{500} * \text{αραίωση} * \frac{\text{τελικός όγκος εκχύλισης (ml)}}{100} *$$

$$\frac{\text{Βάρος 50 ραγών (g)} \quad *1000}{\text{Βάρος δείγματος που εκχυλίστηκε (g)} \quad 50}$$

$$\text{Ανθοκυάνες / g ράγας} = \frac{\text{ανθοκυάνες mg / ράγα}}{\text{βάρος 50 ραγών / 50}}$$

Ολικά φαινολικά συστατικά ανά ράγα (μονάδες απορρόφησης (au)/ράγα) :

$$= A280 \times \text{αραίωση} \times \frac{\text{τελικός όγκος εκχύλισης (ml)}}{100} \times \frac{\text{βάρος 50 ραγών}}{\text{βάρος δείγματος που εκχυλίστηκε (g)}} \times \frac{1}{50}$$

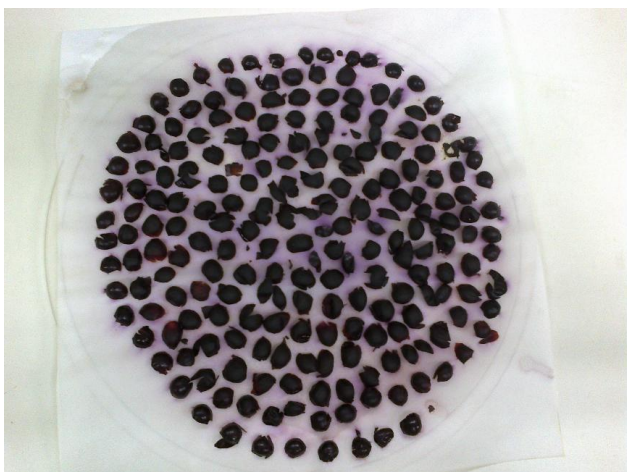
Ολικά φαινολικά συστατικά ανά γραμμάριο ράγας (μονάδες απορρόφησης (au)/g ράγας) :

$$= \frac{\text{Ολικά φαινολικά συστατικά ανά ράγα (μονάδες απορρόφησης (au))}}{\text{μέσο βάρος 50 ραγών (g)}}$$

4.4 Αναλύσεις σε φλοιούς και γίγαρτα ραγών

Αρχικά, για κάθε ένα από τα δείγματα των επεμβάσεων λαμβάνονται 100 αντιπροσωπευτικές ράγες, των οποίων καταγράφεται το βάρος τους. Στη συνέχεια γίνεται αποχωρισμός της σάρκας της ράγας από του φλοιούς και τα γίγαρτα, και τόσο οι

φλοιοί όσο και τα γίγαρτα καθαρίζονται σε απεσταγμένο H₂O. Αφήνονται να στεγνώσουν και κατόπιν ζυγίζονται και πάλι ως φλοιοί και γίγαρτα ξεχωριστά. Όσον αφορά στα γίγαρτα μετράται ο ακριβής τους αριθμός και εφόσον τοποθετηθούν σε διηθητικό μέσο, ακολουθείται ελαφρύς θρυμματισμός τους. Ομοίως, τοποθετούνται και οι φλοιοί σε διηθητικό μέσο και όλα αποθηκεύονται στην κατάψυξη. Το επόμενο στάδιο της διαδικασίας περιλαμβάνει λυοφιλίωση των φλοιών και των γιγάρτων επί 24h στη συσκευή λυοφιλίωσης (freeze-dryer). Τα λυοφιλωμένα δείγματα φλοιών και γιγάρτων αλέθονται και η σκόνη που προκύπτει αποθηκεύεται σε σκοτεινό και ξηρό μέρος.



Εικόνα 8: Φλοιοί ραγών του πειράματος

4.4.1 Εκχυλίσσεις ανθοκυανών των φλοιών για HPLC

Για την εκχύλιση ανθοκυανών των φλοιών σε 0,5g της σκόνης των λυοφιλωμένων δειγμάτων, προστίθενται 20ml διαλύματος οξινισμένης μεθανόλης 0,1% HCl και το διάλυμα τοποθετείται σε falcon. Στη συνέχεια τα falcon τοποθετούνται σε shaker στους 20°C και 60rpm και σε συνθήκες πλήρους σκότους για 4h. Ακολουθεί φυγοκέντρωση στις 9000rpm στους 20°C και για 15min, με το πέρας της οποίας λαμβάνεται άμεσα το υπερκείμενο και τοποθετείται σε vial και καταψύχεται. Στο ίζημα που υπολείπεται προστίθενται 10ml μεθανόλης 0,1% HCl. Η ίδια διαδικασία εφαρμόζεται διαδοχικά σε πρόγραμμα εκχυλίσεων και φυγοκεντρήσεων πρώτα για 18h και στη συνέχεια για 24h. Όλα τα εκχυλίσματα που προκύπτουν τοποθετούνται στο αρχικό vial και καταψύχονται.

Από το εκχύλισμα λαμβάνονται 5μL, φιλτράρονται από φίλτρο 0,2μm και χρησιμοποιούνται για ανάλυση στην HPLC με το πρόγραμμα προσδιορισμού ανθοκυανών. Ο εξοπλισμός της HPLC αποτελείται από μια αντλία Jasco PU-2089 Plus, στήλη Nova-Pack C18, 4μm, διαστάσεων 47,6x250mm και έναν ανιχνευτή Jasco MD-910 Multiwavelength. Το πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το Jasco ChromPass Chromatography v.1.7.403.1. Η ανάλυση προγραμματίστηκε με ρυθμό ροής 1 ml/min, με όγκο δείγματος 5μL, στα 520nm και με το ακόλουθο πρόγραμμα έκλουσης (Kallithraka *et al.*, 2005): 95% διαλύτης A για 1 min, μετά από 95% σε 50% μέσα σε 26 min, από 50% σε 5% σε 29 min, όπου και διατηρήθηκε ισοκρατικά για επιπλέον 3 min και τέλος σε 95% στα 38 min όπου και παρέμεινε μέχρι το τέλος της διαδικασίας. Ο διαλύτης A ήταν 10% (v/v) μυρμηγκικό οξύ και ο διαλύτης B ήταν μεθανόλη. Η ταυτοποίηση της μαλβιδίνης βασίζεται στην σύγκριση των τιμών κατακράτησης των κορυφών που προσδιορίστηκαν με τις κορυφές των πρότυπης ουσίας σε (UV) Vis on-line spectral data. Ο ποσοτικός προσδιορισμός έγινε μέσω πρότυπης καμπύλης αναφοράς, η χάραξη της οποίας γίνεται με διαλύματα μαλβιδίνης γνωστών συγκεντρώσεων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ισοδύναμα μαλβιδίνης σε mg malvidin / g νωπού βάρους φλοιών.

4.4.2 Εκχυλίσεις φαινολικών των φλοιών και των γιγάρτων

Προκειμένου να εκχυλιστούν τα φαινολικά των φλοιών και των γιγάρτων, σε 3 g της σκόνης προστίθενται 25ml διαλύματος ακετόνης και H₂O (αναλογία 80:20) και γίνεται εκχύλιση υπό συνεχή ανάδευση στους 25°C επί 4 h. Έπειτα το εκχύλισμα τοποθετείται σε σωλήνες για φυγοκέντρωση στις 9000rpm, για 15min. Λαμβάνεται το υπερκείμενο διάλυμα και στο στερεό υπόλειμμα προστίθενται 25ml διαλύματος μεθανόλης και H₂O (αναλογία 60:40) για 2,5h. Το εκχύλισμα που προκύπτει φυγοκεντράται και πάλι στις ίδιες συνθήκες και το υπερκείμενο διάλυμα τοποθετείται στο ίδιο vial με το πρώτο εκχύλισμα και φυλάσσεται στην κατάψυξη.

Μετάπειτα, στον εξατμιστή κενού (Rotary Evaporator) υπό κενό στους 35°C γίνεται διαχωρισμός του δείγματος από την ακετόνη και τη μεθανόλη με αποτέλεσμα να μείνει το δείγμα συμπυκνωμένο, το οποίο απουσία διαλυτών οδηγείται εκ νέου για λυοφιλίωση.

4.4.3 Φωτομετρικές Μέθοδοι

Χρησιμοποιούνται 0,025g της σκόνης φλοιών και 0,01g της σκόνης γιγάρτων για τη δημιουργία πρότυπου διαλύματος οίνου σε αναλογίες 5g/L φλοιών και 2g/L γιγάρτων. Το πρότυπο διάλυμα που προκύπτει για τους φλοιούς και τα γιγάρτα χρησιμοποιείται για την πραγματοποίηση των φωτομετρικών μεθόδων.

4.4.3.1 Μέτρηση συμπυκνωμένων ταννινών με methyl cellulose (Mercurio and Smith 2006):

Η συγκεκριμένη μέθοδος μετράει το σύνολο των ταννινών του δείγματος οίνου της ράγας. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στις αλληλεπιδράσεις των ταννινών με άλλα μόρια, όπως η methyl cellulose (μεθυλοκυτταρίνη) και τη δημιουργία αδιάλυτων συμπλόκων, τα οποία καθιζάνουν.

Για την εφαρμογή της μεθόδου λαμβάνεται 1 g ομογενοποιημένου πολτού του δείγματος, το οποίο τοποθετείται σε πλαστικό σωλήνα φυγοκέντρου. Σε αυτό προστίθενται 10ml υδατικού διαλύματος αιθανόλης (50%) και αφήνεται για ανάδευση 1 h. Στη συνέχεια πραγματοποιείται φυγοκέντρωση των εκχυλισμάτων για 10 min στις 4000rpm. Για τη μέθοδο απαιτείται η δημιουργία 2 διαλυμάτων: το πρώτο αποκαλείται μάρτυρας, στο οποίο δεν προστίθεται ο πολυσακχαρίτης.

και το δεύτερο δείγμα, όπου προστίθεται ο πολυσακχαρίτης. Στον μάρτυρα προστίθενται 250μL εκχυλίσματος, 2 ml θειικού αμμωνίου και H₂O μέχρι συμπλήρωσης του τελικού όγκου των 10ml. Στο δείγμα προστίθενται 250μL εκχυλίσματος, 2 ml θειικού αμμωνίου, 3 ml methyl cellulose και H₂O μέχρι συμπλήρωσης του τελικού όγκου των 10ml. Εφόσον τα δύο διαλύματα παραμείνουν σε θερμοκρασία δωματίου για 10min, φυγοκεντρώνται και μετρώνται οι απορροφήσεις τους στα 280 nm. Η απορρόφηση του μάρτυρα ισοδυναμεί με την συγκέντρωση του συνόλου των φαινολικών συστατικών του δείγματος (ολικά φαινολικά), ενώ η απορρόφηση του δείγματος στα 280nm, υποδεικνύει την συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών που παραμένουν στο διάλυμα, μετά την καθίζηση των πολυμερών που έχουν σχηματιστεί με την προσθήκη του πολυσακχαρίτη. Η διαφορά των δύο απορροφήσεων υπολογίζει τη συγκέντρωση των ταννινών που έχουν σχηματίσει πολυμερή. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg / L κατεχίνης μέσω της καμπύλης αναφοράς σε κατεχίνη (C_{TAN}²⁸⁰).

Συγκέντρωση ταννινών mg/ g:

$$C_{\text{TAN}} (\text{mg} / \text{g}) = \frac{C_{\text{TAN}}^{280} * \text{Αραιώση (η οποία αντιστοιχεί στον συνολικό τελικό όγκο =10,5 g)}}{\text{Βάρος δείγματος που εκχυλίστηκε (g)}}$$

Συγκέντρωση ταννινών mg/ ράγα:

$$C_{\text{TAN}} (\text{mg} / \text{ραγα}) = C_{\text{TAN}} (\text{mg} / \text{g}) * \frac{\text{Βάρος 50 ραγών που ομογενοποιήθηκαν (g)}}{50}$$

4.4.3.4 DMAC

Πρόκειται για μέθοδο εκτίμησης των φλαβονολών και προανθοκυανιδινών με τη χρήση του αντιδραστήριου DMAC (4-Dimethylaminocinnamaldehyde Assay). Οι φλαβανόλες και τα πολυμερή παράγωγά τους, οι προανθοκυανιδίνες-συμπυκνωμένες ταννίνες, αποτελούν μια ομάδα πολυφαινόλων που προσδίδουν πικρότητα και στυπτικότητα σε οίνους και άλλες κατηγορίες τροφών (Taylor *et. al.*, 2009).

Γίνεται έναρξη της μεθόδου προετοιμάζοντας το αντιδραστήριο DMAC (2%) με προσθήκη 2g DMAC σε 100 ml διαλύματος 1/1 μεθανόλης και H₂SO₄ 6N. Το αντιδραστήριο διατηρείται μόνο για 1 ημέρα σε θερμοκρασία δωματίου. Λαμβάνεται το διάλυμα των φλοιών και των γιγάρτων, το οποίο αραιώνεται 1:20 με μεθανόλη. Σε 40μL αραιωμένου διαλύματος σε δοκιμαστικό σωλήνα προστίθενται 4,7ml μεθανόλης και 200μL αντιδραστήριου DMAC. Πραγματοποιείται ανάδευση σε vortex και το διάλυμα παραμένει σε ηρεμία, σε θερμοκρασία δωματίου για 15min. Στη συνέχεια μετράται η απορρόφηση του δείγματος στα 640nm, με λάμπα αλογόνου και πλαστικές κυψελίδες.

Για κάθε δείγμα θα πρέπει να ετοιμάζεται και ένα διάλυμα ως δείγμα αναφοράς (blanc) για το μηδενισμό του φασματοφωτόμετρου, το οποίο υπόκειται στην ίδια διαδικασία χωρίς να προστεθεί το αντιδραστήριο DMAC (δοκιμαστικό σωλήνα με 40μL αραιωμένου διαλύματος του δείγματος, 4,7 ml μεθανόλης, vortex, αναμονή 15min). Στη συνέχεια μηδενίζεται η ένδειξη του φωτόμετρου 640nm πριν την μέτρηση του δείγματος. Μέσω της πρότυπης καμπύλης αναφοράς που δημιουργήθηκε με κατεχίνη εκφράζεται η συγκέντρωση των προανθοκυανιδινών σε mg / L κατεχίνης. Το τελικό αποτέλεσμα εκφράζεται σε mg catechin / g νωπού βάρους φλοιών ή γιγάρτων.

4.4.3.2 Ολικές ταννίνες (μετατροπή σε ανθοκυανιδίνες) με τη μέθοδο του βρασμού.

Η συγκεκριμένη μέθοδος βασίζεται στην ιδιότητα των προανθοκυανιδινών να μετατρέπονται σε ανθοκυανιδίνες σε όξινο μέσο στους 100°C (Ribeareau-Gayon & Stonestreet, 1966). Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο το σύνολο των ταννινών που μετατρέπεται σε ανθοκυανιδίνες συμπεριλαμβάνει και αυτές που είναι συνδεδεμένες με άλλα φαινολικά συστατικά. Τα αποτελέσματα διορθώνονται με βάση κάποιους συντελεστές (Glories, 1988), ώστε να λαμβάνονται υπόψη τυχόν λάθη που συμβαίνουν σε κάποιο στάδιο της διαδικασίας.

Η μέθοδος ποσοτικοποιεί τα αποτελέσματα με τη μέτρηση της απορρόφησης στα 550nm. Στη διάρκεια του βρασμού οι ταννίνες μετατρέπονται σε ανθοκυανιδίνες και, επομένως, το δείγμα που έχει θερμανθεί περιέχει τις αρχικές ανθοκυανίνες και τις ανθοκυανίνες που σχηματίστηκαν από την υδρόλυση των ταννινών. Το δείγμα που δεν θερμάνθηκε περιέχει μόνο τις αρχικές ανθοκυανίνες. Η διαφορά τους δίνει τις ανθοκυανίνες που σχηματίστηκαν. Η διαφορά των απορροφήσεων είναι ανάλογη με το ποσοστό των ταννινών.

Για την υλοποίηση της μεθόδου το εκχύλισμα φυγοκεντράται και αραιώνεται 1/50 με H₂O. Σε έναν απλό δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετούνται 2ml αραιωμένου εκχυλίσματος, 1ml H₂O και 3ml πυκνού HCl 37%. Σε δοκιμαστικό σωλήνα υδρόλυσης τοποθετούνται 2ml αραιωμένου εκχυλίσματος, 1ml H₂O και 3ml πυκνού HCl 37% και παραμένει σε βρασμό για 45min. Μετά την ψύξη προστίθενται και στους δύο δοκιμαστικούς σωλήνες 500μL αιθανόλης 95% για σταθεροποίηση του χρώματος. Εν συνεχεία και τα δύο περιεχόμενα ανακινούνται στο vortex. Κατόπιν είναι έτοιμα να μετρηθούν οι οπτικές πυκνότητες στα 550nm.

Η σχέση που δίνει την ποσότητα των ταννινών του δείγματος είναι η ακόλουθη:

$$\text{ταννίνες (g / L)} = (d_2 - d_1) * 3,87$$

όπου d_1 = απορρόφηση στα 550 nm χωρίς θέρμανση

και d_2 = απορρόφηση στα 550 nm με θέρμανση

4.4.3.3 DPPH (αντιοξειδωτική ικανότητα)

Η εν λόγω μέθοδος εφαρμόζεται κυρίως στα φαινολικά συστατικά που βρίσκονται στους οίνους ή τα εκχυλίσματα φλοιών και γιγάρτων. Χρησιμοποιεί την 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl ελεύθερη ρίζα (DPPH), η οποία έχει χαρακτηριστικό φάσμα UV-vis με μέγιστη απορρόφηση στα 515nm σε μεθανόλη. Η προσθήκη συστατικού που δρα ως αντιοξειδωτικό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση στην απορρόφηση, η οποία είναι

ανάλογη με τη συγκέντρωση και την αντιοξειδωτική ικανότητα της αντιοξειδωτικής ουσίας που προστίθεται (Villano *et al.*, 2007).

Για την εφαρμογή της μεθόδου παρασκευάζεται διάλυμα γνωστής συγκέντρωσης DPPH σε μεθανόλη (25 mg/L). Σε 25μL του δείγματος προστίθενται 975μL DPPH και μετράται η απορρόφηση στα 515nm (t=0). Τα διαλύματα αφήνονται σε θερμοκρασία δωματίου για 30 min και μετράται η απορρόφηση στα 515nm με λάμπα αλογόνου.

Από τις δυο απορροφήσεις υπολογίζεται η % διάφορα από τον τύπο:

$$\% \Delta A(515) = \frac{(A0) - (A30)}{A0} \times 100$$

Μέσω της πρότυπης καμπύλης αναφοράς που δημιουργήθηκε με trolox εκφράζεται η αντιοξειδωτική ικανότητα σε mg/ L trolox. Το τελικό αποτέλεσμα εκφράζεται σε mmol Trolox / g νωπού βάρους φλοιών και γιγάρτων.

4.4.3.4 Προσδιορισμός των ταννινών με τη μέθοδο Habertson *et al.*(2003)

Η μέθοδος Habertson *et al.*(2003) βασίζεται στη μέθοδο των Hagerman και Butler(1978). Αναλυτικότερα η μεθοδολογία της ανάλυσης των ταννινών των ραγών στηρίζεται στην καθίζηση του Bovine Serum Albumin και στην ταυτόχρονη καθίζηση του ενζύμου της αλκαλικής φωσφατάσης. Η αλκαλική φωσφατάση είναι το ένζυμο που συμμετέχει στην καθίζηση των φωσφορικών εστέρων. Ο βαθμός της αντίδρασης της αλκαλικής φωσφατάσης που συμμετέχει στην αντίδραση φαίνεται να είναι ανάλογος του ποσοστού των ταννινών που εμπεριέχει το εκάστοτε δείγμα. Συνεπώς ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ταννινών σε ένα άγνωστο δείγμα μπορεί να προσδιοριστεί έμμεσα μέσω του προσδιορισμού της δράσης της αλκαλικής φωσφατάσης.

Σε erpendorf τοποθετούνται 500μL αραιωμένου δείγματος με 1mL πρωτεϊνικού διαλύματος BSA. Γίνεται ήπια ανάδευση για 15min και το δείγμα φυγοκεντρείται για 10min στις 12000rpm υπό ψύξη. Κρατάμε το ίζημα και προσθέτουμε 250 μL μη πρωτεϊνικού διαλύματος (διάλυμα A). Κάνουμε πάλι φυγοκέντρωση για 5min στις 12000rpm υπό ψύξη και παίρνουμε το ίζημα.

Στο ίζημα προσθέτουμε 875μL διαλύματος TEA-SDS και το αφήνουμε σε ηρεμία για 10min σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια αναδεύεται σε vortex για να διαλυθεί το ίζημα.

Μετά την ανάδευση σε vortex παραμένει για 10min και μετράμε την απορρόφηση (A1) στα 510nm σε κυψελίδα μικρής στένωσης σε φασματοφωτόμετρο με λάμπα αλογόνου. Χρησιμοποιούμε ως blank TEA-SDS. Στη συνέχεια προσθέτουμε 125μL διαλύματος FeCl₃ και μετά από 10min μετράμε ξανά την απορρόφηση (A2) στα 510nm.

Υπολογισμός αποτελεσμάτων : Υπολογίζουμε τη διαφορά $A=(A2) - (A1)$. Από την καμπύλη αναφοράς βρίσκουμε τη συγκέντρωση που αντιστοιχεί στη διαφορά των απορροφήσεων, έστω C1. Η τελική συγκέντρωση ταννινών είναι $C=C1*(αραίωση)$ mg/L οίνου.

4.4.3.5 Ποσοτικός προσδιορισμός των φαινολικών συστατικών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, Somers (1974)

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην οξείδωση των φαινολών σε αλκαλικό περιβάλλον με μίγμα φωσφοροβόλφραμικού και φωσφορομολυβδαινικού οξέος. Πρέπει να σημειωθεί ότι την ίδια αντίδραση δίνουν και άλλα συστατικά όπως ανάγοντα σάκχαρα, νουκλεϊκά οξέα κλπ. Για το διαχωρισμό των φαινολών από τα συστατικά αυτά χρησιμοποιούνται στήλες χρωματογραφίας με polyclar AT, sephadex κ.α. Όμως η συγκράτηση των φαινολών δεν είναι ποσοτική. Γι'αυτό η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται απ'ευθείας επί του δείγματος εφ'όσον η περιεκτικότητα αυτού σε σάκχαρα είναι μικρότερη των 20g/l.(Ελληνικά οινολογικά χρονικά 1982)

Σε ογκομετρική φιάλη των 10ml με περίπου 10 ml H₂O τοποθετούνται:

	Δείγμα	Folin-Ciocalteu	Na ₂ CO ₃ 20%
εκχύλισμα	100μL	0,5mL	1,5mL
blank	-	0,5mL	1,5mL

Μετά από παραμονή 30 min μετράται η απορρόφηση στα 765nm με πλαστική κυψελίδα πάχους 10mm και με χρήση λάμπας αλογόνου, μηδενίζουμε με το blank.

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών γίνεται μέσω της πρότυπης καμπύλης γαλλικού οξέος. Ολικά φαινολικά : C x αραιώση mg/L γαλλικού οξέος

4.4.4 Προσδιορισμός των φαινολικών σε εκχυλίσματα φλοιών και γιγάρτων στην HPLC (μονομερών και oligομερών φλαβαν – 3 –ολων και φλαβονολών)

Όπως έχει περιγραφεί στην παράγραφο 2.2.2, από την πούδρα που προκύπτει μετά τη λυοφιλίωση λαμβάνονται για τα γιγάρτα 400mg και για τους φλοιούς 500mg σε γυάλινο περιέκτη. Στη συνέχεια προστίθενται 10 ml υδατικού διαλύματος αιθανόλης 5% και το δείγμα αναδεύεται σε vortex για 30sec. Ακολουθεί προσθήκη 10ml χλωροφορμίου. Το διάλυμα φυγοκεντράται στις 4000rpm για 5min, αναδεύεται και λαμβάνεται το υπερκείμενο διάλυμα (η πρώτη από 2 διακριτές φάσεις του διαλύματος) σε νέο περιέκτη και επαναλαμβάνεται η ίδια διαδικασία στο υπόλοιπο διάλυμα άλλες 2 φορές. Η προσθήκη του χλωροφόρμιου πραγματοποιείται για την απομάκρυνση του λιπόφιλου μέρους του δείγματος. Στο νέο διάλυμα που προκύπτει μετά τις 3 επαναλήψεις με προσθήκη χλωροφόρμιου, προστίθενται 10ml οξικού αιθυλεστέρα, ακολουθεί ανάδευση σε vortex για 30sec και στη συνέχεια το διάλυμα αφήνεται σε ηρεμία, έως ότου διαχωρισθούν οι δύο φάσεις (οργανική φάση και υδατική φάση), από όπου λαμβάνεται η υπερκείμενη οργανική φάση σε νέο vial και στο υπόλοιπο διάλυμα επαναλαμβάνεται η ίδια διαδικασία 2 φορές. Η χρήση του οξικού αιθυλεστέρα γίνεται για την λήψη μικρού μοριακού βάρους προανθοκυανιδίων (ολιγομερών ταννινών) στην οργανική φάση. Η οργανική φάση περιέχει κυρίως oligομερή, ενώ η υδατική φάση περιέχει πολυμερή. Στην συνέχεια το εκχύλισμα oligομερών ταννινών συμπυκνώνεται σε εξατμιστή κενού με την απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη και λυοφιλιώνεται επί 2 ημέρες. Στη σκόνη που προκύπτει από τη λυοφιλίωση, αφού προστεθεί μεθανόλη δημιουργείται για το κάθε δείγμα γιγάρτων διάλυμα με συγκέντρωση 5 g/L και για κάθε δείγμα φλοιών διάλυμα με συγκέντρωση 10 g/L. Τα δείγματα γιγάρτων αραιώνονται 1:10 με μεθανόλη και στη συνέχεια 20μL δείγματος διηθούνται με φίλτρο 0,2μm και αναλύονται με HPLC. Τα δείγματα φλοιών δεν αραιώνονται, ενώ ο όγκος δείγματος που χρησιμοποιείται για ανάλυση HPLC είναι

50μL. Το πρόγραμμα έκλουσης που ακολουθείται καθώς και οι διαλύτες είναι διαφορετικά για τους φλοιούς και τα γίγαρτα.

Γίγαρτα: Ο εξοπλισμός της HPLC αποτελείται από έναν αυτόματο δειγματολήπτη Jasco AS-1555 Intelligent Sampler, αντλία Jasco PU 2089 Plus Quaternary Gradient Pump, ανιχνευτή Jasco MD-910 Multiwavelength Detector, Jasco LC-Net II / ADC, Software Jasco ChromPass Chromatography Data System Version 1.7.403.1 και στήλη Nova-Pak, C-18, διαστάσεων 3,9x150mm, 4μm. Οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται στο πρόγραμμα έκλουσης της HPLC για τα γίγαρτα είναι διαλύτης A: 1ml/L perchloric acid (υπερχλωρικό οξύ) σε υπερκάθαρο H₂O και διαλύτης B: μεθανόλη. Οι πρότυπες καμπύλες κατασκευάστηκαν με την χρήση πρότυπων ουσιών (κατεχίνης, επικατεχίνης, γαλλικής επικατεχίνης, γαλλικού εστέρα της επικατεχίνης, επιγαλλοκατεχίνης, προκυανιδίνης B1, B2, C1 και γαλλικού οξέος), σε γνωστές συγκεντρώσεις. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg ουσίας / g νωπού βάρους γιγάρτων. Η ανίχνευση πραγματοποιήθηκε στα 280nm και με το ακόλουθο πρόγραμμα έκλουσης (Kallithraka *et al.*, 2005):

Η ταυτοποίηση των φαινολικών ουσιών βασίζεται στη σύγκριση των τιμών κατακράτησης των κορυφών που προσδιορίστηκαν με τις κορυγές των πρότυπων ουσιών στα 280nm. Ο ποσοτικός προσδιορισμός έγινε μέσω των πρότυπων καμπυλών αναφοράς.

Πίνακας 3 : Πρόγραμμα έκλουσης για HPLC-φαινολικών των γιγάρτων.

Χρόνος	Διαλύτης A	Διαλύτης B
0	100	0
5	90	0
15	87,5	12,5
25	82,5	17,5
45	75	25
60	40	60

70	0	100
80	0	100
85	100	0

Φλοιοί: Ο εξοπλισμός της HPLC αποτελείται από μια αντλία Jasco PU-980, στήλη Lichrospher, RP-18, διαστάσεων 250x4,5μm και έναν ανιχνευτή UV. Οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται στο πρόγραμμα έκλουσης της HPLC για τους φλοιούς είναι διαλύτης A: 1ml/L ορθοφωσφορικό οξύ σε H₂O και διαλύτης B: διαλύτης A / ακετονιτρίλιο σε αναλογία 6:4 (v/v). Οι πρότυπες καμπύλες κατασκευάστηκαν με την χρήση πρότυπων ουσιών (κατεχίνης, επικατεχίνης, γαλλικής επικατεχίνης, γαλλικού εστέρα της επικατεχίνης, επιγαλλοκατεχίνης, προκουανιδίνης B1, B2, C1, γαλλικού οξέος, ρουτίνης, καμπφερόλης, μυρισετίνης, κερσετίνης), σε γνωστές συγκεντρώσεις. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg ουσίας / g νωπού βάρους φλοιών. Η ανίχνευση πραγματοποιήθηκε στα 280nm και 360nm και με το ακόλουθο πρόγραμμα έκλουσης (Kallithraka *et al.*, 2005):

Η ταυτοποίηση των φαινολικών βασίζεται στη σύγκριση των τιμών κατακράτησης των κορυφών, που προσδιορίστηκαν με τις κορυφές των πρότυπων ουσιών στα 280nm για το γαλλικό οξύ, κατεχίνη, επικατεχίνη, B1, B2, C1 και γαλλικούς εστέρες και στα 360nm για τις φλαβονόλες. Ο ποσοτικός προσδιορισμός έγινε μέσω των πρότυπων καμπυλών αναφοράς.

Πίνακας 4: Πρόγραμμα έκλουσης για HPLC φαινολικών ουσιών των φλοιών

<u>Χρόνος</u>	<u>Διαλύτης Α</u>	<u>Διαλύτης Β</u>
0	100	0
20	100	0
100	60	40
110	60	40
130	30	70
140	30	70
145	0	100
153	0	100
156	100	0

5 Αποτελέσματα και Σχολιασμός

5.1 Μετρήσεις στον χρόνο συγκομιδής.

Ο προσδιορισμός της συγκομιδής έγινε σύμφωνα με τις συνήθεις μετρήσεις (Σάκχαρα, Ολική οξύτητα και pH) όπως παρατηρείται παρακάτω στον πίνακα 5.

Πίνακας 5: Αποτελέσματα μετρήσεων κατά τον χρόνο συγκομιδής.

		ΟΟ	pH	Baume
ΚΟΥΤΣΙ	1	5,925	3,52	13,9
ΚΟΥΤΣΙ	2	4,95	3,86	14,4
ΚΟΥΤΣΙ	3	6,75	3,73	13
ΚΟΥΤΣΙ	4	5,325	3,77	12,8
ΚΟΥΤΣΙ	5	5,1	3,74	14,1
ΚΟΥΤΣΙ	6	6,15	3,7	13,1
ΑΡΧΑΙΑ ΝΕΜΕΑ	7	5,1	3,67	12,9
ΚΑΜΠΟΣ	8	3,675	4,18	12,7
ΚΑΜΠΟΣ	9	3,675	3,89	12,6
ΚΑΜΠΟΣ	10	4,65	3,84	13
ΑΣΠΡΟΚΑΜΠΟΣ	11	6,225	3,31	11,9
ΑΣΠΡΟΚΑΜΠΟΣ	12	7,6	3,24	12,8
ΑΣΠΡΟΚΑΜΠΟΣ	13	7,2	3,41	12
ΑΣΠΡΟΚΑΜΠΟΣ	14	5,4	3,51	13,40

5.2 Μέθοδος Glories

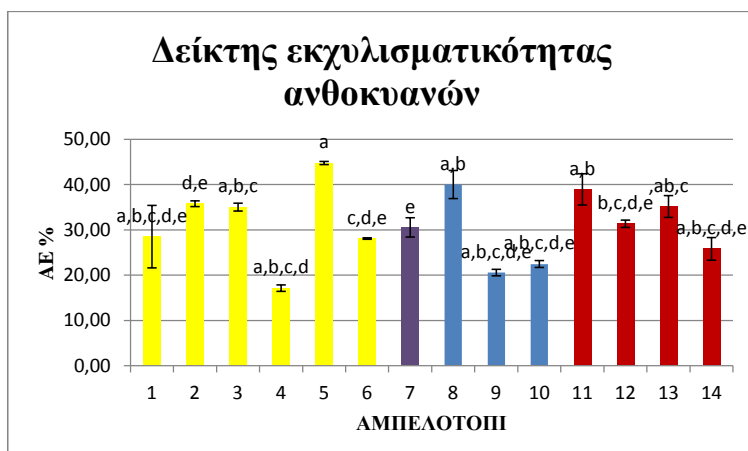
Η μέθοδος Glories μετρά τη φαινολική ωριμότητα στις ράγες των σταφυλιών, την εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών και ταννινών και το φαινολικό δυναμικό των ραγών. Τα αποτελέσματα της εφαρμογής της παραπάνω μεθόδου παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα 6

Πίνακας 6: Αποτελέσματα μεθόδου Glorie

	AE %	STD. ERROR	MP%	STD. ERROR	DPELL	STD. ERROR	Dpell%	STD. ERROR	DTrep	STD. ERROR	DTrep% Mean	STD. ERROR
1	28,48±	6,9 a,b,c,d,e	75,23±	1,95 c,d,e,f	8,67±	0,68 b,c,d,e	24,76±	1,95 b,c,d,e	26,37±	0,70 c,d,e	75,23±	1,95 c,d,e,f
2	35,75±	0,6 d,e	78,10±	0,11 a,b	7,57±	0,04 f,g	21,89±	0,11 e,g	27,01±	0,03 b,c	78,10±	0,11 a,b
3	35,01±	0,9 a,b,c	68,95±	0,35 g	10,28±	0,12 a,b	31,04±	0,47 a	22,86±	0,10 f,g,h	68,95±	0,35 g
4	17,11±	0,7 a,b,c,d	70,73±	0,24 f,g	10,44±	0,07 a,b,c,d	29,26±	0,24 a,b	25,24±	0,07 e,f,g	70,73±	0,24 f,g
5	44,74±	0,3 a	80,66±	0,12 a,b,c	6,84±	0,05 e,f,g	19,33±	0,12 f,e,g	28,57±	0,04 b	80,66±	0,12 a,b,c
6	28,06±	0,2 c,d,e	61,20±	0,05 d,e,f,g	12,11±	0,02 c,d,e,f	38,79±	0,05 a,b,c,d	19,10±	0,01 f,g,h	61,20±	0,05 d,e,f,g
7	30,53±	2,1 e	73,77±	0,47 d,e,f,g	8,77±	0,15 b,c,d,e	26,22±	0,47 a,b,c,d	24,67±	0,16 e,f,g	73,77±	0,47 d,e,f,g
8	39,99±	3,1 a,b	84,61±	7,02 a	4,94±	2,25 g	15,38±	7,02 g	27,17±	2,25 b,c	84,61±	7,02 a
9	20,55±	0,7 a,b,c,d,e	70,20±	0,44 e,f,g	10,19±	0,15 a,b,c	29,79±	0,44 a,b,c	24,01±	0,15 f,g	70,20±	0,44 e,f,g
10	22,44±	0,8 a,b,c,d,e	75,58±	0,27 b,c,d,e	7,91±	0,09 c,d,e,f	24,41±	0,27 c,d,e,f	24,50±	0,10 e,f,g	75,58±	0,27 b,c,d,e
11	38,92±	3,5 a,b	66,59±	0,10 d,e,f,g	11,09±	0,04 a	33,40±	0,10 a,b,c,d	22,11±	0,05 a	66,59±	0,95 d,e,f,g
12	31,33±	0,8 b,c,d,e	69,54±	0,95 d,e,f,g	9,41±	0,33 a,b	30,45±	0,95 a,b,c,d	21,48±	0,35 d,e,f	69,54±	0,24 f,g
13	35,14±	2,4 a,b,c	76,5±	0,20 b,c,d	8,30±	0,07 c,d,e,f	23,45±	0,20 d,e,f	27,09±	0,07 b,c,d	76,54±	0,20 b,c,d
14	25,78±	2,5 a,b,c,d,e	72,81±	0,19 d,e,f,g	9,41±	0,06 a,b,c,d	27,18±	0,19 a,b,c,d	25,22±	0,06 d,e,f	72,81±	0,19 d,e,f,g

Για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων Glorie, εφαρμόστηκε η ανάλυση ANOVA. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη είναι στατιστικά σημαντικές (Tukey's test, για επίπεδο σημαντικότητας < 0,05), το ± αφορά το τυπικό σφάλμα, N είναι ο αριθμός (2) επαναλήψεων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσοι όροι.

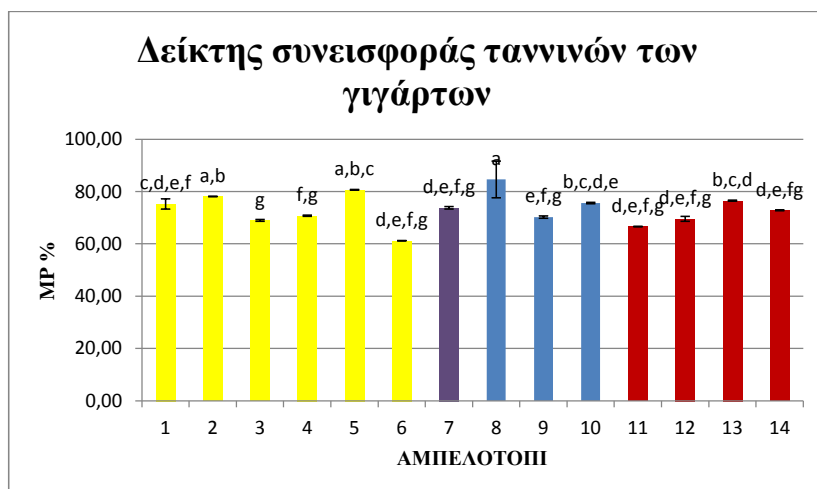
Ο Δείκτης Εκχυλισματικότητας Ανθοκυανών (AE%) εκφράζει την εκχυλισματικότητα των ανθοκυανών, όπου όσο μικρότερη είναι η τιμή AE% τόσο πιο εύκολα εκχυλίζονται οι ανθοκυάνες. Η τιμή AE% μειώνεται όσο πιο πολύ ωριμάζει το σταφύλι (Ribereau-Gayon et al., 2006). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στην εικόνα 9.



Εικόνα 9 : Δείκτης εκχυλισματικότητας ανθοκυανών / αμπελοτοπι. Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μοβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος

Η χαμηλότερη τιμή του δείκτη εκχυλισματικότητας ανθοκυανών (AE%) παρουσιάζεται στο αμπελοτόπι 4-Κούτσι. Στην συγκεκριμένη περιοχή οι ανθοκυάνες των ραγών είναι σημαντικά περισσότερο εκχυλισμένες ενώ η υψηλότερη τιμή παρουσιάζεται στο αμπελοτόπι 5-Κούτσι. Οι αντίστοιχες τιμές στα υπόλοιπα αμπελοτόπια δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά

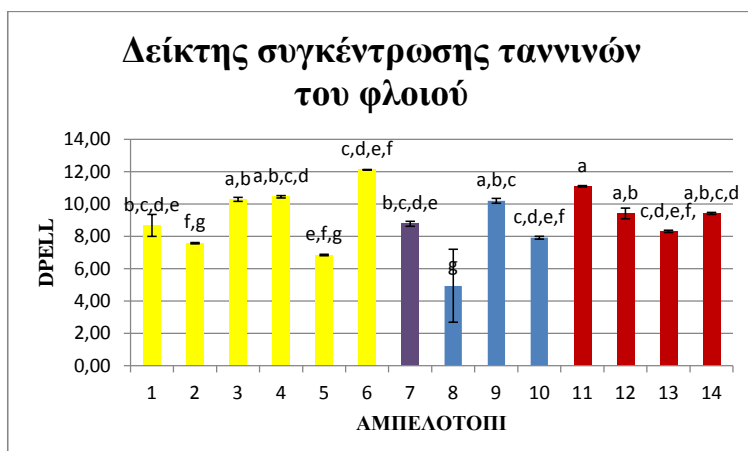
Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης με άλλα αποτελέσματα (Κομματά Α.2013) και (Τσαπάρας Ι. 2013) οι τιμές του δείκτη εκχυλισματικότητας διαφέρουν σημαντικά. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της Κομματά Α.(48,32 % AE) και του Τσαπάρα Ι. (37,41 % AE) παρατηρείται ότι τα αποτελέσματα του τρύγου του 2012 είναι χαμηλότερα σε σύγκριση με τον τρύγο 2010 (ΚομματάΑ.,2013).Όμως σε σύγκριση με τον τρύγο 2010 (Τσαπάρα Ι.,2013) τα αμπελοτόπια 5-Κούτσι , 8-Κάμπος, 11-Ασπρόκαμπος παρουσιάζουν μεγαλύτερη τιμή, ενώ όλα τα υπόλοιπα χαμηλότερη.



Εικόνα 10: Δείκτης ωριμότητας - συνεισφοράς των ταννινών των γιγάρτων/αμπελοτοπι. Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος(Νεμέα), με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

Η συνεισφορά των ταννινών των γιγάρτων στα ολικά φαινολικά που περιέχονται στο εκχύλισμα εκφράζονται από τον δείκτη MP% (εικόνα 10). Όσο υψηλότερη τιμή λαμβάνει ο δείκτης τόσο μεγαλύτερη η συνεισφορά. Η τιμή MP% μειώνεται καθώς προχωράει η ωρίμανση των σταφυλιών. Η τιμή που θα λάβει ο δείκτης σε ένα δείγμα εξαρτάται από την ποικιλία, τον αριθμό των γιγάρτων στις ράγες και την ωριμότητά τους. Την μικρότερη τιμή παρουσιάζει το αμπελοτόπι 3-Κούτσι ενώ την μεγαλύτερη τιμή παρουσιάζει το αμπελοτόπι 8-Κάμπος. Οι τιμές αυτές παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά, ενώ οι αντιστοιχες τιμές για τα υπόλοιπα αμπελοτόπια δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά

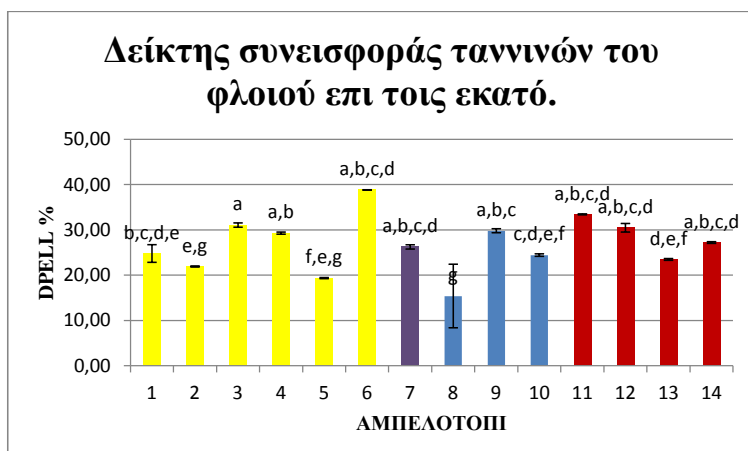
Παρατηρώντας τον τρύγο του 2010 (78,25 % MP, Κομματά Α.2013) και τον τρύγο του 2011 (63,72 % MP, Τσαπάρας Ι.,2013) και συγκρίνοντας τους με το τρύγο του 2012, διαπιστώνεται ότι τα αμπελοτόπια 5-Κούτσι και 8-Κάμπος έχουν υψηλότερες τιμές,(MP%) από τον τρύγο 2010., ενώ όλα τα υπόλοιπα αμπελοτόπια χαμηλότερες. Σε σύγκριση με τα αποτελέσματα τον τρύγο 2011 μόνο το αμπελοτόπι 6-Κούτσι έχει χαμηλότερη τιμή ενώ όλα τα υπόλοιπα έχουν μεγαλύτερη.



Εικόνα 11: Δείκτης συγκέντρωσης ταννινών του φλοιού/αμπελοτόπι. Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος(Νεμέα), με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

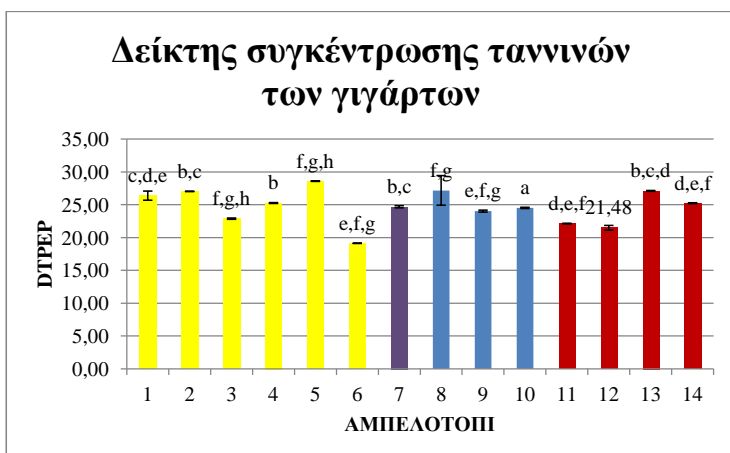
Η συγκέντρωση των ταννινών που προέρχονται από τους φλοιούς εκφράζεται από τον δείκτη dpell (εικόνα 11). Η μεγαλύτερη συγκέντρωση ταννινών εντοπίζεται στο αμπελοτόπι 6-Κούτσι ενώ η μικρότερη στο αμπελοτόπι 8-Κάμπος, όπου παρουσιάζουν και στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Οι αντίστοιχες στα υπόλοιπα αμπελοτόπια δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Παρατηρώντας το τρύγο του 2010 (11,04% dpell), (Κομματά 2013) και το τρύγο του 2011 (21,78% dpell) (Τσαπάρας Ι.2013) και συγκρίνοντας τα αποτελέσματα των τριών ετών ο τρύγος του 2011 έχει πολύ υψηλές τιμές με τους τρύγους 2010 και 2012. Ο τρύγος του 2012 στο αμπελοτόπι 6-Κούτσι παρουσιάζει υψηλότερη τιμή σε σχέση με τον τρύγο 2010, ενώ όλα τα υπόλοιπα αμπελοτόπια έχουν χαμηλότερες τιμές.



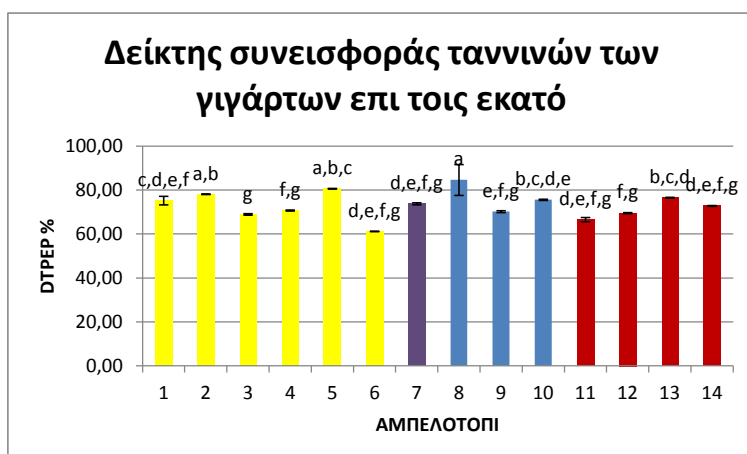
Εικόνα 12: Δείκτης συνεισφοράς των ταννινών του φλοιού επι τοις εκατό/αμπελοτόπι. Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

Η μεγαλύτερη τιμή συνεισφοράς των ταννινών του φλοιού (εικόνα 12) παρουσιάζεται στο αμπελοτόπι 3-Κούτσι ενώ η μικρότερη παρουσιάζεται στο αμπελοτόπι 8-Κάμπος. Διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, ενώ οι αντίστοιχες στα υπόλοιπα αμπελοτόπια δεν διαφέρουν. Σύμφωνα με τον τρύγο 2011 (64,74% dpell), (Τσαπάρας Ι.,2013) έχει πολύ μεγάλη διαφορά με τον τρύγο 2010 (36,27 % dpell), (Κομματά Α.,2013) και τον τρύγο 2012. Κατά τον τρύγο 2012 το αμπελοτόπι 6-Κούτσι έχει μεγαλύτερη τιμή από τον τρύγο του 2011. Οι υπόλοιποι αμπελώνες έχουν πολύ χαμηλότερες τιμές σε σύγκριση με τους άλλους δύο τρύγους.



Εικόνα 13: Δείκτης συγκέντρωσης ταννινών των γιγάρτων. Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

Η συγκέντρωση ταννινών των γιγάρτων εκφράζεται από τον δείκτη dtpep (εικόνα 13). Η μεγαλύτερη συγκέντρωση ταννινών των γιγάρτων παρατηρείται στο αμπελοτόπι 5-Κούτσι ενώ η μικρότερη εντοπίζεται στο αμπελοτόπι 6-Κούτσι (εικόνα 13). Ο τρύγος του 2012 παρουσιάζει υψηλές τιμές συγκέντρωσης ταννινών των γιγάρτων σε σχέση με το τρύγο του 2010, (18,51) dtpep (Κομματά Α.,2013) και τον τρύγο 2011, (11,83 dtpep) (Τσαπάρας Ι.,2013)



Εικόνα 14: Δείκτης συνεισφοράς ταννινών των γιγάρτων επι τοις εκατό/αμπελοτόπι. Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

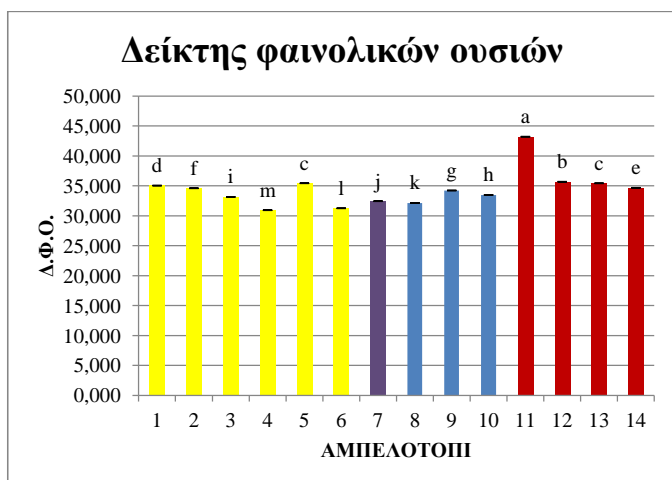
Στο παραπάνω γράφημα (εικόνα 14) παρατηρείται ότι ο επι τοις εκατό δείκτης συνεισφοράς ταννινών των γιγάρτων παρουσιάζει τη μεγαλύτερη τιμή στο αμπελοτόπι 8-Κάμπος ενώ τη χαμηλότερη τιμή στο αμπελοτόπι 3-Κούτσι, τα οποία διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ενώ οι αντίστοιχες τιμές στα υπόλοιπα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους. Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα με τον τρύγο του 2010,(60,83% dtper), (Κομματά Α.,2013) και τον τρύγο 2011,(35,25% dtper) (Τσαπάρας Ι.,2013) ο επι τοις εκατό δείκτης συνεισφοράς ταννινών των γιγάρτων εμφανίζει υψηλότερες τιμές.

5.2.1 Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (Δ.Φ.Ο.)

Πίνακας 7: Αποτελέσματα Δείκτη Φαινολικών

ΑΜΠΕΛΟΤΟΠΙ	Δ.Φ.Ο.	STD.EROOR		N
1	35,03±	0,020	d	2
2	34,57±	0,015	f	2
3	33,12±	0,025	i	2
4	30,90±	0,005	m	2
5	35,41±	0,010	c	2
6	31,23±	0,010	l	2
7	32,41±	0,010	j	2
8	32,12±	0,010	k	2
9	34,21±	0,020	g	2
10	33,46±	0,010	h	2
11	43,2±	0,010	a	2
12	35,67±	0,020	b	2
13	35,40±	0,005	c	2
14	34,66±	0,020	e	2

Για τη σύγκριση του ΔΦΟ, εφαρμόστηκε η ανάλυση ANOVA. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη είναι στατιστικά σημαντικές (Tukey's test, για επίπεδο σημαντικότητας < 0,05), το ± αφορά το τυπικό σφάλμα, N είναι ο αριθμός (2)επαναλήψεων). Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσοι όροι.



Εικόνα 15: Δείκτης Φαινολικών Ουσιών. Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

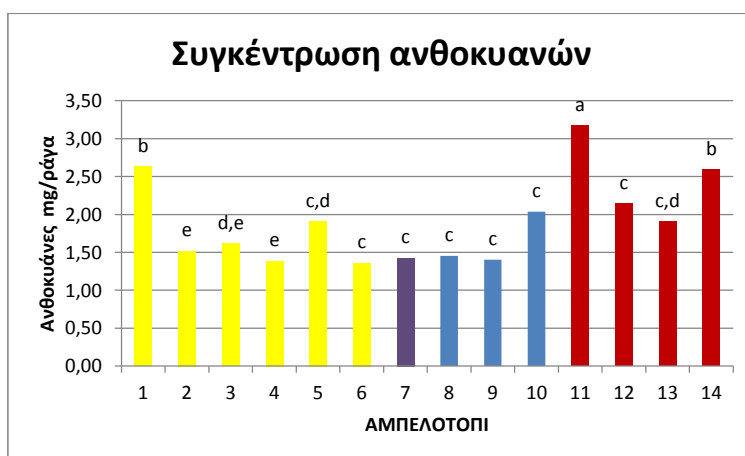
Μεγαλύτερο δείκτη φαινολικών ουσιών παρουσιάζει το αμπελοτόπι 11-Ασπρόκαμπος ενώ μικρότερο παρουσιάζει το αμπελοτόπι 4-Κούτσι. Επίσης όλοι οι αμπελώνες έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Ο δείκτης φαινολικών ουσιών στον τρύγο του 2012 έχει υψηλότερες τιμές σε σχέση με τον τρύγο του 2010 (Κομματά Α.,2013) και τον τρύγο του 2011 (Γσαπάρας Ι.,2013) .

5.3 Προσδιορισμός ολικών ανθοκυανών και φαινολικών (Pand *et. al.*, 1996, 2000)

Πίνακας 8: Αποτελέσματα της μεθόδου του Pand.

	mg Anthocyanin/ berry Mean	STD. ERROR		mg Anthocyanin/g berry Mean	STD. ERROR		Phenols au/ berry Mean	STD. ERROR		Phenols au/g berry Mean	STD. ERROR		N
1	2,62±	0,030	b	1,106±	0,013	b,c	3,74±	0,014	a	1,57±	0,006	b	3
2	1,52±	0,030	e	0,76±	0,015	f,g	2,00±	0,024	e	1,00±	0,012	f	3
3	1,61±	0,008	d,e	0,68±	0,004	g	2,80±	0,050	d	1,18±	0,021	e,f	3
4	1,39±	0,018	e	0,77±	0,010	f,g	2,70±	0,038	d	1,50±	0,021	b	3
5	1,91±	0,017	c,d	0,92±	0,008	d,e	3,26±	0,010	b,c	1,58±	0,005	b	3
6	1,36±	0,343	e	0,65±	0,165	g	2,55±	0,540	d	1,22±	0,260	d,e	3
7	1,42±	0,036	e	0,86±	0,022	e,f	2,48±	0,049	d	1,5±	0,030	b	3
8	1,45±	0,008	e	0,73±	0,004	f,g	2,82±	0,010	c,d	1,42±	0,005	b,c,d	3
9	1,40±	0,009	e	0,68±	0,004	g	2,61±	0,045	d	1,26±	0,023	c,d,e	3
10	2,03±	0,056	c	0,87±	0,024	d,e,f	3,47±	0,024	a,b	1,49±	0,010	b	3
11	3,17±	1,306	a	1,36±	0,009	a	3,67±	0,024	a,b	1,51±	0,010	b	3
12	2,14±	0,002	c	0,85±	0,001	e,f	2,91±	0,058	c,d	1,16±	0,023	e,f	3
13	1,90±	0,002	c,d	1,19±	0,001	a,b	2,90±	0,022	c,d	1,82±	0,014	a	3
14	2,59±	0,092	b	1,00±	0,036	c,d	3,73±	0,013	a	1,45±	0,005	b,c	3

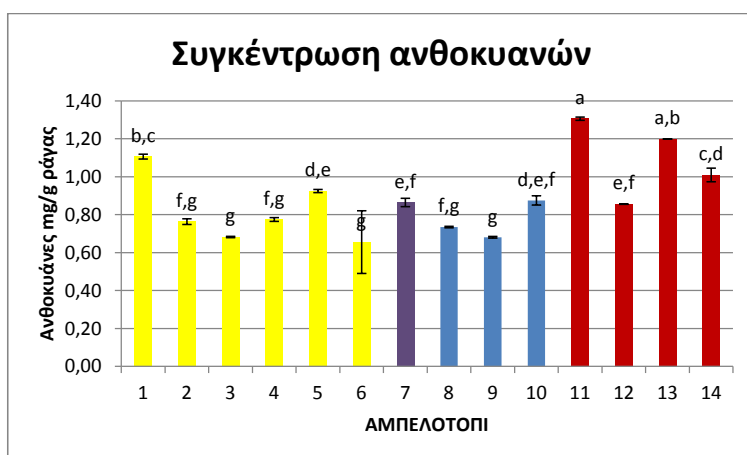
Για τη σύγκριση της μεθόδου Iland, εφαρμόστηκε η ανάλυση ANOVA. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη είναι στατιστικά σημαντικές (Tukey's test, για επίπεδο σημαντικότητας < 0,05), το ± αφορά το τυπικό σφάλμα, N είναι ο αριθμός (2)επαναλήψεων). Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσοι όροι .



Εικόνα 16: Συγκέντρωση Ανθοκυανών εκφρασμένη σε mg/ράγα. Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

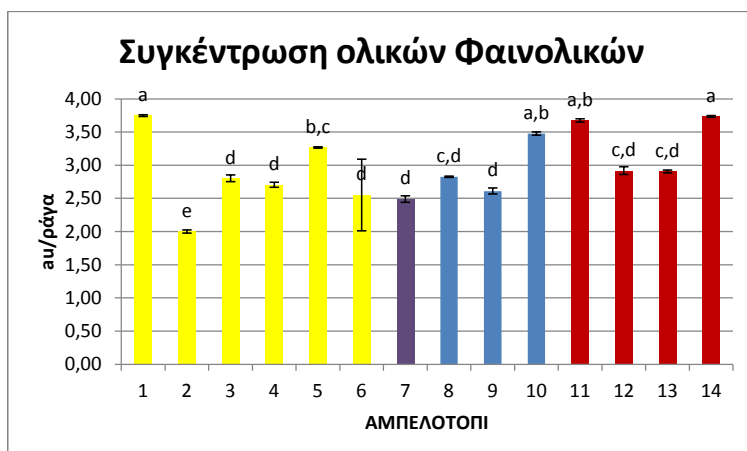
Με την μέθοδο του Iland προσδιορίστηκε η συγκέντρωση των ανθοκυανών εκφρασμένη ως mg / ράγα..Η μεγαλύτερη συγκέντρωση παρατηρείται στο αμπελοτόπι 11-Ασπρόκαμπος ενώ η μικρότερη στο αμπελοτόπι 6-Κούτσι. Τα αμπελοτόπια 5,6-

Κούτσι,7-Αρχαία Νεμέα, 8,9,10-Κάμπος,12,13-Ασπρόκαμπος δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους αλλά διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά με το 1,2,4-Κούτσι,11,14-Ασπρόκαμπος. Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα με τον τρύγο του 2010(1,457 ανθοκυάνες mg / ράγα), (Κομματά Α.,2013) και τον τρύγο του 2011(1,432 ανθοκυάνες mg / ράγα), (Τσαπάρας Ι.,2013) διαπιστώνεται οτι κατα τον τρύγο της τρέχουσας έρευνας οι τιμές είναι πολύ υψηλότερες σε σχέση με τους υπόλοιπους.



Εικόνα 17: Συγκέντρωση Ανθοκυανών εκφρασμένη σε mg / g ράγας. Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

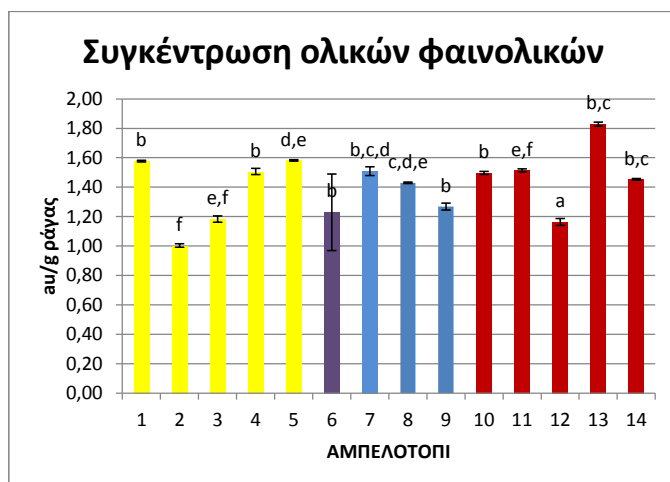
Στη συνέχεια η συγκέντρωση των ανθοκυανών εκφράζεται ως mg ανθοκυανών ανά g ράγας (εικόνα 17). Διακρίνεται στο γράφημα οτι την υψηλότερη συγκέντρωση έχει το αμπελοτόπι 11-Ασπρόκαμπος ενώ την μικρότερη το αμπελοτόπι 6-Κούτσι. Τα αμπελοτόπια 11 και 13-Ασπρόκαμπος δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους ενώ διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά με τα υπόλοιπα. Έχοντας ως συγκριτικά αποτελέσματα τον τρύγο του 2010 (0,851 mg ανθοκυανών ανά g ράγας), (ΚομματάΑ.,2013) και τον τρύγο του 2011 (0,577 mg ανθοκυανών ανά g ράγας)(Τσαπάρας Ι.,2013) παρατηρείται οτι υπάρχει μεγάλη διαφορά στις τιμές ανθοκυανών mg/g ράγα, οι οποίες είναι χαμηλότερες σε σχέση με τις άλλες δύο χρονιές.



Εικόνα 18: Συγκέντρωση ολικών φαινολικών au / ράγα. Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

Παρατηρείται ότι το αμπελοτόπι 1-Κούτσι έχει την μεγαλύτερη συγκέντρωση ενώ στο αμπελοτόπι 2-Κούτσι την μικρότερη(εικόνα 18).Το αμπελοτόπι 1-Κούτσι δεν διαφέρει στατιστικώς σημαντικά με τα αμπελοτόπια 10,11,14 ενώ διαφέρει στατιστικώς σημαντικά με όλα τα υπόλοιπα. Το αμπελοτόπι 2-Κούτσι διαφέρει στατιστικώς σημαντικά με όλα τα υπόλοιπα αμπελοτόπια. Κατα τους τρύγους 2010 (Κομματά Α.,2013) και 2011,(Τσαπάρας Ι.,2013) ο τρύγος του 2012 παρουσιάζει υψηλότερες τιμές.

Σύμφωνα με την παραπάνω εικόνα οι τιμές και στις τέσσερις κοινότητες είναι υψηλότερες σε σύγκριση με τα αποτελέσματα των τρύγων 2010(1,845 au / ράγα) (Κομματά Α.,2013) και 2011 (2,512 au / ράγα) (Τσαπάρας Ι.,2013).



Εικόνα 19: Συγκέντρωση ολικών φαινολικών εκφρασμένη ως αυ ανά γ ράγας. Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών εκφρασμένη ως μονάδες απορρόφησης ανά γ ράγας (εικόνα19) είναι μεγαλύτερη για το αμπελοτόπι 13-Ασπρόκαμπος ενώ στο αμπελοτόπι 2-Κούτσι παρατηρείται η μικρότερη. Το αμπελοτόπι 12-Ασπρόκαμπος διαφέρει στατιστικώς σημαντικά απ' όλα τα υπόλοιπα. Τα 1,4-κούτσι,9,10-Κάμπος δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ενώ διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά με όλα τα υπόλοιπα, καθώς και το 2-Κούτσι δεν διαφέρει στατιστικώς σημαντικά με το 3-Κούτσι, 11-Ασπρόκαμπος, αλλά διαφέρει στατιστικώς σημαντικά με όλα τα υπόλοιπα.

Η παραπάνω εικόνα σε σύγκριση με τον τρύγο του 2010(1,078 au / γ ράγας) (Κομματά Α.,2013) και με τον τρύγο 2011(0,98(au / γ ράγας), (Τσαπάρας Ι.,2013) παρουσιάζει μεγαλύτερες τιμές .

5.4 Methyl cellulose

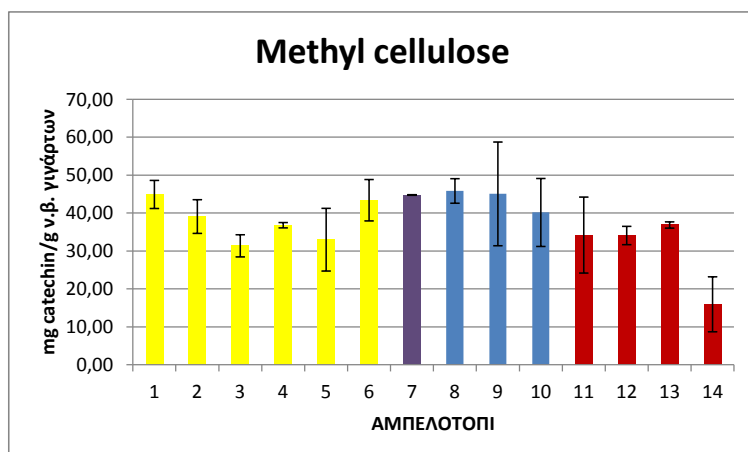
Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των ταννινών των γιγάρτων που μετρήθηκαν με τη μέθοδο «methyl cellulose». Η συγκέντρωση εκφράζεται ως mg/g ράγας.

Πίνακας 9: Συγκέντρωση ταννινών των γιγάρτων

ΑΜΠΕΛΟΤΟΠΙ	METHYL CELLULOSE mg/g.v.β.γιγάρτων catechin seeds	STD.ERROR	N

1	44,92±	3,70	a	2
2	39,09±	4,45	b,c,d	2
3	31,37±	2,92	e	2
4	36,80±	0,70	b,c,d	2
5	32,99±	8,27	b	2
6	43,40±	5,46	b,c	2
7	44,78±	0,08	a	2
8	45,85±	3,24	a	2
9	45,08±	13,69	b,c	2
10	40,17±	8,97	b,c,d	2
11	34,21±	10,02	b,c,d	2
12	34,09±	2,42	c,d,e	2
13	36,86±	0,82	d,e	2
14	15,94±	7,25	f	2

Για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων της μεθόδου Methyl cellulose εφαρμόστηκε η ανάλυση ANOVA. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη είναι στατιστικά σημαντικές (Tukey's test, για επίπεδο σημαντικότητας < 0,05), το ± αφορά το τυπικό σφάλμα, N είναι ο αριθμός των επαναλήψεων (2)



Εικόνα 20: Συγκέντρωση ολικών φαινολικών εκφρασμένη ως αι ανά g ράγας. Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος

Παρατηρείται ότι η υψηλότερη συγκέντρωση ταννινών των γιγάρτων, η οποία εκφράζεται σε mg κατεχίνης ανά g ράγας, έχει το αμπελοτόπι 9-Κάμπος ενώ την μικρότερη το αμπελοτόπι 14-Ασπρόκαμπος. Τα αμπελοτόπια 1-Κούτσι,7-Αρχαία Νεμέα,8-κάμπος δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους αλλά διαφέρουν με όλα τα υπόλοιπα. Το 3-Κούτσι διαφέρει στατιστικά σημαντικά με όλα τα υπόλοιπα πλην των 12 και 13 -Ασπρόκαμπος. Τέλος το 14-Ασπρόκαμπος διαφέρει στατιστικά σημαντικά με όλα τα υπόλοιπα. Οι μετρήσεις στα αμπελοτόπια 9-Κάμπος και 11-Ασπρόκαμπος είναι εσφαλμένες.

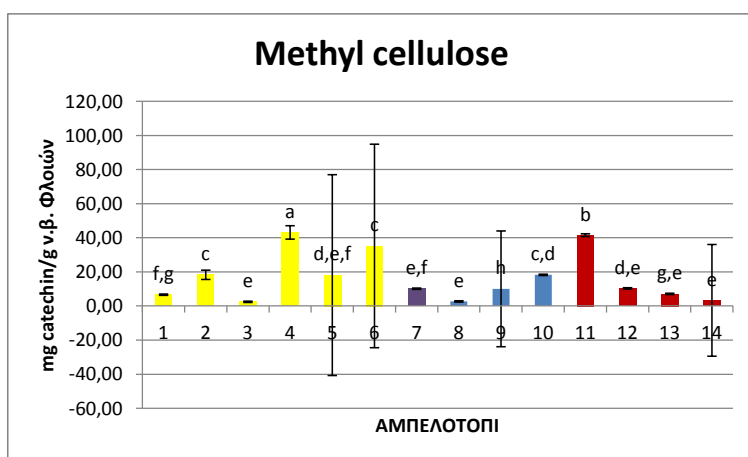
Συγκρίνοντας τον τρυγό του 2012 με τον τρυγό του 2010 (84,87mg catechin/g.v.β.φλοιών), (Κομματά Α.,2013) και τον τρυγό του 2011(65,72mg catechin/g v.β.γιάρτων), (Τσαπάρας Ι.,2013) παρατηρείται, οτι οι τιμές στον τρυγό 2012 είναι πολύ χαμηλότερες.

Πίνακας 10: Συγκέντρωση ταννινών των φλοιών.

ΑΜΠΕΛΟΤΟΠΙ	mg/g v.β.φλοιών κατεχίνης methyl cellulose skins Mean			N
1	6,63±	0,39	f,g	2
2	18,29±	2,73	c	2
3	2,45±	0,39	e	2
4	43,16±	3,92	a	2
5	18,12±	58,88	d,e,f	2
6	35,22±	59,66	c	2
7	10,13±	0,39	e,f	2
8	2,69±	0,39	e	2
9	10,05±	33,92	h	2
10	18,26±	0,39	c,d	2
11	41,53±±	0,78	b	2
12	10,35±	0,39	d,e	2
13	7,11±	0,39	g,e	2
14	3,32±	32,75	e	2

- Μορφοποιήθηκε: Ελληνικά (Ελλάδα)
- Μορφοποιήθηκε: Ελληνικά (Ελλάδα)
- Μορφοποιήθηκε: Ελληνικά (Ελλάδα)
- Μορφοποιήθηκε: Ελληνικά (Ελλάδα)
- Μορφοποιήθηκε: Ελληνικά (Ελλάδα)
- Μορφοποιήθηκε: Ελληνικά (Ελλάδα)
- Μορφοποιήθηκε: Ελληνικά (Ελλάδα)
- Μορφοποιήθηκε: Ελληνικά (Ελλάδα)
- Μορφοποιήθηκε: Ελληνικά (Ελλάδα)
- Μορφοποιήθηκε: Ελληνικά (Ελλάδα)
- Μορφοποιήθηκε: Ελληνικά (Ελλάδα)
- Μορφοποιήθηκε: Ελληνικά (Ελλάδα)

Για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων της μεθόδου Methyl cellulose εφαρμόστηκε η ανάλυση ANOVA. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη είναι στατιστικά σημαντικές (Tukey's test, για επίπεδο σημαντικότητας < 0,05), το ± αφορά το τυπικό σφάλμα, N είναι ο αριθμός των επαναλήψεων (2).



Εικόνα 21: Συγκέντρωση ολικών φαινολικών εκφρασμένη ως αι ανά g ράγας. Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

Στους φλοιούς οι μετρήσεις έδειξαν ότι η υψηλότερη συγκέντρωση ταννινών εκφρασμένη ως mg κατεχίνης ανά g ράγας προσδιορίστηκε στο αμπελοτόπι 11-Ασπρόκαμπος ενώ η μικρότερη στο αμπελοτόπι 3-Κούτσι, τα οποία διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά τόσο μεταξύ τους όσο και με τα υπόλοιπα αμπελοτόπια. Οι αντίστοιχες τιμές στα υπόλοιπα αμπελοτόπια δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους. Οι μετρήσεις στα δείγματα 5,6-Κούτσι, 9-Κάμπος και 14-Ασπρόκαμπος είναι εσφαλμένα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του τρύγου του 2010 (26,06 mg catechin/g.v.β.φλοιών),(Κομματά Α.,2013) και του τρύγου 2011 (26,19 mg catechin/g.v.β.φλοιών) οι τιμές είναι χαμηλότερες στον τρύγο του 2012.

5.5.DMAC – Προσδιορισμός Φλαβανολών και Προανθοκυανιδίων

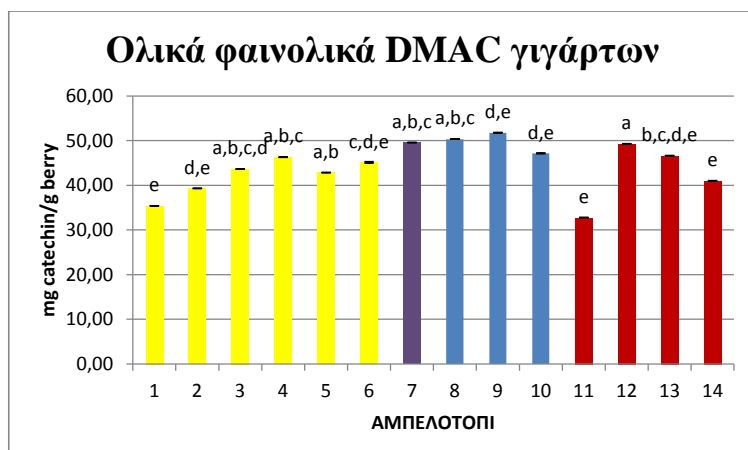
Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των προανθοκυανιδίων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του αντιδραστήριου «DMAC» (4-διμεθυλαμινο-κινναμωμική αλδεύδη) και τα αποτελέσματα παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 11: Αποτελέσματα μεθόδου DMAC.

ΑΜΠΕΛΟΤΟΠΙ	ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ mg/g v.β.γιγάρτων κατεχίνης dmac seeds Mean	STD.ERROR		N
1	35,40±	0,001	e	2
2	39,29±	0,034	d,e	2
3	43,63±	0,011	a,b,c,d	2
4	46,26±	0,012	a,b,c	2
5	42,84±	0,041	a,b	2
6	45,11±	0,163	c,d,e	2
7	49,56±	0,033	a,b,c	2
8	50,34±	0,052	a,b,c	2
9	51,76±	0,060	d,e	2
10	47,14±	0,101	d,e	2
11	32,76±	0,054	e	2
12	49,29±	0,009	a	2
13	46,62±	0,040	b,c,d,e	2
14	40,98±	0,056	e	2

.Για τη σύγκριση της συγκέντρωσης σε προανθοκυανιδίνες σε εκχυλίσματα φλοιών εφαρμόστηκε η ανάλυση ANOVA. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη είναι στατιστικά

σημαντικές (Tukey's test, Για επίπεδο σημαντικότητας < 0,05), Το \pm αφορά το τυπικό σφάλμα, N είναι ο αριθμός των επαναλήψεων (2)



Εικόνα 22: Ολικά φαινολικά των γιγάρτων με τη μέθοδο DMAC. Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η υπό-ζώνη Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος

Η μεγαλύτερη συγκέντρωση προανθοκυανιδών στα γίγαρτα παρατηρείται στο αμπελοτόπι 9-Κάμπος ενώ η μικρότερη στο αμπελοτόπι 11-Ασπρόκαμπος. Τα αμπελοτόπια 1,2,6- Κούτσι, 9,10-Κάμπος, 11,13,14-Ασπρόκαμπος δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους, ενώ διαφέρουν με όλα τα υπόλοιπα. Σύμφωνα με το γράφημα οι τιμές στα αμπελοτόπια 8 και 9 από το κάμπο της Νεμέας παρουσιάζουν τις υψηλότερες τιμές.

Ο τρύγος του 2012 παρουσιάζει υψηλότερες τιμές σε σχέση με τον τρύγο του 2010 (Κομματά Α.,2013) και τον τρύγο (Τσαπάρας Ι.,2013).

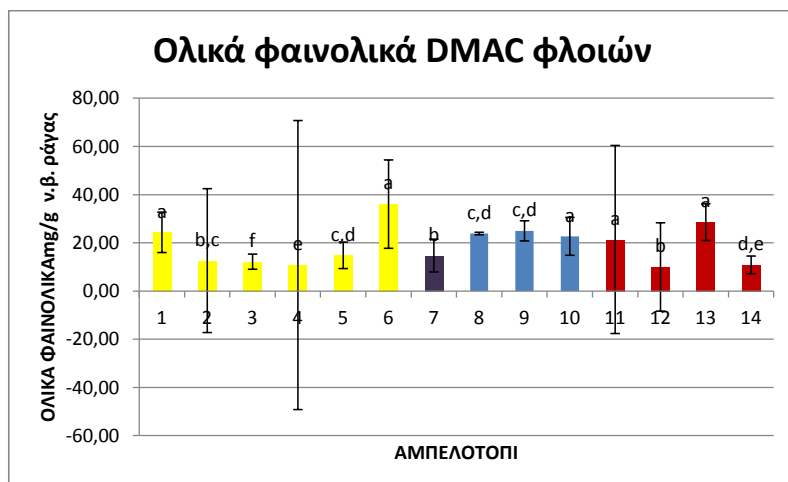
Πίνακας 12: Συγκέντρωση προανθοκυανιδών των φλοιών mg κατεχίνης g ανα ράγας

ΑΜΠΕΛΟΤΟΠΙ	ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ mg/gv.β.φλοιών dmac skins Mean	STD.ERROR		N
1	24,33±	8,38	a	2
2	12,59±	29,85	b,c	2
3	12,15±	3,14	f	2
4	10,75±	59,97	e	2
5	14,79±	5,50	c,d	2
6	36,02±	18,33	a	2

7	14,69±	6,81	b	2
8	23,83±	0,52	c,d	2
9	24,94±	4,19	c,d	2
10	22,66±	7,86	a	2
11	21,35±	39,02	a	2
12	9,96±	18,33	b	2
13	28,55±	7,59	a	2
14	10,83±	3,67	d,e	2

Για τη σύγκριση της συγκέντρωσης σε προανθοκυανιδίνες σε εκχυλίσματα φλοιών εφαρμόστηκε η ανάλυση ANOVA. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη είναι στατιστικά σημαντικές (Tukey's test, Για επίπεδο σημαντικότητας < 0,05), Το ± αφορά το τυπικό σφάλμα, N είναι ο αριθμός των δειγμάτων (2)

Η μεγαλύτερη συγκέντρωση προανθοκυανιδών στους φλοιούς παρατηρείται στο αμπελοτόπι 13-Ασπρόκαμπος ενώ η μικρότερη στο αμπελοτόπι 3-Κούτσι. Τα οποία έχουν στατιστικώς σημαντική διαφορά και μεταξύ τους αλλά και με όλα τα υπόλοιπα.



Εικόνα 23: Ολικά φαινολικά των γιγάρτων με τη μέθοδο DMAC. Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η υπό-ζώνη Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος

Τα αποτελέσματα δεν μπορούν να κριθούν λόγω εσφαλμένων αποτελεσμάτων που προκλήθηκε από μόλυνση των δειγμάτων και μη επαρκή ποσότητα δείγματος για να επαναληφθεί η μέτρηση.

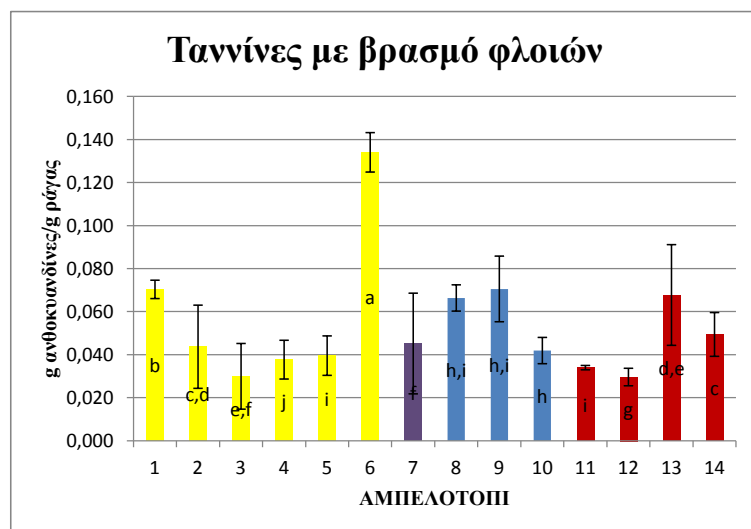
5.6 Ολικές Ταννίνες με Βρασμό.

Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των ολικών ταννινών εκφρασμένες ως g κατεχίνης / g νωπού βάρους γιγάρτων και φλοιών αντίστοιχα.

Πίνακας 13: Αποτελέσματα της μεθόδου ταννίνες με βρασμό στους φλοιούς-μετατροπή σε ανθοκυανιδίνες

ΑΜΠΕΛΟΤΟΠΙ	Τανίνες με βρασμό g Catechin/g berry skins Mean	STD.ERROR		N
1	0,070±	0,004	b	2
2	0,044±	0,019	c,d	2
3	0,030±	0,015	e,f	2
4	0,038±	0,009	j	2
5	0,040±	0,009	i	2
6	0,134±	0,009	a	2
7	0,045±	0,023	f	2
8	0,066±	0,006	h,i	2
9	0,071±	0,015	h,i	2
10	0,042±	0,006	h	2
11	0,034±	0,001	i	2
12	0,030±	0,004	g	2
13	0,068±	0,023	d,e	2
14	0,049±	0,01	c	2

Για τη σύγκριση της μεθόδου τανίνες με βρασμό των φλοιών εφαρμόστηκε η ανάλυση ANOVA. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη είναι στατιστικά σημαντικές (Tukey's test, για επίπεδο σημαντικότητας < 0,05), το ± είναι το τυπικό σφάλμα, N είναι ο αριθμός των επαναλήψεων (2)



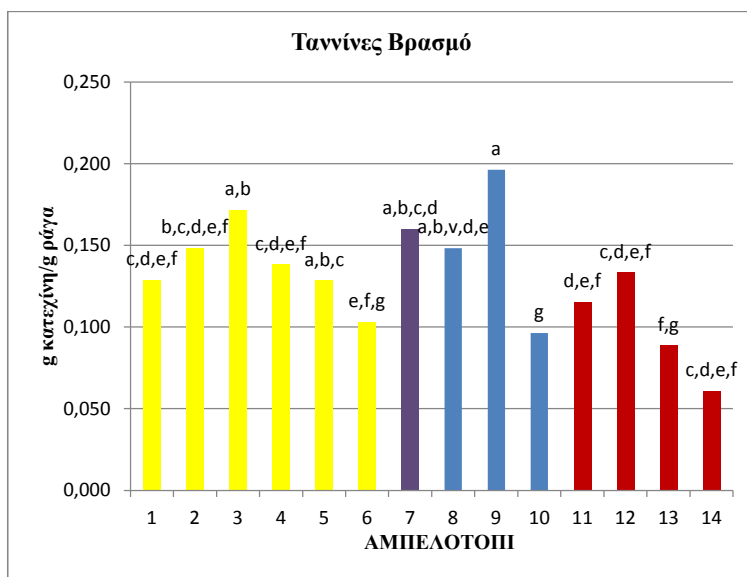
Εικόνα 24: Ταννίνες με βρασμό για τους φλοιούς (g Κατεχίνες ανα g ράγας). Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

Στο παραπάνω γράφημα παρατηρείται ότι το αμπελοτόπι 6-Κούτσι διαφέρει στατιστικώς σημαντικά με τα υπόλοιπα αμπελοτόπια και παρουσιάζει την υψηλότερη τιμή. Μικρότερες τιμές παρατηρούνται στα αμπελοτόπια 3-Κούτσι και 12-Ασπρόκαμπος. Συγκρίνοντας τον τρύγο του 2011 (Τσαπάρας Ι., 2013) με τον τρύγο 2012 παρατηρείται ότι οι τιμές ταννινών είναι χαμηλότερες.

Πίνακας 14: Αποτελέσματα της μεθόδου ταννίνες με βρασμό στα γίγαρτα

ΑΜΠΕΛΟΤΟΠΙ	TANNINES boiled g κατεχίνη/g v.β.γιγάρτων seeds Mean	STD.ERROR		N
1	0,129±	0,014	c,d,e,f	2
2	0,148±	0,017	b,c,d,e,f	2
3	0,172±	0,041	a,b	2
4	0,138±	0,001	c,d,e,f	2
5	0,129±	0,041	a,b,c	2
6	0,103±	0,105	e,f,g	2
7	0,160±	0,010	a,b,c,d	2
8	0,148±	0,012	a,b,c,d,e	2
9	0,196±	0,019	a	2
10	0,096±	0,025	g	2
11	0,115±	0,006	d,e,f	2
12	0,133±	0,029	c,d,e,f	2
13	0,089±	0,010	f,g	2
14	0,061±	0,117	c,d,e,f	2

Για τη σύγκριση της μεθόδου ταννίνες με βρασμό των γιγάρτων εφαρμόστηκε η ανάλυση ANOVA. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη είναι στατιστικά σημαντικές (Tukey's test, για επίπεδο σημαντικότητας < 0,05), το ± είναι το τυπικό σφάλμα, N είναι ο αριθμός των επαναλήψεων (2)



Εικόνα 25: Ταννίνες με βρασμό στα γίγαρτα (g κατεχίνης/ g ράγα.). Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

Το αμπελοτόπι 10-Κάμπος παρουσιάζει την μικρότερη τιμή και έχει στατιστικώς σημαντική διαφορά με όλα τα υπόλοιπα αμπελοτόπια εκτός του 13-Ασπρόκαμπος και 6-Κούτσι. Όλα τα υπόλοιπα αμπελοτόπια δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά. Παρατηρείται ότι οι τιμές των συγκεντρώσεων στα αμπελοτόπια 3-Κούτσι και 9-Κάμπος παρουσιάζουν υψηλές τιμές σε σχέση με όλα τα άλλα αμπελοτόπια. Τα γίγαρτα παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές στον τρύγο 2012, σε σχέση με τους τρύγους 2010 (0,075 g κατεχίνης/ g ράγα) (Κομματά Α.,2013) και 2011 (0,062 g κατεχίνης/ g ράγα) (Τσαπάρας Ι.,2013)..

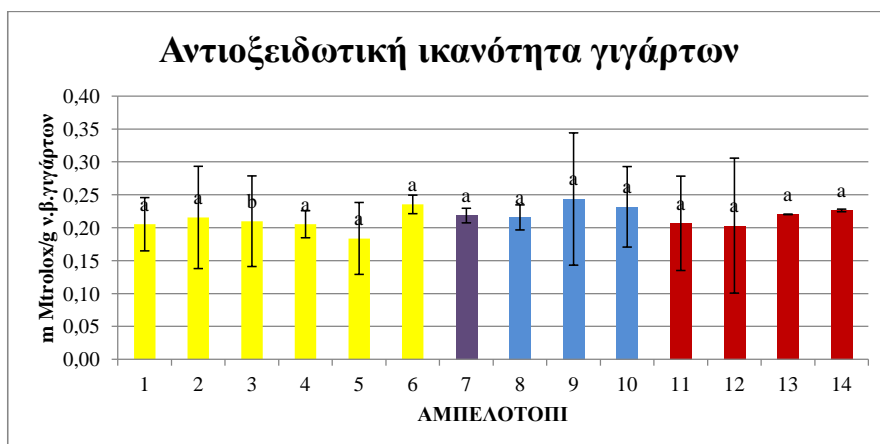
5.7 DPPH - μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας

Η αντιοξειδωτική ικανότητα στα εκχυλίσματα γιγάρτων και φλοιών εκφράζεται ως mmol Trolox / g νωπού βάρους γιγάρτων και φλοιών. Ο πίνακας που ακολουθεί παρουσιάζει τα αποτελέσματα της εφαρμογής της μεθόδου στα γίγαρτα και ακολουθεί στους φλοιούς.

Πίνακας 15: Αντιοξειδωτική ικανότητα εκχυλισμάτων γιγάρτων

ΑΜΠΕΛΟΤΟΠΙ	ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ mM trolox /g v.β.γιγάρτων Mean	STD.ERROR		N
1	0,21±	0,0405	a	2
2	0,22±	0,0777	a	2
3	0,21±	0,0688	b	2
4	0,21±	0,0205	a	2
5	0,18±	0,0546	a	2
6	0,24±	0,0141	a	2
7	0,22±	0,0111	a	2
8	0,22±	0,0190	a	2
9	0,24±	0,1004	a	2
10	0,23±	0,0611	a	2
11	0,21±	0,0717	a	2
12	0,20±	0,1025	a	2
13	0,22±	0,0002	a	2
14	0,23±	0,0020	a	2

Για τη σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας σε εκχυλίσματα γιγάρτων εφαρμόστηκε η ανάλυση ANOVA. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη είναι στατιστικά σημαντικές (Tukey's test, για επίπεδο σημαντικότητας $< 0,05$), το \pm είναι το τυπικό σφάλμα, N είναι ο αριθμός των επαναλείψεων (2)



Εικόνα 26: Αντιοξειδωτική ικανότητα των γιγάρτων(mtrolox/g v.β.γιγάρτων). Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

Στο παραπάνω γράφημα παρατηρείται ότι η μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα των γιγάρτων βρίσκεται στο αμπελοτόπι 9-Κάμπος ενώ η μικρότερη στο αμπελοτόπι 5-Κούτσι. Το μόνο αμπελοτόπι που διαφέρει στατιστικώς σημαντικά είναι το 3-Κούτσι ενώ όλα τα υπόλοιπα αμπελοτόπια δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά. Οι τιμές της αντιοξειδωτικής ικανότητας των γιγάρτων στον τρύγο του 2012, είναι πολύ μεγάλη σε σύγκριση με το τρύγο 2010 (0,114 mtrolox/g v.β.γιγάρτων) (Κομματά Α.,2013) και τον τρύγο 2011(0,110 mtrolox/g v.β.γιγάρτων) (Τσαπάρας Ι.,2013).

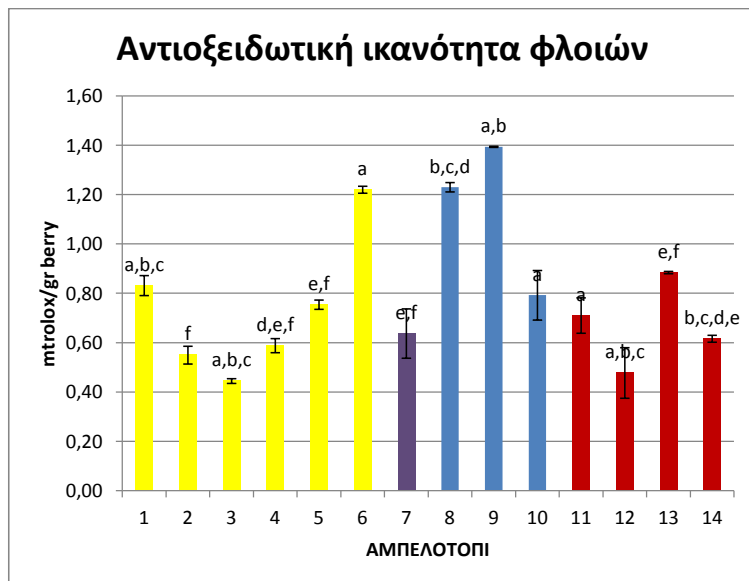
Πίνακας 16: Αντιοξειδωτική ικανότητα εκχυλισμάτων φλοιών.

ΑΜΠΕΛΟΤΟΠΗ	ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ mM trolox/berry skins Mean	STD.ERROR		N
1	0,08±	0,040	a,b,c	2
2	0,05±	0,036	f	2
3	0,04±	0,010	a,b,c	2
4	0,06±	0,029	d,e,f	2
5	0,08±	0,019	e,f	2
6	0,12±	0,014	a	2
7	0,06±	0,009	e,f	2
8	0,12±	0,019	b,c,d	2
9	0,14±	0,002	a,b	2
10	0,08±	0,010	a	2
11	0,07±	0,007	a	2

12	0,05±	0,010	a,b,c	2
13	0,09±	0,005	e,f	2
14	0,06±	0,014	b,c,d,e	2

Για τη σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας σε εκχυλίσματα φλοιών εφαρμόστηκε η ανάλυση ANOVA.

Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη είναι στατιστικά σημαντικές (Tukey's test, για επίπεδο σημαντικότητας < 0,05), το ± είναι το τυπικό σφάλμα, N είναι ο αριθμός των επαναλήψεων (2)



Εικόνα 27: Αντιοξειδωτική ικανότητα των φλοιών (mtrolox/g ράγας). Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

Η μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα εντοπίζεται στο αμπελοτόπι 9-Κάμπος ενώ η μικρότερη στο αμπελοτόπι 3-Κούτσι. Τα αμπελοτόπια 6-Κούτσι, 10-κάμπος, 11-Ασπρόκαμπος δέν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά με το 1,3-Κούτσι, 12-Ασπρόκαμπος αλλά διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά με τα υπόλοιπα. Το αμπελοτόπι 2-Κούτσι δέν διαφέρει στατιστικώς σημαντικά με το 4,5-Κούτσι, 7-Αρχαία Νεμέα αλλά διαφέρει στατιστικώς σημαντικά με όλα τα υπόλοιπα. Τα αμπελοτόπια 6-Κούτσι, 8,9-Κάμπος παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας σε σχέση με το μέσο όρο των ομάδων τους. Η αντιοξειδωτική ικανότητα στους φλοιούς είναι κοντά στις τιμές του τρύγου 2010 (0,074 mtrolox/g ράγας) (Κομματά Α.,2013) και τις τιμές του τρύγου 2011 (0,103 mtrolox/g ράγας) (Τσαπάρας Ι.,2013), με κάποιους αμπελώνες (6-Κούτσι και 8,9-Κάμπος) να παρουσιάζουν πολύ υψηλές τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας.

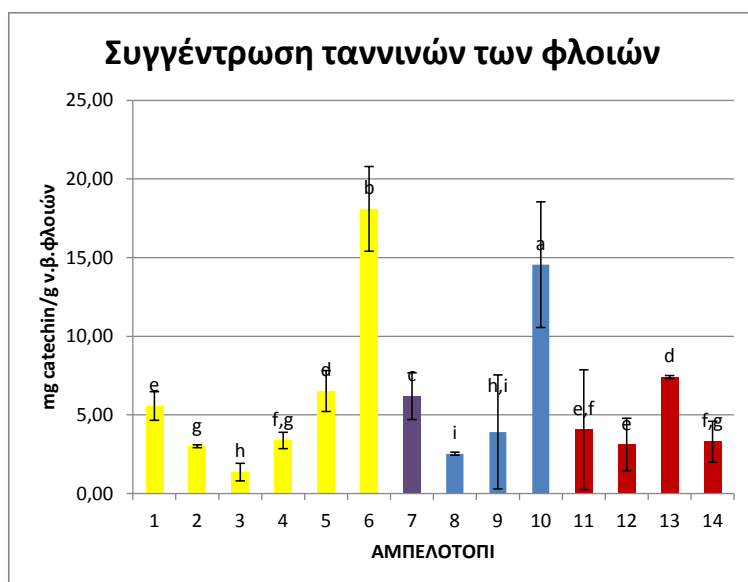
5.8 Προσδιορισμός των ταννινών με τη μέθοδο Habertson et al.(2003)

Με την μέθοδο Habertson et al.(2003) προσδιορίζεται η συγκέντρωση των ταννινών. Ακολουθούν πίνακες που παρουσιάζουν τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης φλοιών και γιγάρτων εκφρασμένα σε mg κατεχίνης ανά g νεπού βάρους των ραγών.

Πίνακας 17: Συγκέντρωση ταννινών mg κατεχίνης ανά g νεπού βάρους των ραγών.

ΑΜΠΕΛΟΤΟΠΙ	Συγκέντρωση ταννινών mg catechin/g berry - Habertson skins Mean	STD.ERROR		N
1	5,56±	0,91	e	2
2	3,00±	0,09	g	2
3	1,35±	0,56	h	2
4	3,37±	0,52	f,g	2
5	6,51±	1,30	d	2
6	18,09±	2,69	b	2
7	6,18±	1,49	c	2
8	2,53±	0,09	i	2
9	3,91±	3,62	hi	2
10	14,54±	3,99	a	2
11	4,05±	3,81	e,f	2
12	3,11±	1,67	e	2
13	7,40±	0,09	d	2
14	3,29±	1,30	f,g	2

Για τη σύγκριση της συγκέντρωσης ταννινών των φλοιών εφαρμόστηκε η ανάλυση ANOVA. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη είναι στατιστικά σημαντικές (Tukey's test, για επίπεδο σημαντικότητας < 0,05), το ± είναι το τυπικό σφάλμα, N είναι ο αριθμός των επαναλήψεων (2)



Εικόνα 28: Συγκέντρωση ταννινών των φλοιών (mg catechin/g v.β.φλοιών). Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

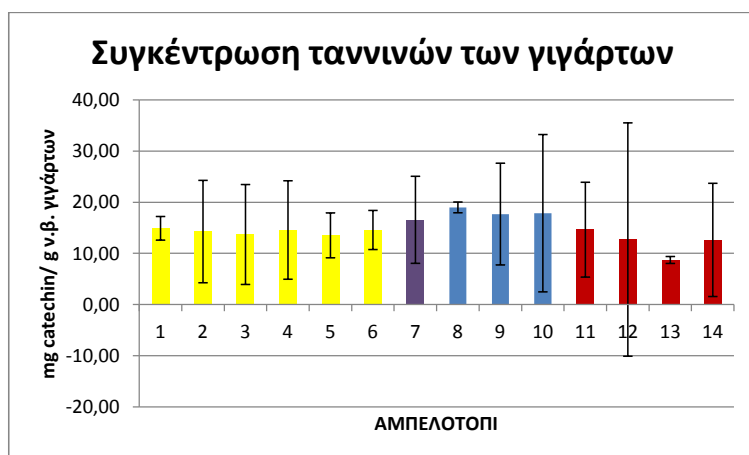
Απο το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι οι υψηλότερες τιμές βρίσκονται στα αμπελοτόπια 6-Κούτσι και 10-κάμπος, ενώ η χαμηλότερη βρίσκεται στο αμπελοτόπι 3-Κούτσι. Σύμφωνα με την εικόνα 25 οι αμπελώνες 10-κάμπος, 6-Κούτσι, 7-Αρχαία Νεμέα, 13-Ασπρόκαμπος, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους καθώς επίσης και με τα υπόλοιπα αμπελοτόπια. Τα αμπελοτόπια 1-Κούτσι, 11,12-Ασπρόκαμπος δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους, αλλά διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά με όλα τα υπόλοιπα.

Πίνακας 18: Συγκέντρωση ταννινών των γιγάρτων mg κατεχίνης/g νωπού βάρους των γιγάρτων.

ΑΜΠΕΛΟΤΟΠΙ	Συγκέντρωση ταννινών mg catechin/g v.β.γιγάρτων - Mean	STD.ERROR	N

1	14,90±	2,305	d	2
2	14,26±	10,0	f,g	2
3	13,69±	9,766	e	2
4	14,57±	9,621	f	2
5	13,51±	4,385	d	2
6	14,57±	3,820	c	2
7	16,56±	8,505	e	2
8	18,99±	1,053	a	2
9	17,68±	9,944	b	2
10	17,85±	15,373	d	2
11	14,63±	9,264	e	2
12	12,70±	22,800	e	2
13	8,71±	0,677	g	2
14	12,63±	11,064	g	2

Για τη σύγκριση της συγκέντρωσης ταννινών των γιγάρτων εφαρμόστηκε η ανάλυση ANOVA. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη είναι στατιστικά σημαντικές (Tukey's test, για επίπεδο σημαντικότητας < 0,05), το ± είναι το τυπικό σφάλμα, N είναι ο αριθμός των επαναλήψεων (2).



Εικόνα 29: Συγκέντρωση ταννινών των φλοιών (mg catechin/g v.β.φλοιών). Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

Τα αποτελέσματα παρουσιάζουν σφάλμα.

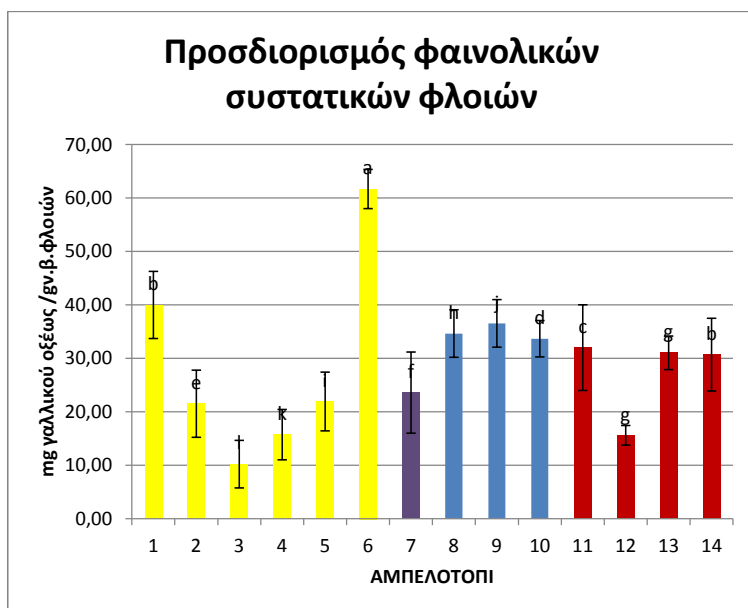
5.9 Ποσοτικός προσδιορισμός των φαινολικών συστατικών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, Somers (1974)

Ακολουθούν πίνακες και γραφήματα με τον ποσοτικό προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών των φλοιών και γιγάρτων εκφρασμένα σε mg γαλλικού οξέως ανά g νωπού βάρους των ραγών.

Πίνακας 19: Προσδιορισμός φαινολικών συστατικών φλοιών (mg γαλλικού οξέος/g νωπού βάρους φλοιών)

ΑΜΠΕΛΟΤΟΠΙ	ολικά φαινολικά mg γαλλικού οξέος/g v.β.φλοιών berry Folin Ciocalteu skins Mean	STD.ERROR		N
1	39,97±	6,29	b	2
2	21,48±	6,28	e	2
3	10,17±	4,45	l	2
4	15,70±	4,71	k	2
5	21,90±	5,50	i	2
6	61,67±	3,67	a	2
7	23,57±	7,59	f	2
8	34,62±	4,45	h	2
9	36,52±	4,45	j	2
10	33,65±	3,40	d	2
11	31,98±	8,02	c	22
12	15,58±	1,83	g	2
13	31,01±	3,14	g	2
14	30,67±	6,81	b	2

Για τη σύγκριση της μεθόδου Folin-Ciocalteu στους φλοιούς εφαρμόστηκε η ανάλυση ANOVA. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη είναι στατιστικά σημαντικές (Tukey's test, για επίπεδο σημαντικότητας < 0,05), το ± είναι το τυπικό σφάλμα, N είναι ο αριθμός των επαναλήψεων (2).



Εικόνα30: Προσδιορισμός φαινολικών συστατικών των φλοιών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu εκφρασμένα σε mg γαλλικού οξέως/g berry . Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

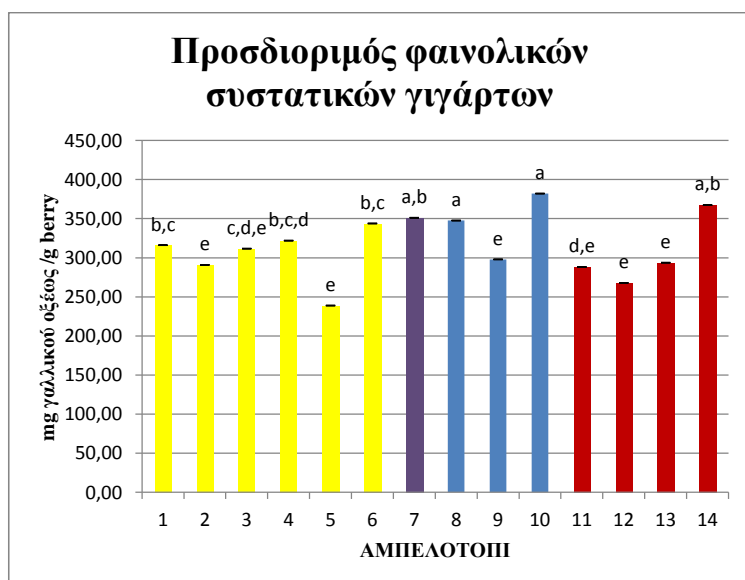
Στην παραπάνω εικόνα παρατηρείται ότι το αμπελοτόπι 6-Κούτσι διαφέρει στατιστικώς σημαντικά με όλα τα υπόλοιπα αμπελοτόπια. Τα αμπελοτόπια 1-Κούτσι και 14-Ασπρόκαμπος δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους αλλά διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά με όλα τα υπόλοιπα αμπελοτόπια. Τα αμπελοτόπια 11-Ασπρόκαμπος, 10-Κάμπος, 2-Κούτσι, 7-Αρχαία Νεμέα, 8-Κάμπος, 5-Κούτσι, 9-Κάμπος, 4&3-Κούτσι διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους, όπως και με όλα τα υπόλοιπα. Τέλος τα αμπελοτόπια 11 και 12-Ασπρόκαμπος διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά με όλα τα υπόλοιπα, αλλά δεν διαφέρουν μεταξύ τους.

Πίνακας 20: Αποτελέσματα ολικών φαινολικών των γιγάρτων με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu (mg γαλλικού οξέως/g ν.β.φλοιών).

ΑΜΠΕΛΟΤΟΠΙ	ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ mg γαλλικού οξέως/g berry Folin-Ciocalteu seeds Mean	STD.ERROR		N
1	316,00±	0,020	b,c	2
2	290,81±	0,010	e	2
3	311,68±	0,043	c,d,e	2
4	321,92±	0,043	b,c,d	2
5	238,87±	0,007	e	2

6	343,82±	0,008	b,c	2
7	351,23±	0,036	a,b	2
8	347,59±	0,041	a	2
9	297,87±	0,040	e	2
10	382,09±	0,035	a	2
11	288,11±	0,057	d,e	2
12	267,82±	0,001	e	2
13	293,73±	0,034	e	2
14	367,28±	0,043	a,b	2

Για τη σύγκριση της μεθόδου Folin-Ciocalteu στα γίγαρτα εφαρμόστηκε η ανάλυση ANOVA. Οι τιμές με διαφορετικά γράμματα σε κάθε στήλη είναι στατιστικά σημαντικές (Tukey's test, για επίπεδο σημαντικότητας < 0,05), το ± είναι το τυπικό σφάλμα, N είναι ο αριθμός των επαναλήψεων (2).



Εικόνα 31: Προσδιορισμός φαινολικών συστατικών των γιγάρτων με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu εκφρασμένα σε mg γαλλικού οξέως/g berry. Με κίτρινο χρώμα απεικονίζεται η κοινότητα Κούτσι, με μωβ η Αρχαία Νεμέα, με μπλε ο κάμπος, με κόκκινο ο Ασπρόκαμπος.

Στην εικόνα 31 παρατηρείται ότι τα αμπελοτόπια 7-Αρχαία Νεμέα, 8&10- Κάμπος, και 14-Ασπρόκαμπος δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους αλλά διαφέρουν με όλα τα υπόλοιπα αμπελοτόπια. Τα αμπελοτόπια 2,5-Κούτσι, 9-Κάμπος, 11,12,13-Ασπρόκαμπος δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους αλλά διαφέρουν με όλα τα υπόλοιπα. Τα αμπελοτόπια 1,3,4,6- Κούτσι δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους. Τα αμπελοτόπια 3,4-Κούτσι και 11-Ασπρόκαμπος δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους.

5.10 Φαινολικά γιγάρτων HPLC

Με την βοήθεια της HPLC προσδιορίστηκαν οι ολιγομερείς φαινολικές ενώσεις στα γιγάρτα και στους φλοιούς. Οι ενώσεις που μετρήθηκαν ήταν οι παρακάτω: γαλλικό οξύ, κατεχίνη, επικατεχίνη, γαλλικός εστέρας της επικατεχίνης (ECG), διμερείς προκυανιδίνες B1 και B2

Πίνακας 21: Αποτελέσματα της μεθόδου HPLC στους φλοιούς

	Gallic	EGC	ECG	Catechin
1	37,270	93,120	59,768	2,018
2	6,603	116,762	110,003	2,261
3	82,904	214,044	133,808	
4	84,638	131,752	3,319	95,380
5	21,583	89,449	50,542	1,994
6	18,861	65,818	58,567	
7	45,871	147,056	65,192	
8	29,562	56,082	33,227	1,829
9	8,778	42,108	32,589	
10	22,645	22,755	5,529	2,907
11	46,814	109,678	67,110	
12	122,605	162,579	125,881	49,568
13	30,507	17,201	44,348	
14	52,140	107,612	44,849	190,085

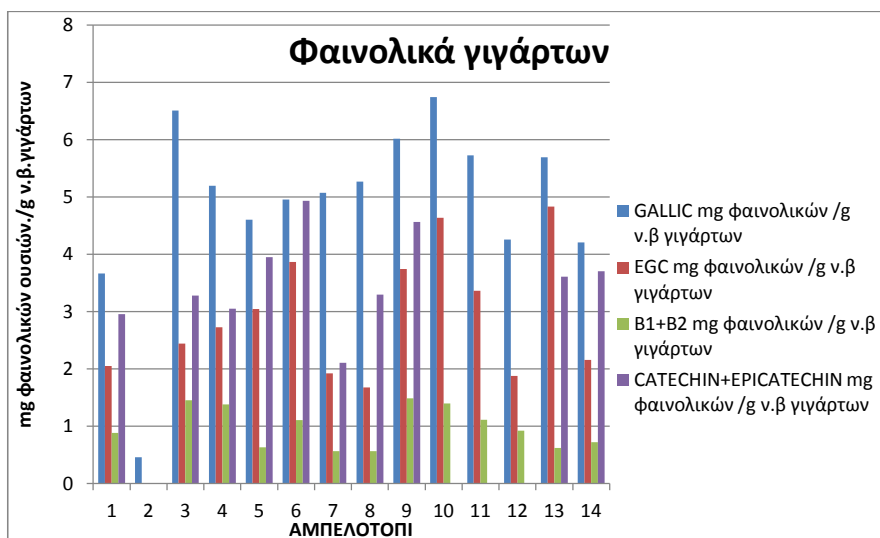


Εικόνα 32: Συγκεντρώσεις ολιγομερών φαινολικών ουσιών των φλοιών εκφρασμένες σε mg .φαινολικών ουσιών ανά γραμμαριο νωπού βάρους των φλοιών

Στην εικόνα 32 παρατηρείται η μεγαλύτερη συγκέντρωση κατεχίνης στον αμπελώνα 13-Ασπρόκαμπος, ενώ η μικρότερη στον αμπελώνα 2-Κούτσι. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση γαλλικού οξέως παρατηρείται στον αμπελώνα 8-Κάμπος ενώ η μικρότερη παρατηρείται στον αμπελώνα 2-Κούτσι.

Πίνακας 22: Συγκέντρωσης Ολιγομερών φαινολικών ουσιών των γιγάρτων.

ΑΜΠΕΛΟΤΟΠΙΑ	GALLIC mg φαινολικών /g v.β γιγάρτων	EGC mg φαινολικών /g v.β γιγάρτων	B1+B2 mg φαινολικών /g v.β γιγάρτων	CATECHIN+EPICATECHIN mg φαινολικών /g v.β γιγάρτων
1	3,66	2,05	0,88	2,96
2	0,46			
3	6,51	2,44	1,45	3,28
4	5,19	2,73	1,38	3,05
5	4,60	3,04	0,63	3,95
6	4,96	3,87	1,11	4,93
7	5,07	1,92	0,57	2,10
8	5,27	1,68	0,56	3,30
9	6,02	3,74	1,49	4,56
10	6,74	4,64	1,39	0,01
11	5,73	3,36	1,11	0,00
12	4,26	1,88	0,92	0,00
13	5,69	4,83	0,62	3,61
14	4,21	2,15	0,72	3,70

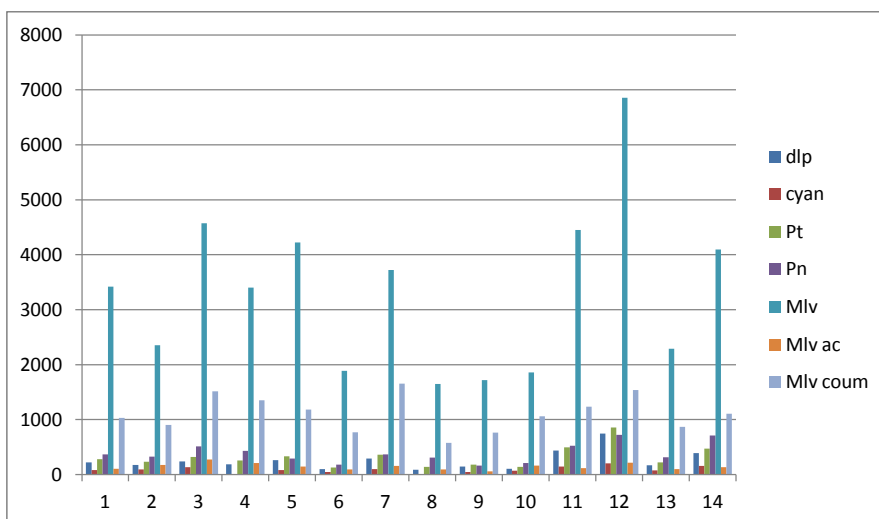


Εικόνα33: Συγκεντρώσεις ολιγομερών φαινολικών συστατικών γιγάρτων εκφρασμένα σε mg φαινολικών ουσιών ανά g νωπού βάρους γιγάρτων

Στην εικόνα 33 παρατηρείται ότι η μεγαλύτερη συγκέντρωση γαλλικού οξέως βρίσκεται στο αμπελοτόπι 10-Κάμπος και ακολουθεί το αμπελοτόπι 3-Κούτσι. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών του EGC είναι στο αμπελοτόπι 13-Ασπρόκαμπος και ακολουθεί τα αμπελοτόπια 10-Κάμπος και 6-Κούτσι ενώ η μικρότερη εντοπίζεται στο αμπελοτόπι 8-Κάμπος. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση κατεχίνης και επικατεχίνης (Catechin+Epicatechin) παρατηρείται στον αμπελώνα 6-Κούτσι και ακολουθούν οι αμπελώνες 8-Κάμπος και 1-Κούτσι. Την μικρότερη συγκέντρωση έχει ο αμπελώνας 7-Αρχαία Νεμέα. Τέλος οι διμερείς προανθοκυανιδίνες παρουσιάζουν την μεγαλύτερη συγκέντρωση στον αμπελώνα 3-Κούτσι και ακολουθούν οι αμπελώνες 9,10-Κάμπος, ενώ η μικρότερη τιμή συγκέντρωσης παρατηρείται στο 7-Αρχαία Νεμέα.

Πίνακας 23: Συγκέντρωση Ανθοκυανίνες εκφρασμένες σε mg μαλβιδίνης/g v.β.φλοιών

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
dlp	222,0091075	177,7198566	240,688112	189,6513	262,8337	97,2221942	292,2863212	89,41961	149,02185	104,943984	439,2175145	743,805067	171,58537	391,2666
cyan	82,18167518	96,55055495	132,1582325		83,33593	48,38235289	100,5642233		48,678722	71,6206978	144,7672039	203,387287	75,224937	155,3476
Pt	278,8511511	235,7880364	322,2804506	256,4617	329,9809	127,1885163	358,9166159	141,767	178,68949	139,990223	496,1762765	856,054902	219,29027	474,4316
Pn	369,7008583	328,7459524	513,8911446	430,2243	290,9221	182,2155208	368,3753103	311,8436	161,6918	212,076385	526,2061777	723,125108	313,5386	713,3834
Mlv	3417,902631	2352,366156	4573,935168	3399,551	4222,965	1888,296879	3724,769018	1646,1	1719,4254	1860,44837	4452,899526	6855,61186	2290,6064	4093,366
Mlv ac	103,8659435	177,0852556	272,4270895	208,3274	147,5049	92,24305212	160,308616	91,38497	60,910263	162,135303	118,165876	218,01829	99,884275	136,9436
Mlv coum	1028,613883	905,4332399	1515,492621	1350,031	1182,224	768,8559758	1657,617608	578,0354	760,67971	1062,45291	1232,766895	1540,86817	867,51958	1106,09



Εικόνα 34: Συγκέντρωση Ανθοκυανών εκφρασμένες σε mg μαλβιδίνης/g v.β.φλοιών.

Παρατηρείται ότι η Μαλβιδίνη (Mlv) έχει την υψηλότερη συγκέντρωση στο αμπελοτόπι 12-Ασπρόκαμπος. Επίσης παρατηρείται ότι υψηλές συγκεντρώσεις έχουν τα αμπελοτόπια 1,3,5-Κούτσι και 11 ,14-Ασπρόκαμπος, ενώ τις χαμηλότερες έχουν τα αμπελοτόπια 6-Κούτσι και 8,9,10-Κάμπος.

7.Συμπεράσματα

Απο τις τιμές του δείκτη εκχυλισματικότητας των ανθοκυανών συμπερένεται ότι επηρεάζονται τόσο απο το υψόμετρο όσο απο την κλίση του έδαφους και την

ηλιοφάνεια. Έτσι οι αμπελώνες στο Κούτσι παρουσιάζουν σταθερά πιο υψηλά νούμερα, ακολουθούν οι αμπελώνες του Ασπρόκάμπου ,της Αρχαίας Νεμέας και ο κάμπος. Εξαιρέση αποτελεί ο αμπελώνας 8 ο οποίος αν και βρίσκεται στον κάμπο παρουσιάζει υψηλή τιμή.

Απο τις τιμές του δείκτη ωριμότητας-συνεισφοράς ταννινών των γιγάρτων μπορεί να βγει το ακόλουθο συμπέρασμα. Η κλίση δημιουργεί καλύτερη αποστράγγιση του εδάφους και σε συνδιασμό με την ημερήσια ηλιοφάνεια είναι σημαντικές παράμετροι που μπορεί να έχουν σημαντική επίδραση. Οι αμπελώνες του κάμπου παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές ακολουθούν οι αμπελώνες της Αρχαίας Νεμέας και τέλος ο Ασπρόκαμπος. Στον Ασπρόκαμπο η μεγάλη διαφορά θερμοκρασιών μέρας και νύχτας αλλά και το υψόμετρο είναι πιθανό να συμβάλλουν στην καλύτερη ωρίμανση των γιγάρτων. Αντίστοιχα επηρεάζεται και η συγκέντρωση των ταννινών των γιγάρτων.

Η υψηλότερη συγκέντρωση ταννινών των φλοιών παρατηρείται στο Κούτσι όπου το έδαφος έχει κλίση άρα καλή αποστράγγιση και αρκετή ηλιοφάνεια. Ακολουθούν οι αμπελώνες στον Ασπρόκαμπο όπου το μεγάλο υψόμετρο και η υψηλή ηλιακή ακτινοβολία επηρεάζουν την συγκέντρωση των ταννινών των φλοιών.

Από τη μέθοδο **IIand** παρατηρείται ότι η υψηλότερη συγκέντρωση ανθοκυανών βρίσκεται στα αμπελοτόπια του Ασπρόκάμπου όπου η ηλιοφάνεια και, οι μεταβολές θερμοκρασίας μέρας/νύχτας επηρεάζουν την συγκέντρωσή τους. Ακολουθούν το Κούτσι στο οποίο η έντονη κλίση δεν επηρεάζει τόσο πολύ την συγκεντρωση ανθοκυανων, και τέλος η Αρχαία Νεμέα και ο κάμπος εμφανίζουν περίπου τις ίδιες συγκεντρώσεις. Στα ολικά φαινοτικά υπάρχουν μεγάλες διακυμάνσεις των αμπελώνων ακόμα και στις ίδιες κοινότητες.

Όσον αφορά την συγκέντρωση των ολικών ταννινών (υπολογισμένων σύμφωνα με την μέθοδο της καταβύθισης με methyl cellulose) συμπερνεται ότι στα γίγαρτα η υψηλότερη συγκέντρωση ταννινών (εκφρασμένη σε mg κατεχίνη /g νεπού βάρου γιγάρτων) παρατηρείται στους αμπελώνες του Κάμπου ακολουθούν η Αρχαία Νεμέα ,το Κούτσι ο Ασπρόκαμπος. Όσον αφορά την συγκέντρωση των ταννινών των φλοιών, μετρήθηκαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε σύγκριση με τα γίγαρτα

Οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φλαβονολών γιγάρτων παρατηρήθηκαν στα αμπελοτόπια του Κάμπου ενώ ακολουθεί το Κούτσι, ο Ασπρόκαμπος και τέλος η Αρχαία Νεμέα. Λόγω της μεγαλύτερης ηλιοφάνειας που είχε η καλλιεργητική περίοδος του 2012 τα αποτελέσματα είναι πολύ υψηλότερα. Επίσης η καθυστέρηση του τρυγητού σε κάποιες περιοχές με βάση τον Πίνακα 5 μπορεί να επέφερε μείωση των τιμών. Στους φλοιούς παρατηρείται το αντίθετο. Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις παρατηρούνται στον Ασπρόκαμπο ακολουθεί ο κάμπος, το Κούτσι και τέλος η Αρχαία Νεμέα.).

Όσον αφορά την συγκέντρωση των ταννινών (μετρημένων με την μέθοδο των Ribéreau – Gayon and Glories, 1986) συμπερνεται ότι ενώ τα δυο δείγματα από τους

αμπελώνες στο Κούτσι χαρακτηρίζονται από υψηλότερες τιμές συγκέντρωσης στους φλοιούς (1,6) δεν συμβαίνει αντίστοιχα το ίδιο και στα υπόλοιπα της ίδιας περιοχής τα οποία παρουσιάζουν ιδιαίτερα χαμηλές συγκέντρωσεις. Οι αμπελώνες του κάμπου παρουσιάζουν τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Στους αμπελώνες του Ασπρόκαμπου δεν παρατηρείται μια σταθερή τάση καθώς δύο δείγματα (13,14) χαρακτηρίζονται από υψηλές συγκεντρώσεις ενώ τα υπόλοιπα από χαμηλές. Όσον αφορά την συγκέντρωση των ταννινών των γιγάρτων, οι αμπελώνες του Κάμπου, χαρακτηρίζονται από τις υψηλότερες συγκεντρώσεις, ακολουθεί το Κούτσι, η Αρχαία Νεμέα και ο Ασπρόκαμπος. Λόγω των καλύτερων καιρικών συνθηκών που επικράτησαν το 2012 παρατηρούνται υψηλότερες συγκέντρωσεις σε σύγκριση με το 2010 και 2011. Επίσης το υψόμετρο δεν φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά την συγκέντρωση ταννινών. Όσον αφορά την συγκέντρωση των ολικών φαινολικών μετρημένων με την **Folin-Ciocalteu** (mg γαλλικού οξέως/g ν.β.φλοιών), παρατηρήθηκε ότι τα δείγματα του Κάμπου παρουσίασαν τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις τόσο στους φλοιούς όσο και στα γίγαρτα.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των γιγάρτων δεν φάνηκε να επηρεάζεται από το υψόμετρο και την κλίση του εδάφους. Σε αντίθεση, η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων των φλοιών μπορεί να επηρεάζεται από το υψόμετρο της κάθε περιοχής (όσο μεγαλύτερο υψόμετρο τόσο μικρότερη η τιμή) αλλά και από τον βαθμό ωριμότητας των ραγών την ημέρα που έγινε ο τρυγητός σύμφωνα με τον Πίνακα 5.

Η συγκέντρωση των ταννινών των φλοιών (σύμφωνα με την μέθοδο **Habertson**) φαίνεται ότι δεν επηρεάζεται από το υψόμετρο, αλλά ίσως από το χρόνο συγκομιδής σύμφωνα με τον πίνακα 5. Στα γίγαρτα, η συγκέντρωση των ταννινών μπορεί να επηρεάζεται από το υψόμετρο (παρατηρείται υψηλή σύγκέντρωση ταννινών στα δείγματα του Κάμπου και της Αρχαίας Νεμέας και ακολουθούν τα δείγματα από το Κούτσι και τον Ασπρόκαμπο). Δεν συμβαίνει το ίδιο και με τα δείγματα από το Κούτσι όπου ενώ οι φλοιοί είναι πλούσιοι σε φαινολικές ενώσεις, δεν συμβαίνει το ίδιο και στα γίγαρτα. Τα πιο φτωχά δείγματα προέρχονται από τον Ασπρόκαμπο οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι πιθανόν το υψόμετρο επηρεάζει τη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των γιγάρτων.

Τέλος η συγκέντρωση της κατεχίνης στους φλοιούς είναι μεγαλύτερη σε τρία δείγματα από αμπελώνες της περιοχής Κούτσι, και -Ασπρόκαμπος ενώ στα υπόλοιπα αμπελοτόπια δεν ανιχνεύεται ή είναι ελάχιστη. Αντίθετα το γαλλικό οξύ ανιχνεύεται σε όλα τα δείγματα με την υψηλότερη συγκέντρωση να παρατηρείται στα δείγματα του Κάμπου. Στα γίγαρτα το γαλλικό οξύ η μεγαλύτερη συγκέντρωση γαλλικού οξέος παρατηρείται στα αμπελοτόπια του Κάμπου ακολουθεί το Κούτσι, ο Ασπρόκαμπος και η Αρχαία Νεμέα. Όσον αφορά τις συγκεντρώσεις κατεχίνης και επικατεχίνης οι υψηλότερες τιμές εμφανίζονται στα δείγματα του Κάμπου και σε ορισμένα από τα δείγματα του Ασπρόκαμπου. Ακολουθούν τα δείγματα από το Κούτσι και τέλος από την Αρχαία Νεμέα.

8. Βιβλιογραφία

8.1 Ελληνική Βιβλιογραφία

Καλλίθρακα Σ. (2011). Παραδόσεις ΔΠΜΣ Χημείας Οίνου, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Κοτσερίδης, Γ. (2005/α). Σημειώσεις/Εργαστηριακές Ασκήσεις Οινολογίας Ι, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα επιστήμης και τεχνολογίας τροφίμων, Αθήνα

Κοτσερίδης, Γ. (2005^β). Σημειώσεις Οινολογίας ΙΙ, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα επιστήμης και τεχνολογίας τροφίμων, Αθήνα

Κουράκου–Δραγώνα, Σ. (1998). Θέματα Οινολογίας, Επιστήμη και Τεχνολογία στον τομέα της οινοποιητικής τεχνικής, Εκδόσεις Τροχαλία, Αθήνα

Σταυρακάκης, Μ., Ν. (2010). Αμπελογραφία, Εκδόσεις Τροπή, Αθήνα

Σταυρακάκης, Μ., Ν. (2004^α). Γενική Αμπελουργία, πανεπιστημιακές παραδόσεις. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.

Σταυρακάκης, Μ., Ν. (2004^β). Ειδική Αμπελουργία. Τόμος ΙΙ: Φυσιολογία και οικολογία της αμπέλου, πανεπιστημιακές παραδόσεις. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.

Τσιτσίας Κ. (2002). Σημειώσεις Λιπασματολογίας, Σχολή Τεχνολόγων Γεωπονίας Τμήμα Φυτικής Παραγωγής, Λάρισα

Χαρβαλιά, Α. και Μπενά – Τζούρου, Ε. (1981). *Το χρώμα των ερυθρών οίνων από διάφορες ποικιλίες και περιοχές της Ελλάδας*, Ελληνικά Οινολογικά Χρονικά, Τόμος 1, pp. 2-25, Ινστιτούτο Οίνου, Αθήνα

Χαρβαλιά, Α. και Μπενά – Τζούρου, Ε. (1982). *Τα φαινολικά συστατικά και το χρώμα των ελληνικών οίνων*, Ελληνικά Οινολογικά Χρονικά, Τόμος 2, pp. 1-77, Ινστιτούτο Οίνου, Αθήνα

8.2 Αγγλική Βιβλιογραφία

Cortell, J., M. and J. A. Kennedy, (2006). Effect of Shading on Accumulation of Flavonoid Compounds in (*Vitis vinifera* L.) Pinot Noir Fruit and Extraction in a Model System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 8510-8520

Dokoozlian, N., K. and W. M. Kliewer, (1996). Influence of Light on Grape Berry Growth and Composition Varies during Fruit Development. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 121 (5): 869-874.

Downey, M., O., Dokoozlian, N., K. and M. P. Krstic, (2006). Cultural Practice and Environmental Impacts on the Flavonoid Composition of Grapes and Wine: A Review of Recent Research. ASEV 2005 Phenolics Symposium. *American Journal of Enology and Viticulture* 57: 3: 257-268.

Iland, P.G., Cynkar, W., Francis, I.L., Williams, P.J. and Coombe, B.G. (1996). *Optimisation of methods for the determination of total and red free glycosylglucose in black grape berries of Vitis vinifera*. Australian Journal of Grape and Wine Research 2: 171-178

Iland, P., Ewart, A., Sitters, J., Markides, A. and Bruer, N. (2000). *Techniques for chemical analysis and quality monitoring during winemaking*. Patrick Iland Wine Promotions, Campbelltown, SA.

Jackson, D.I., Lombard, P.B. (1993). *Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality – A Review*. Am. J. Enol. Vitic. 44: 4

James A. Kennedy. (2008). *Grape and wine phenolics: Observations and recent findings*. *Cien. Inv. Agr.* 35(2): 107-120.

Jeandet P., Bessis R., Maume B. F., Meunier P., Peyron D. and Trollat P. (1995) J. Agric. Food Chem.

Kallithraka, S., Mohdaly, A.A., Makris, D.P. and Kefalas, P. (2005). *Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (Vitis vinifera sp.): association with antiradical activity*. Journal of Food Composition and Analysis, Vol. 18, p. 375-386

Morris J.R., Sims C.A., Striegler R.K. (1987). *Effects off cultivar, maturity, cluster thinning and excessive potassium fertilization on yield and quality of Arkansas wine grapes*. American Journal of Enology and Viticulture

Ribéreau – Gayon, P., Dubourdieu, D., Donéche B. and Lonvaud A. (2006), Handbook of Enology, Vol. 1, The Microbiology of Wine and Vinifications

Ribéreau – Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. and Dubourdieu, D. (2006), Handbook of Enology, Vol. 2, The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments

Ribéreau – Gayon, P. and Stonestreet, E. (1966). *Chimie Anal.*, Vol. 48, Issue 4, pp. 188-192

Ribéreau – Gayon, P. and Glories Y. (1986). *Phenolics in grapes and wine, in Proceedings of the Sixth Australian Wine Industry Technical Conference*, Austr. Ind. Publ., South Aystralia, pp. 247-256

Somers, T.C., and Evans, M.E. (1974). *Wine quality: correlations with colour density and anthocyanin equilibria in a group of young red wines*. J. Sci. Food Agric. 25: 1369-1379.

Taylor C., Wallace and Giusti M. (2009). *Optimization of the 4-Dimethylaminocinnamaldehyde Assay for Flavanols*. Department of Foodscience and Technology, The Ohio State University.

Ullmann's Agrochemicals (2007). Vol. 1, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

Villano D., Fernandez-Pachon M.S., Moyab M.L., Troncoso A.M., Garcia-Parrilla M.C. (2007). *Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical*. *Talanta* 71 230–235

Watson B. (2003). Evaluation of winegrape maturity. In: E.W. Hellman (ed.). *Oregon viticulture*. Oregon State University Press. Corvallis, Oregon. Pp 235-245

Yamane, T., Jeong, S., T., Goto-Yamamoto N., Koshita, Y. and S. Kobayashi, (2006). Effects of Temperature on Anthocyanin Biosynthesis in Grape Berry Skins. *American Journal of Enology and Viticulture* 57: 1: 54-59

Zoecklein, B.W., Fugelsang, K.C., Gump, B.H. and Nury, F.S. (1995), *Wine analysis and production*, The Chapman and Hall Enology Library, New York