



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

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΟΙΝΟΥ ΚΑΙ ΑΠΟΣΤΑΓΜΑΤΩΝ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Πορεία ωρίμανσης Σαββατιανού  
μετά την εφαρμογή φυτοορμόνης αμπισικού οξέος (ABA)



**Ιωάννης Γ. Σπανός**

Επιβλέπων Καθηγητής

Γεώργιος Κοτσερίδης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ  
2020**

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

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Πορεία ωρίμανσης Σαββατιανού  
μετά την εφαρμογή φυτοορμόνης αμπισισικού οξέος (ABA)

“Maturation process of Savvatiano  
after the application of the phytohormone abscisic acid (ABA)”

**Ιωάννης Γ. Σπανός**

**Εξεταστική Επιτροπή:**

Γεώργιος Κοτσερίδης Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)  
Σταματίνα Καλλίθρακα Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΓΠΑ  
Πέτρος Ρούσσοσ Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

## **Πορεία ωρίμανσης Σαββατιανού μετά την εφαρμογή φυτοορμόνης αμπισικού οξέος (ABA)**

ΠΜΣ: Τεχνολογία Οίνου & Αποσταγμάτων  
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου  
Εργαστήριο Οινολογίας

## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή φιλοδοξεί να συμβάλει στην διερεύνηση της επίδρασης που μπορεί να έχει η εφαρμογή φυτό-ορμονών και πιο συγκεκριμένα του αμπισικού οξέος (ABA), τόσο στην πορεία ωρίμανσης των ραγών της αμπέλου όσο και στον οργανοληπτικό χαρακτήρα των παραγόμενων οίνων. Για την επίτευξη αυτού του στόχου χρησιμοποιήθηκε η ποικιλία Σαββατιανό, η οποία αποτελεί την πλέον καλλιεργούμενη οινοποιήσιμη ποικιλία του ελληνικού αμπελώνα. Πιο συγκεκριμένα, σε αμπελώνα στην κοιλάδα των Μουσών, στην Άσκη Βοιωτίας, πραγματοποιήθηκαν δυο επεμβάσεις με ABA σε δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις, 400 mg/L και 800 mg/L και τα δείγματα συγκρίθηκαν με φυτά-μάρτυρες στα οποία δεν έγινε εφαρμογή της ορμόνης. Μετά την εφαρμογή του ABA και κατά την περίοδο ωρίμανσης πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις στις ράγες ώστε να προσδιοριστεί το βάρος τους, αλλά και το pH, η ολική οξύτητα, η περιεκτικότητα σε σάκχαρα και το αφομοιώσιμο άζωτο του παραγόμενου από αυτές γλεύκους. Στη συνέχεια, ακολουθήθηκε πρωτόκολλο κλασικής λευκής οινοποίησης. Όσον αφορά τις κλασικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν στους οίνους αυτές αφορούσαν την πτητική οξύτητα, την απόχρωση του δείγματος, τον προσδιορισμό του αλκοολικού τίτλου αλλά και του δείκτη φαινολικών ουσιών. Πραγματοποιήθηκε τεστ αμαύρωσης και προσδιορίστηκε η συγκέντρωση των υπολειπόμενων σακχάρων, ενώ έλαβε χώρα ο προσδιορισμός των οργανικών οξέων με τη χρήση HPLC. Τέλος, διενεργήθηκε οργανοληπτικός έλεγχος από πάνελ γευσισγνωστών προκειμένου να προσδιοριστούν και να συγκριθούν οι επιδράσεις των παραπάνω εφαρμογών με ABA και στον οργανοληπτικό χαρακτήρα των παραγόμενων οίνων. Τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας καταδεικνύουν ότι η πορεία εξέλιξης της ωρίμανσης των ραγών και ειδικότερα των παραγόντων που την καθορίζουν φαίνεται να μην επηρεάζεται από την εφαρμογή της φυτοορμυστικής ουσίας ABA. Αντιθέτως, η ίδια ουσία φαίνεται να επηρεάζει θετικά τόσο το φαινολικό φορτίο όσο και τον οργανοληπτικό χαρακτήρα των παραγόμενων οίνων.

**Επιστημονική περιοχή:** Επίδραση φυτοορμονών

**Λέξεις κλειδιά:** οινολογία, αμπισικό οξύ, Σαββατιανό

## **Maturation process of Savvatiano after the application of the phytohormone abscisic acid (ABA)**

MSc: Wine & Spirits Technology  
Department of Food Science & Human Nutrition  
Laboratory of Oenology

### **ABSTRACT**

The present study aims to contribute to the investigation of the effect that the application of phytohormones and more specifically of abscisic acid (ABA) can have, both in the maturation process of the vine rails and in the organoleptic characteristics of the wines produced. For instance, the Savvatiano variety was used, which is the widest cultivated wine variety of the Greek vineyard. More specifically, in a vineyard in the valley of Muses, in Askri, Boeotia, two operations were performed with ABA in two different concentrations, 400 mg / L and 800 mg / L and the samples were compared with control plants in which the hormone was not applied. After the application of ABA and during the ripening period, analyzes were performed on the grapes to determine their weight, but also the pH, total acidity, sugar content and assimilable nitrogen of the produced must. Following, a classic white vinification protocol was applied. Regarding the classical analyzes carried out in wines, the volatile acidity, the shade of the sample, the determination of the alcoholic strength but also the index of phenolic substances were determined. A tanning test was performed and the concentration of residual sugars was also determined, while the organic acids were evaluated using the HPLC method. Finally, an organoleptic control was performed where a panel of tasters evaluated and compared the effects of the above applications with ABA and the organoleptic character of the wines produced.

The results of this study propose that the maturation of the rails do not seem to be affected by the application of the phyto regulatory substance ABA. On the contrary, the same substance seems to have a positive effect on both the phenolic concentration and the organoleptic character of the wines produced.

**Scientific area:** phytohormones effect

**Keywords:** oenology, abscisic acid, Savvatiano

*Στη συνέπεια μου Ανθή*

## Πίνακας περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	3
ABSTRACT .....	4
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	8
1.1. Ιστορικά Στοιχεία.....	9
1.2. Η ποικιλία .....	12
1.3. Αμπελογραφικά Χαρακτηριστικά.....	13
1.4. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας.....	15
1.5. Οι φυτοορμόνες .....	15
1.6. Το αμπισικό οξύ (ABA) .....	18
1.7. Τα Οργανικά οξέα του σταφυλιού .....	21
1.8. Τρυγικό οξύ .....	2
1.9. Μηλικό οξύ.....	2
1.10. Κιτρικό οξύ.....	3
1.11. Άλλα οξέα των οίνων.....	3
1.12. Τα φαινολικά συστατικά .....	3
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	6
2.1. Σκοπός και σχεδιασμός πειράματος .....	6
2.2. Λευκή οινοποίηση .....	7
2.3. Προσδιορισμός βάρους ραγών .....	9
2.4. Προσδιορισμός ενεργού οξύτητας-pH.....	9
2.5. Προσδιορισμός ολικής οξύτητας .....	10
2.6. Προσδιορισμός πτητικής οξύτητας .....	11
2.7. Προσδιορισμός της απόχρωσης του οίνου .....	12
2.8. Προσδιορισμός αλκοολικού τίτλου.....	12
2.9. Test ταχείας αμαύρωσης .....	13
2.10. Προσδιορισμός Φαινολικών συστατικών .....	14
2.10.1. Μέθοδος Follin – Ciocalteu .....	14
2.10.2. Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ) .....	16
2.11. Προσδιορισμός συγκέντρωσης αναγόντων σακχάρων με τη μέθοδο Luff.....	16
2.12. Μέτρηση οργανικών οξέων με τη χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) .....	17
2.13. Προσδιορισμός αφομοιώσιμου αζώτου .....	18
2.14. Προσδιορισμός αμμωνιακού αζώτου .....	18
2.15. Προσδιορισμός αζώτου βασικών αμινοξέων.....	20
2.16. Οργανοληπτικός έλεγχος .....	22
2.17. Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων .....	24

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	25
3.1. Αποτελέσματα πορείας ωρίμανσης ραγών .....	25
3.1.1 Μέτρηση του βάρους των ραγών .....	25
3.1.2. Μετρήσεις της ενεργού οξύτητας-pH .....	26
3.1.3. Μετρήσεις της ολικής οξύτητας.....	26
3.1.4. Μετρήσεις της περιεκτικότητας των σακχάρων σε βαθμούς Brix.....	27
3.1.5. Αποτελέσματα προσδιορισμού του αφομοιώσιμου αζώτου (YAN) .....	28
3.2. Αποτελέσματα κλασικών αναλύσεων στους οίνους.....	30
3.2.1. pH Οίνων .....	31
3.2.2. Ολική Οξύτητα.....	31
3.2.3. Πτητική οξύτητα .....	31
3.2.4. Αλκοολικός τίτλος.....	32
3.2.5. Ανάγοντα Σάκχαρα .....	32
3.2.6. Απορρόφηση A420.....	33
3.2.7. Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ) .....	34
3.2.8. Follin-Ciucalto .....	34
3.2.9. Αμαύρωση .....	35
3.2.10. Προσδιορισμός οργανικών οξέων στον οίνο με τη μέθοδο HPLC .....	37
3.2.11. Οργανοληπτικός έλεγχος .....	37
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ .....	42
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	50
6. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	55

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η **άμπελος** είναι φυτό (Plantae), αγγειόσπερμο (Magnoliophyta) και δικοτυλήδονο (Magnoliopsida), ανήκει στην υπομοταξία των Ροδιδών (Rosidae) και στην τάξη των Ραμνωδών (Rananales), είναι της οικογένειας των αμπελοειδών (Vitaceae), του γένους *Vitis*, του είδους *Vitis Vinifera*.

Είναι φυτό θαμνώδες, συνήθως αναρριχόμενο με έλικες απλές ή διακλαδιζόμενες. Οι έλικές του εκφύονται στους κόμβους αντίθετα από τα φύλλα, τα οποία συνήθως αποτελούνται από 3 ή 5 λοβούς. Τα άνθη του είναι πολύγαμα-δίοικα ή ερμαφρόδιτα και διατάσσονται σε βοτρυώδεις ταξιανθίες, οι οποίες βρίσκονται στους κόμβους αντίθετα από τα φύλλα. Ο καρπός της αμπέλου είναι ράγα και είναι μη κλημακτηριακός.

Αμπελουργία είναι η επιστήμη αλλά και το σύνολο των δραστηριοτήτων που αναφέρονται στην καλλιέργεια του φυτού της αμπέλου, με σκοπό την επίτευξη προϊόντων μεγαλύτερης αξίας και εκλεκτότερης ποιότητας. Από την άλλη, οινολογία είναι η επιστήμη αλλά και η μελέτη όλων των πτυχών του οίνου και της οινοπαραγωγής. Εύκολα συνάδει κανείς το συμπέρασμα ότι αυτές οι δυο επιστήμες δεν θα μπορούσαν παρά να είναι άρρηκτα συνδεδεμένες. Καρπός της σύζευξης αυτών των δυο επιστημονικών πεδίων αποτελεί η παραγωγή του οίνου.

Σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία, οίνος καλείται το ποτό που προέρχεται αποκλειστικά από ολική ή μερική αλκοολική ζύμωση νωπών σταφυλιών ή γλεύκους που έχει προέλθει από νωπά σταφύλια. Ο ίδιος ορισμός, με κάποιες επιπλέον διευκρινίσεις, δίδεται και από την Ευρωπαϊκή Ένωση. Είναι λοιπόν καθορισμένο από το νόμο ότι η σταφυλή -ο νωπός καρπός της αμπέλου- αποτελεί την πρώτη ύλη για την παραγωγή του οίνου. Ως εκ τούτου, ο οινοποιός και ιδιαίτερα ο οινολόγος θα πρέπει να αποκτά όσο το δυνατόν βαθύτερη γνώση της σύστασης και της ποιότητας της πρώτης ύλης που καλείται να αξιοποιήσει, καθώς επίσης και των ιστορικών, γεωγραφικών, γεωλογικών, περιβαλλοντικών, μορφολογικών και φυσιολογικών παραγόντων που επιδρούν σε αυτή και την καθορίζουν.



## 1.1. Ιστορικά Στοιχεία

Η καταγωγή του αμπελιού, σύμφωνα με τους παλαιοντολόγους, έχει προϊστορία πολλών εκατομμυρίων ετών. Απολιθωμένα φυτά ηλικίας εξήντα εκατομμυρίων ετών αποτελούν την αρχαιότερη επιστημονική απόδειξη της ηλικίας του αμπελιού. Πριν από την εποχή των παγετώνων το αμπέλι ευδοκίμωσε στην πολική ζώνη, κυρίως στην Ισλανδία, στη Βόρεια Ευρώπη, αλλά και στη βορειοδυτική Ασία. Ωστόσο, οι παγετώνες περιόρισαν την εξάπλωσή του, ωθώντας διάφορα είδη άγριων αμπέλων προς θερμότερες ζώνες, όπως η κεντρική και Ανατολική Ασία, η κεντρική και Νότια Ευρώπη, αλλά και η ευρύτερη περιοχή του νότιου Καυκάσου. Εκεί γεννήθηκε το είδος «Άμπελος, η Οινοφόρος», *Vitis vinifera*. Δεν θα ήταν συνεπώς υπερβολή να χαρακτηριστούν οι περιοχές του Καύκασου, της Μεσοποταμίας και της Αρχαίας Αίγυπτου ως οι κοιτίδες της αμπελουργίας και φυσικά οι πατρίδες του κρασιού.

Η ιστορία των οίνων μπλέκεται αναντίρρητα με αυτήν του ανθρώπου. Οι επιστήμονες δέχονται ότι ο πολιτισμός αρχίζει από την εποχή που ο άνθρωπος σταμάτησε να ζει νομαδική ζωή και καλλιέργησε τη γη. Θα ήταν επίσης σωστό, αν και ελάχιστα υπερβολικό, να ισχυριστούμε ότι το πέρασμα από τη νομαδική ζωή στον πολιτισμό άρχισε όταν οι πρώτοι καλλιεργητές «δούλεψαν» μεταξύ άλλων φυτών και το αμπέλι.

Η τέχνη της αμπελουργίας εικάζεται ότι ξεκίνησε με την αγροτική επανάσταση γύρω στο 5000 π.Χ. Από τους πρώτους γνωστούς αμπελοκαλλιεργητές θεωρούνται οι Άριοι (πρόγονοι των Περσών και των Ινδών που ζούσαν στην περιοχή Καυκάσου-Κασπίας), οι σημιτικοί λαοί και οι Ασσύριοι.

Οι Έλληνες ανέπτυξαν ιδιαίτερα την οινοποιία, σχεδόν μονοπωλώντας την αγορά για αιώνες. Οι μελετητές δεν είναι βέβαιοι από πού διδάχτηκαν την τέχνη της οινοποιίας, σύμφωνα όμως με μία από τις επικρατέστερες θεωρίες, την έμαθαν από τους ανατολικούς λαούς (Φοίνικες ή Αιγύπτιους), με τους οποίους είχαν ανεπτυγμένες εμπορικές σχέσεις.

Μελετώντας λοιπόν την ιστορία, αντιλαμβάνεται κανείς ότι οι οίνοι και τα σταφύλια αποτελούσαν δύο από τα σημαντικότερα προϊόντα του αρχαίου κόσμου αλλά και

ειδικότερα της Αρχαίας Αθήνας. Είχαν εξέχουσα θέση όχι μόνο στην οικονομική αλλά και στην κοινωνική και πολιτισμική ζωή των Αθηναίων. Οι Αρχαίοι Έλληνες έπιναν οίνους τους οποίους αναμειγνύαν με νερό, σε αναλογία συνήθως 1:3 (ένα μέρος οίνου προς τρία μέρη νερού). Η λέξη "κρασί", η οποία τείνει να χρησιμοποιείται κατά κόρον μέχρι και στις μέρες μας, υποδηλώνει ακριβώς τον αναμειγμένο με νερό οίνο, ενώ "άκρατος" λεγόταν ο ανόθευτος οίνος. Η πόση άκρατου οίνου θεωρείτο βαρβαρότητα και συνηθιζόταν μόνο από αρρώστους ή κατά τη διάρκεια ταξιδιών, ως τονωτικό. Διαδεδομένη ήταν ακόμα η κατανάλωση οίνων με μέλι καθώς και η χρήση μυρωδικών. Επίσης γνωστή μέθοδος ήταν η προσθήκη άψινθου στον οίνο, η οποία αποδίδεται στον Ιπποκράτη και αναφέρεται ως "Ιπποκράτειος Οίνος", όπως και η προσθήκη ρητίνης. Οι αρχαίοι Έλληνες επίσης διέθεταν ειδικά σκεύη τόσο για την ανάμειξη (κρατήρες), όσο και για τη ψύξη του. Αττικοί αμφορείς χρησιμοποιούνταν για την αποθήκευση αλλά και τη μεταφορά των οίνων σε διάφορα μέρη και τελικά ήταν αυτοί που αποτέλεσαν το μέσο για να ταξιδέψουν στα πέρατα του κόσμου. Μάλιστα οι αναπαραστάσεις που είναι ζωγραφισμένες στα αγγεία μαρτυρούν την οινική ιστορία της πρωτεύουσας και τη μοναδική στον κόσμο αμπελοοινική παράδοση χιλιετιών.



**Εικόνα 1.** Αναπαράσταση οινοποσίας σε αγγείο 2.500 χρόνων

Ο τρόπος παραγωγής του κρασιού σε παλαιότερες εποχές δε διέφερε ουσιαστικά από τις σύγχρονες πρακτικές. Είναι αξιοσημείωτο ότι σώζονται ως τις μέρες μας κείμενα του Θεόφραστου, τα οποία περιέχουν πληροφορίες γύρω από τους τρόπους καλλιέργειας. Οι Έλληνες γνώριζαν την παλαίωση του κρασιού, την οποία επιτύγχαναν μέσα σε θαμμένα πιθάρια, σφραγισμένα με γύψο και ρετσίνι. Το κρασί εμφιαλωνόταν σε ασκούς ή σε σφραγισμένους πήλινους αμφορείς, αλειμμένους με πίσσα για να παραμένουν στεγανοί.

Μέσα στα χρόνια η παραγωγή κρασιού στον ελλαδικό χώρο επηρεάστηκε από τις εκάστοτε κοινωνικές και οικονομικές συνθήκες. Οι Οθωμανοί, αναγνωρίζοντας το οικονομικό όφελος και το σημαντικό ρόλο του κρασιού στη ζωή των κατακτημένων, επέτρεψαν την αμπελοκαλλιέργεια και το εμπόριο μόνο στους «άπιστους», ενώ σε περιόδους σκληρής φορολογίας και κατά την επανάσταση τα μοναστήρια ήταν κυρίως εκείνα που διέσωσαν την αμπελοοινική παράδοση.

Από την ίδρυση του Ελληνικού κράτους μέχρι τον Β΄ Παγκόσμιο πόλεμο ο ελληνικός αμπελώνας εξελίχθηκε απρογραμματίστα. Η φυλλοξήρα, η μικρασιατική καταστροφή, η μετανάστευση στο εξωτερικό αλλά και η συγκέντρωση μεγάλου τμήματος του πληθυσμού στις πόλεις επέφεραν ένα μεγάλο χτύπημα. Οι γηγενείς ποικιλίες και οι ορεινοί αμπελώνες εγκαταλείφθηκαν ενώ επικράτησε το χύμα, αμφίβολης ποιότητας κρασί.

Ωστόσο, από το 1960 αρχίζουν οι πρώτες επενδύσεις και η ανασύσταση των αμπελώνων καθώς νέοι οινοπαραγωγοί και οιολόγοι προβλέπουν ότι το μέλλον είναι η παραγωγή ποιοτικών κρασιών. Αυτούς τους πρωτοπόρους ακολουθεί στη δεκαετία του '80 κι ένας σημαντικός αριθμός μικρών παραγωγών. Οι επενδύσεις σε τεχνολογικό εξοπλισμό, η γνώση και το πείσμα φέρνουν την άνθηση στο ελληνικό κρασί. Το μεγάλο βήμα γίνεται μετά το 1990 με τη στροφή στην καλλιέργεια των πολυάριθμων γηγενών ποικιλιών αμπέλου, κάποιες από τις οποίες κινδύνευαν να εξαφανιστούν. Τα ελληνικά κρασιά κατάφεραν και έδωσαν το στίγμα τους με αποτέλεσμα να αποσπάσουν βραβεία και διακρίσεις σε διεθνείς διαγωνισμούς

## 1.2. Η ποικιλία

Η ποικιλία Σαββατιανό, η οποία χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία είναι η πιο διαδεδομένη ιθαγενής ποικιλία αμπέλου στον ελλαδικό χώρο μιας και καλύπτει περισσότερα από 11.000 εκτάρια γης. Τη συναντούμε κυρίως στο γεωγραφικό διαμέρισμα της Στερεάς Ελλάδας και ειδικότερα στους Νομούς Αττικής και Βοιωτίας. Αμπελώνες όμως με αυτή την ποικιλία, αν και σε μικρότερες εκτάσεις, απαντώνται και στην Εύβοια, σε νησιά των Κυκλάδων, στη Μακεδονία, στην Πελοπόννησο και σε κάποια από τα νησιά του Ιονίου, όπως η Κεφαλλονιά όπου αναφέρεται με την τοπική ονομασία Περαχωρήτικο. Η ποικιλία είναι επίσης γνωστή με τις ονομασίες κοντούρα άσπρη, άσπρη Δουμπραίνα, Σακέϊκο, Σταματιανό και Σαββαθιανό. Πέραν όμως το ότι αποτελεί την πιο διαδομένη, όσον αφορά τις φυτεύσεις, ποικιλία στην Ελλάδα ταυτόχρονα αποτελεί και την πιο παρεξηγημένη μιας και στο παρελθόν επικράτησε η συνήθης πρακτική της ανάμιξης κακής ποιότητας σταφυλιών της ποικιλίας με αλόγιστες ποσότητες ρητίνης πεύκου (ρετσίνι) δημιουργώντας τον αναμενόμενα κακής ποιότητας οίνο κατά παράδοση με την ονομασία Ρετσίνα.



**Εικόνα 2.** Αττικός αμπελώνας με την ποικιλία Σαββατιανό

Τα τελευταία χρόνια νέες επιστημονικές έρευνες που αφορούν την καλλιέργεια και δίνουν έμφαση στη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών αλλά και μελέτες που δίνουν έμφαση στην βελτίωση των πρωτοκόλλων οινοποίησης κατάφεραν να παράξουν πολύ ποιοτικές ρετσίνες. Παρ' όλα αυτά, η χρόνια δυσφήμιση της ποικιλίας απαιτεί υπομονή, επιμονή και συντονισμένη προσπάθεια τόσο από τους

αμπελουργούς, τους οινοποιούς και τους οιολόγους που τη χειρίζονται, όσο και από αυτούς που ασχολούνται με την προώθηση των παραγόμενων οίνων στους τελικούς καταναλωτές προκειμένου να αντιστραφεί αυτή η κακή φήμη.

### 1.3. Αμπελογραφικά Χαρακτηριστικά

Σχετικά με τα χαρακτηριστικά της ποικιλίας, ο ποώδης βλαστός είναι ημιόρθιος, αραχνοϋφής και γωνιώδης. Στην κοιλιακή πλευρά είναι πράσινος και στη νωτιαία πλευρά είναι πράσινος με ώδεις περιοχές. Οι κόμβοι είναι πράσινοι με ερυθρά στίγματα και οι οφθαλμοί πράσινοι με ρόδινη κορυφή. Η αυξανόμενη κορυφή είναι μετρίως ανοιχτή έως ανοιχτή, λευκοπράσινη με ρόδινη παρυφή και χνοώδης. Οι έλικες είναι διαλείπουσες, μετρίου έως μεγάλου μήκους, λεπτές, λείες, πράσινες με ρόδινες περιοχές, δισχιδείς έως τρισχιδείς. Η κληματίδα είναι κιτρινοκάστανη έως καστανή, ελλειψοειδούς τομής, γωνιώδης και λεία.

Το ανεπτυγμένο φύλλο είναι μέτριο, σφηνοειδές και πεντάκολπο ενώ το έλασμα είναι ελαφρώς πομφολυγώδες, κυματώδες και παχύ. Στην ανώτερη του επιφάνεια παρουσιάζεται ως βαθυπράσινο και στιλπνό, ενώ στην κάτω ως φαιοπράσινο και χνοώδες. Ο μισχικός κόλπος είναι βαθύς και έχει σχήμα U ή λύρας. Οι νευρώσεις είναι κιτρινοπράσινες με ρόδινες περιοχές πλησίον του μισχικού σημείου, λείες ή αραχνοϋφείς στην άνω επιφάνεια και αραχνοϋφείς έως χνοώδεις στην κάτω επιφάνεια του ελάσματος. Οι οδόντες αναπτύσσονται σε δύο σειρές και είναι μέτριοι με κυρτές πλευρές. Τα νεαρά φύλλα είναι πράσινα έως χαλκοπράσινα, στην άνω επιφάνεια είναι λεία ενώ στην κάτω χνοώδη.

Η σταφυλή είναι μεγάλη, απλή ή ενίοτε διπλή, κωνική έως κυλινδροκωνική και πυκνή έως πολύ πυκνή. Ο ποδίσκος είναι καστανός, μέτριος και αποκόπτεται δύσκολα. Φέρει ράγες ανισομεγέθεις, μέτριες έως μικρές και σφαιρικές. Ο φλοιός των ραγών είναι λεπτός έως μέτριου πάχους, ανθεκτικός, κιτρινοπράσινος με άφθονη κέρινη ανθηρότητα. Η σάρκα των ραγών είναι μαλακή, υδαρής, χυμώδης και γλυκιά. Κάθε ράγα φέρει δύο έως τρία γίγαρτα, μικρά, απιοειδή με βραχύ ράμφος. Ο ποδίσκος είναι μάλλον βραχύς και ισχυρής πρόσφυσης. Στην εικόνα που ακολουθεί φαίνεται η τυπική μορφή της σταφυλής της ποικιλίας. Το Σαββατιανό

οινοποιείται μονοποικιλιακά ή σε blend με άλλες τραγανές και αρωματικές ποικιλίες, όπως το Ασύρτικο και ο Ροδίτης. Τέλος, όπως προαναφέρθηκε, από την ποικιλία παράγεται ο Ρητινίτης οίνος ή Ρετσίνα με προσθήκη ρητίνης Πεύκης Χαλέπιου (*Pinus halepensis*) σε γλευκοποιημένα σταφύλια πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης.



**Εικόνα 3.** Σταφύλι ποικιλίας Σαββατιανό

Η ποικιλία Σαββατιανό είναι φυτό μέτριας ζωηρότητας, αλλά πολύ παραγωγικό. Ο τυφλός οφθαλμός είναι γόνιμος. Φέρει συνήθως δύο σταφυλές ανά καρποφόρο βλαστό. Διαμορφώνεται σε χαμηλά κυπελλοειδή ή σε αμφίπλευρα γραμμικά σχήματα. Παρουσιάζει μεγάλη ικανότητα προσαρμογής σε διάφορα εδαφοκλιματικά περιβάλλοντα και παράγει προϊόντα ποιότητας σε ξηρά, φτωχά, χαλικώδη, ασβεστούχα εδάφη. Είναι πολύ ανθεκτική στην ξηρασία και αξιοποιεί καλύτερα από κάθε ποικιλία το ξηροθερμικό περιβάλλον της Αττικής. Ως προς τη συμπεριφορά της απέναντι στις ασθένειες, εμφανίζει αξιοσημείωτη ανθεκτικότητα στον περονόσπορο, αλλά είναι ευαίσθητη στο ωίδιο. Η συμπεριφορά της στους επιτόπιους εμβολιασμούς είναι πολύ καλή και συμβιώνει αρμονικά με τα υποκείμενα 110R, 140Ru, 1103P, 99R κ.α. Σε καλά αρδευόμενα και γόνιμα εδάφη

δίνει τσαμπιά μεγάλα με βάρος πάνω από 500gr., ωστόσο τα αμπελοτόπια τα οποία είναι επικλινή, ξηρικά και μέσης γονιμότητας, που βρίσκονται σε δροσερότερα μέρη, αποδίδουν πιο ποιοτικούς οίνους.

Όσον αφορά τους χειρισμούς της συγκεκριμένης ποικιλίας, δέχεται βραχύ χειμερινό κλάδεμα καρποφορίας (κεφαλή με 1-2 οφθαλμούς). Η έναρξη της βλάστησης συντελείται κατά το τρίτο δεκαήμερο του Μαρτίου και η πλήρης βλάστηση κατά το τρίτο δεκαήμερο του Απριλίου. Η άνθηση λαμβάνει χώρα κατά το διάστημα μεταξύ 10 και 24 Μαΐου. Η έναρξη ωρίμανσης πραγματοποιείται κατά το τρίτο δεκαήμερο του Ιουλίου, ενώ η πλήρης ωρίμανση μεταξύ του τρίτου δεκαημέρου του Σεπτεμβρίου και του πρώτου δεκαημέρου του Οκτωβρίου (Σταυρακάκης, 2010).

#### 1.4. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας

Οι οίνοι που προέρχονται από τη ποικιλία Σαββατιανό συνήθως είναι λευκοί και ξηροί, ενώ έχουν λαμπερό λευκοκίτρινο έως χρυσαφί χρώμα. Τα χαρακτηριστικά τους αρώματα ποικίλουν ανάλογα με τους χειρισμούς του εκάστοτε οινοποιείου. Συνήθως όμως η ποικιλία δίνει οίνους με μέτρια αρωματική ένταση, με αρώματα που θυμίζουν μήλα, λευκά ροδάκινα, ακόμη και πεπόνι, όταν ο καρπός είναι ώριμος. Φαίνεται να παλαιώνουν καλά, και με την πάροδο του χρόνου αναπτύσσουν έναν χαρακτήρα που θυμίζει οίνους που προέρχονται από την ποικιλία Semillon με αρώματα όπως φρυγανισμένου ψωμιού και μελιού ή κερήθρας.

Η επαφή οίνων που προέρχονται από την ποικιλία Σαββατιανό με τη δρυ δίνει κρασιά ιδιαίτερα. Στο στόμα είναι νόστιμα, πλούσια και ισορροπημένα, με ευχάριστη φρουτώδη επίγευση και τρυφερή οξύτητα ενώ συνήθως σερβίρονται στους 12°C.

#### 1.5. Οι φυτοορμόνες

Σε κάθε φυτικό οργανισμό, με τον όρο ανάπτυξη εννοείται η βαθμιαία και προοδευτική αλλαγή στο σχήμα, την κατάσταση και τη λειτουργία που συνολικά συνιστά την μεταβολή από το ζυγωτό σε ένα ώριμο, αναπαραγωγικά ικανό, φυτό. Η ανάπτυξη συμπεριλαμβάνει τρεις αλληλοσχετιζόμενες λειτουργίες, την αύξηση, την

κυτταρική διαφοροποίηση και την μορφογένεση. Η θερμοκρασία και το φως είναι δύο από τους κυριότερους περιβαλλοντικούς παράγοντες που επηρεάζουν καθοριστικά τη ανάπτυξη, αλλά μετά από δεκαετίες ερευνών έχει αποδειχθεί ότι τον κεντρικό ρόλο στον έλεγχο της αύξησης και της ανάπτυξης γενικότερα, παίζουν μια σειρά από ενδογενείς χημικές ουσίες που ονομάζονται φυτοορμόνες.

Οι φυτοορμόνες παίζουν έναν κρίσιμο ρόλο στον τρόπο με τον οποίο τα φυτά μεγαλώνουν και αναπτύσσονται. Ενώ ο μεταβολισμός παρέχει την ενέργεια και τους δομικούς λίθους για τη ζωή των φυτών, οι ορμόνες είναι αυτές που καθορίζουν την ταχύτητα της αύξησης σε κάθε στάδιο και συγκροτούν αυτά τα στάδια για να παραχθεί ο οργανισμός που εμείς αναγνωρίζουμε ως φυτό. Επιπλέον, παίζουν ρυθμιστικό ρόλο στις διαδικασίες της αναπαραγωγής.

Φυτοορμόνη ή φυτορυθμιστική ουσία είναι μια οργανική ουσία, που δεν είναι απαραίτητα θρεπτικό συστατικό, δεν παρέχει δηλαδή στο φυτό ενέργεια ή απαραίτητα μεταλλικά στοιχεία και που σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις προάγει, παρεμποδίζει ή τροποποιεί ποιοτικά την αύξηση και την ανάπτυξη του φυτού. Οι φυτορυθμιστικές ουσίες διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τις φυσικές και τις συνθετικές. Οι φυσικές φυτοορμόνες είναι φυσικά προϊόντα που παράγονται από τα φυτά και μπορούν με κατάλληλες μεθόδους να εξαχθούν και να προσδιοριστούν. Οι συνθετικές φυτορυθμιστικές ουσίες παράγονται τεχνητά και μπορεί να μοιάζουν χημικά με τις φυσικές. Έχουν τον ίδιο τρόπο δράσης με τις φυσικές, σαν χημικοί αγγελιοφόροι μέσα στο φυτό, όταν η εφαρμογή τους γίνει με τον κατάλληλο τρόπο και στον κατάλληλο χρόνο.

Οι φυσικές φυτορυθμιστικές ουσίες είναι από την φύση τους παράγοντες πολύ μεγάλης σημασίας στην ολοκλήρωση των διεργασιών της αύξησης και της ανάπτυξης του φυτού, αφού καθορίζουν την αντίδραση του φυτού στις επιδράσεις του φυσικού περιβάλλοντος. Διάφοροι εξωτερικοί παράγοντες μπορεί να προκαλέσουν έντονες αντιδράσεις στα φυτά προκαλώντας αλλαγές στο μεταβολισμό και στην κατανομή των φυσικών φυτορυθμιστικών ουσιών στα διάφορα φυτικά όργανα. Είναι αποδεκτό ότι οι φυσικές φυτοορμόνες είναι οι

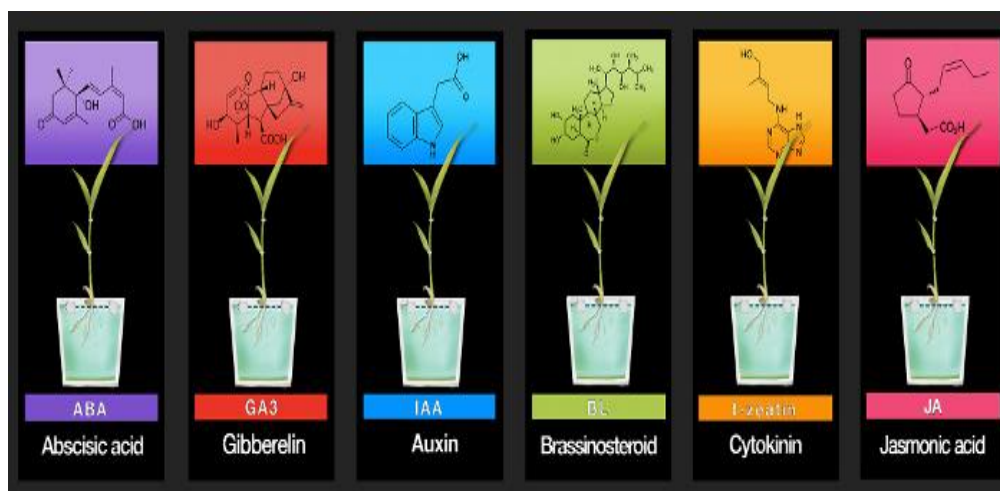


κυριότεροι παράγοντες που καθορίζουν την εκδήλωση του γενετικού δυναμικού των φυτών. Οι συνθετικές φυτορρυθμιστικές ουσίες έχουν επίσης πολύ μεγάλη σημασία για τη σύγχρονη γεωργία, δεδομένου ότι έχουν παρόμοια δράση με τις φυσικές, κι έτσι παρέχουν στον παραγωγό τη δυνατότητα να τροποποιήσει προς όφελος του το μοντέλο παραγωγής των φυτών. Έτσι μπορεί να αυξηθεί η παραγωγή και να βελτιωθεί η εμπορευσιμότητα των προϊόντων με ταυτόχρονη μείωση του κόστους παραγωγής.

Οι ρυθμιστές της αύξησης παρουσιάζουν σπουδαία οικονομική σημασία. Το οικονομικό μέγεθος της παραγωγής ρυθμιστών της αύξησης των φυτών έπεται εκείνου των φυτοφαρμάκων και των λιπασμάτων. Ευρείας εφαρμογής τομείς είναι: η δημιουργία φυτών σε *in vitro* συνθήκες, η ωρίμανση καρπών, η αραίωση καρπών, η καρποσυλλογή, η ριζοβολία μοσχευμάτων, η παρεμπόδιση δημιουργίας ανθοφόρου βλαστού κ.α..

Οι βασικές κατηγορίες ενδογενών ρυθμιστών της αύξησης των φυτών είναι:

- Αυξίνες (auxins)
- Γιββερελλίνες (gibberellins GAs)
- Κυτοκινίνες (cytokinin K )
- Αιθυλένιο (ethylene Eth)
- Αμπισικό οξύ (abscisic acid ABA)
- Μπρασσινοστεροειδή (bassinosteroids BRs)
- Λοιπές κατηγορίες ουσιών με ρυθμιστική δράση

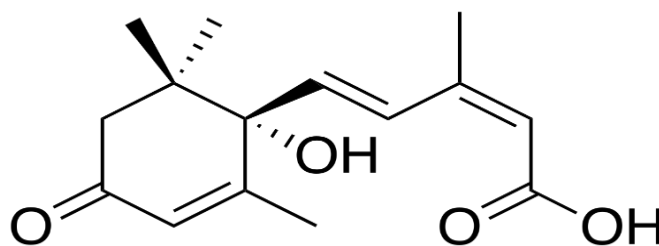


**Εικόνα 4.** Οι χημικοί τύποι των ρυθμιστών της αύξησης των φυτών

### 1.6. Το αμπισισικό οξύ (ABA)

Αντίθετα με τα ζώα, τα φυτά δεν μπορούν να απομακρυνθούν από ενδεχόμενες επικίνδυνες συνθήκες όπως η ξηρασία ή η έλευση του χειμώνα. Έτσι το αν θα επιζήσει ένα φυτό ή όχι εξαρτάται από την ικανότητά του να περιορίσει την αύξησή του ή τις αναπαραγωγικές του δραστηριότητες. Ο αριθμός των ουσιών που έχουν βρεθεί στα φυτά και έχουν την ιδιότητα να προκαλούν ανάσχεση ή παρεμπόδιση της αύξησης είναι αρκετά μεγάλος. Από αυτές μόνο το αμπισισικό οξύ (ABA) θεωρείται σήμερα φυτορυθμιστική ουσία.

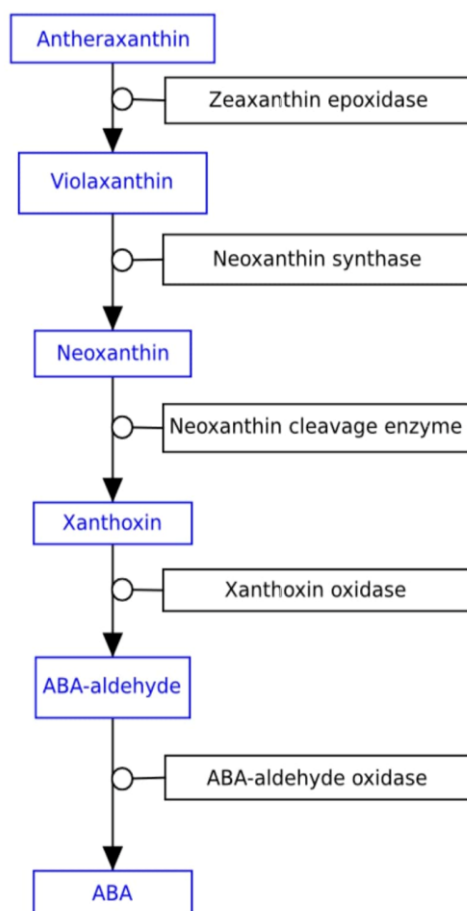
Στις αρχές της δεκαετίας του '60 απομονώθηκαν από κάψες βαμβακιού δύο ουσίες που προκαλούσαν επιτάχυνση της αποκοπής των μίσχων των φύλλων, οι abscisin I και II. Παράλληλα, απομονώθηκε από φύλλα του φυτού *Betula pubescens* η ληθαργίνη (dormin), η οποία όταν εφαρμοζόταν σε οφθαλμούς φυτών τους ανάγκαζε να εισέρχονται σε λήθαργο. Το 1965 δύο ανεξάρτητες ερευνητικές ομάδες, του Addicott στο Πανεπιστήμιο της Καλιφόρνια και του Wareing στο Πανεπιστήμιο της Ουαλίας (Μεγάλη Βρετανία), κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι για την επιτάχυνση της πτώσης των φύλλων και το λήθαργο των οφθαλμών των ξυλωδών φυτών υπεύθυνη ήταν η ίδια φυσική φυτορυθμιστική ουσία. Η abscisin II και η ληθαργίνη αποδείχθηκε ότι είναι η ίδια ουσία και ονομάστηκε αμπισισικό οξύ (abscisic acid, ABA).



**Εικόνα 5.** Χημικός τύπος του αμπισισικού οξέος

Το ABA ανήκει στην κατηγορία των σεσκιτερπενοειδών (sesquiterpenoids) και σχετίζεται, όσον αφορά τη βιοσύνθεσή του, με άλλα μονοτερπένια. Η βιοσύνθεσή του γίνεται κυρίως στους χλωροπλάστες των φύλλων και των καρπών από το μεβαλονικό οξύ. Απαντάται στους φυτικούς ιστούς σαν ένα μίγμα δυο ισομερών,

του S-ABA και του R-ABA σε αναλογία 1:1. Η δραστηριότητα του S-ABA επί των διαφόρων διεργασιών έχει βρεθεί ότι είναι πολύ υψηλότερη από αυτή του R-ABA.



**Εικόνα 6.** Η βιοσύνθεση του αμπισικού οξέος

Το ABA είναι μια ενδογενής φυτοορμόνη που παίζει σημαντικό ρόλο στην προσαρμογή των φυτών, στις πιέσεις που δέχονται από αβιοτικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η ξηρασία, οι χαμηλές θερμοκρασίες και η αλατότητα των εδαφών. Μια ενδιαφέρουσα φυτική αντίδραση είναι η αύξηση της συγκέντρωσης του ABA στα φύλλα φυτών που βρίσκονται σε υδατική καταπόνηση. Επιπλέον, αυξημένη συγκέντρωση ABA προκαλεί το κλείσιμο των στομάτων. Φαίνεται πως το ABA είναι ρυθμιστής του ανοίγματος των στομάτων και μάλιστα αντιστρατεύεται τη δράση των κυτοκινίνων που προωθούν το άνοιγμα. Το ABA είναι γενικά αυξητικός αναστολέας και συνδέεται ιδιαίτερα με την αποκοπή φύλλων και καρπών. Επάγει επίσης τον λήθαργο και θεωρείται ληθαργικός παράγοντας των φυτών. Επιπλέον, παίζει καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη των σπόρων και στην βλάστηση (Antolin et al. 2008, 37 Jiang και Hartung 2008). Έχει βρεθεί ότι

αναστέλλει τη βλάστηση των σπερμάτων αναιρώντας την προωθητική δράση των γιββερελλινών.

Ειδικότερα για το αμπέλι οι Hale et Coombe (1974) αναφέρουν το σημαντικό ρόλο που διαδραματίζει το ABA στη διαδικασία ωρίμανσης των σταφυλιών. Επιπρόσθετα, το ABA έχει αναφερθεί ως ο παράγοντας ο οποίος σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις, διεγείρει την έκφραση γονιδίων που ελέγχουν τη βιοσύνθεση φαινολών και ανθοκυάνων (Gagné et al. 2006, Gambetta et al. 2010, Koyama et al. 2010). Αυτή η διατύπωση έρχεται να συμπληρώσει τους (Peppi et al., 2006, 2007), οι οποίοι ισχυρίστηκαν ότι σε καρπούς που ο χρωματισμός του φλοιού τους οφείλεται σε ανθοκυάνες έχει βρεθεί ότι το S-ABA ενισχύει τον κόκκινο χρωματισμό μέσω της αύξησης της δραστηριότητας του ενζύμου UDP-γλυκοζ-φλαβονοΐδ-3-Ο γλυκοζυλοτρανφεράση (UFGT) (Boss et al., 1996a,b), το οποίο ελέγχει τη μετατροπή των ανθοκυανιδινών σε ανθοκυάνες (ερυθρές χρωστικές). Τέλος, η προσθήκη εξωγενώς ABA κατά το στάδιο του περκασμού φαίνεται να επιδρά στη συγκέντρωση των διαλυτών στερεών, στη μείωση της συγκέντρωσης οργανικών οξέων και στη συγκέντρωση των ανθοκυάνων (Coombe and Hale 1973, Gambetta et al. 2010, Yamane et al. 2006).

Λόγω της δράσης του S-ABA στο μηχανισμό ωρίμανσης των φρούτων, το ισομερές αυτό έχει απομονωθεί και τυποποιηθεί σε μορφή σκευάσματος, έτσι ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε προσυλλεκτικές εφαρμογές με στόχο τη βελτίωση της ποιότητας και την έλεγχο της ωρίμανσης. Σε εμπορική κλίμακα, συνήθως εφαρμόζεται με προσυλλεκτικούς ψεκασμούς υδατικών διαλυμάτων S-ABA συγκέντρωσης 50-200 mg L<sup>-1</sup> σε έγχρωμες ποικιλίες επιτραπέζιων σταφυλιών, με στόχο την ενίσχυση της έντασης του κόκκινου χρώματος των ραγών και την αύξηση της ομοιομορφίας τους. Η εφαρμογή γίνεται από το στάδιο του περκασμού έως και περίπου 10 ημέρες αργότερα, ανάλογα με την ποικιλία. Το S-ABA πλεονεκτεί έναντι του etherphon γιατί δεν επηρεάζει όλες τις διεργασίες ωρίμανσης.

### 1.7. Τα Οργανικά οξέα του σταφυλιού

Το γλεύκος και ο οίνος περιέχουν ανόργανα και οργανικά οξέα, καθώς και ικανή ποσότητα βάσεων, οι οποίες εξουδετερώνουν το σύνολο των ανόργανων οξέων ως πιο ισχυρά και μέρος των οργανικών. Εφόσον μέρος από τα οργανικά οξέα μένει ελεύθερο είναι φυσικό η όξινη αντίδραση του γλεύκους και του οίνου να οφείλεται σε αυτά. Επιπλέον, τα οργανικά οξέα αποτελούν σπουδαία ομάδα συστατικών των οίνων μιας και είναι υπεύθυνα όχι μόνο για την όξινη γεύση που τους προσδίδουν αλλά για την προστασία αυτών από τις μικροβιολογικές και χημικές προσβολές καθώς επίσης και για τη διατήρηση του χρώματος. Τα οργανικά οξέα αποτελούν ρυθμιστές, τόσο της ολικής ή ογκομετρούμενης οξύτητας του γλεύκους και του οίνου όσο και του pH ή ενεργού οξύτητας. Όπως είναι ήδη γνωστό η ολική οξύτητα είναι το σύνολο των ελεύθερων καρβοξυλομάδων των οξέων είτε βρίσκονται σε διάσταση είτε όχι. Το pH απ' την άλλη ορίζεται ως το σύνολο των καρβοξυλομάδων που βρίσκονται σε διάσταση και οι οποίες ρυθμίζουν την όξινη γεύση του οίνου.

Τα κύρια οργανικά οξέα του γλεύκους είναι το τρυγικό, το μηλικό και το κιτρικό και δημιουργούνται μέσα από μεταβολικά μονοπάτια στο φυτό της αμπέλου. Κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης τα παραπάνω οξέα υφίστανται ποσοτικές μεταβολές ενώ παράλληλα εμφανίζονται και νέα (π.χ ηλεκτρικό, γαλακτικό οξύ κ.α) ως υποπροϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης ή ως προϊόντα βακτηρίωσης ή ενζυμικής δράσης. Παρακάτω περιγράφονται τα κύρια και δευτερεύοντα οξέα που απαντώνται στο σταφύλι αλλά και αυτά που προκύπτουν ως δευτερογενή προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης .

#### **Οξέα σταφυλιού**

- Τρυγικό οξύ
- Μηλικό οξύ
- Κιτρικό οξύ
- Ουρανικά οξέα
- Γλυκονικό οξύ
- Οξαλικό οξύ
- Ασκορβικό οξύ

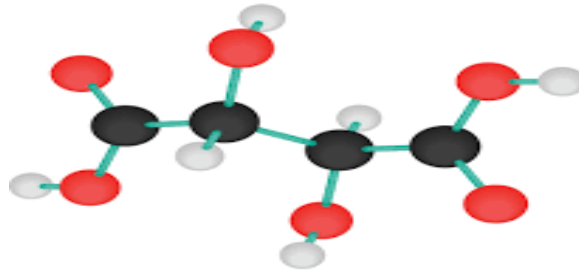
#### **Οξέα ζυμώσεων**

- Ηλεκτρικό οξύ
- Γαλακτικό οξύ
- Κιτρομηλικό οξύ
- Διμεθυλογλυκερικό οξύ
- Πυροσταφιλικό οξύ

- α-Κετογλουταρικό οξύ
- Οξικό οξύ
- Μυρμηγκικό οξύ
- Προπιονικό οξύ
- Ισοβουτυρικό οξύ
- Βουτυρικό οξύ

### 1.8. Τρυγικό οξύ

Το τρυγικό οξύ (ή ταρταρικό οξύ) είναι το σπουδαιότερο από τα οξέα του οίνου και θεωρείται ως το «ειδικό» οξύ του σταφυλιού και των προϊόντων αυτού, επειδή εκτός από το σταφύλι είναι σχετικά ελάχιστα διαδεδομένο στη φύση. Το τρυγικό οξύ που συναντάμε στους οίνους είναι της μορφής D-τρυγικό και η στερεοδιάταξή του στο χώρο παρουσιάζεται στην Εικόνα 7.

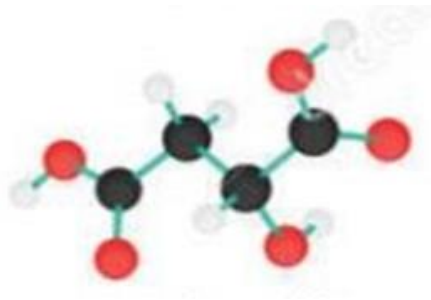


**Εικόνα 7.** Τρισδιάστατη απεικόνιση του τρυγικού οξέος

Είναι το πιο ισχυρό σε σχέση με τα άλλα οξέα και παρουσιάζει την μεγαλύτερη σταθερά διάστασης ( $pK=3.01$ ), γεγονός που επηρεάζει ουσιαστικά την ενεργό οξύτητα του οίνου. Από τα τρία κυριότερα οξέα του σταφυλιού (τρυγικό, μηλικό, κιτρικό), το τρυγικό οξύ είναι το ανθεκτικότερο σε βακτηριακές προσβολές και για τον λόγο αυτό χρησιμοποιείται κυρίως στις διορθώσεις οξύτητας του γλεύκους στα οινοποιεία. Η περιεκτικότητα του τρυγικού οξέος στο πράσινο σταφύλι ανέρχεται περίπου σε 15 g/L ενώ στο ώριμο σταφύλι κατέρχεται στα 7,5 g/L περίπου. Κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης η παραγωγή αλκοόλης μειώνει τη διαλυτότητα του όξινου τρυγικού καλίου με αποτέλεσμα την καθίζηση των κρυστάλλων του τρυγικού οξέος και συνεπακόλουθα τη μείωση της οξύτητας στα 2,5-4gr/L περίπου.

### 1.9. Μηλικό οξύ

Το δεύτερο σημαντικότερο οξύ είναι το μηλικό οξύ που συναντάται ως L-ισομερές. Το μηλικό οξύ είναι πιο ευπαθές από το τρυγικό και προσβάλλεται από τους μικροοργανισμούς (ζύμες και βακτήρια). Στην Εικόνα 8 παρουσιάζεται η δομή του μηλικού οξέος στο χώρο.

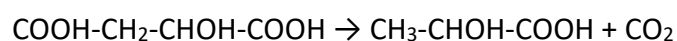


**Εικόνα 8.** Τρισδιάστατη απεικόνιση του μηλικού οξέος

Η συγκέντρωση του μηλικού οξέος στα πρώτα στάδια της ωρίμανσης κυμαίνεται από 15-25 g/L ενώ στα ώριμα πλέον σταφύλια κατέρχεται στα 2-4 g/L. Μάλιστα λόγω αυτής της μεγάλης διακύμανσης του, το μηλικό οξύ αποτελεί κλειδί τόσο για την ωρίμανση των σταφυλιών όσο και για την μετέπειτα επεξεργασία των οίνων και ιδιαίτερα των ερυθρών. Το μηλικό οξύ ασκεί σημαντική επίδραση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων, δίνοντας σε αυτούς χορτώδη οσμή και γεύση κάνοντας τους ταυτόχρονα πιο στυφούς. Η αστάθεια του μηλικού οξέος απέναντι στους μικροοργανισμούς και η επίδραση που ασκεί στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου, κάνει πολλούς επιστήμονες να ισχυρίζονται ότι δεν είναι δυνατό να υπάρξει οίνος εξαιρετικής ποιότητας, όσο περιέχεται σε αυτόν μηλικό (Σουφλερός 2012). Το μηλικό οξύ μπορεί να μετατραπεί σε αλκοόλη μέσω της μηλοαλκοολικής ζύμωσης, όπως φαίνεται παρακάτω:

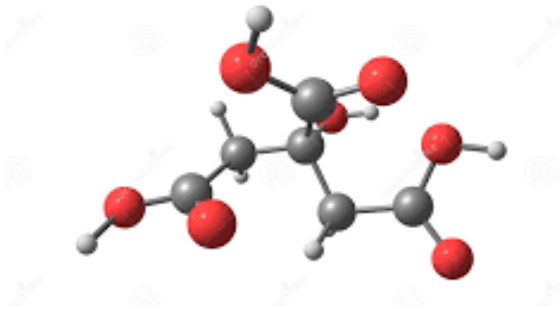


Μπορεί επίσης να μετατραπεί μέσω της μηλογαλακτικής ζύμωσης σε γαλακτικό οξύ και CO<sub>2</sub>, όπως φαίνεται ακολούθως:



### 1.10. Κιτρικό οξύ

Όσο αφορά το κιτρικό οξύ, αυτό βρίσκεται στο σταφύλι σε μικρές ποσότητες που δεν ξεπερνούν τα 0,5 g/L. Το κιτρικό οξύ προέρχεται αποκλειστικά από τα σταφύλια και δεν παράγεται από την αλκοολική ζύμωση. Στην Εικόνα 3.10. παρουσιάζεται η δομή του κιτρικού οξέος στο χώρο.



**Εικόνα 9.** Τρισδιάστατη απεικόνιση του κιτρικού οξέος

### 1.11. Άλλα οξέα των οίνων

Άλλα οξέα που συναντώνται στον οίνο είναι το γαλακτικό οξύ, το ηλεκτρικό οξύ και το οξικό οξύ τα οποία παράγονται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης. Μάλιστα, από τις ζύμες κατά την αλκοολική ζύμωση παράγεται το D-γαλακτικό οξύ σε ποσότητες 0,1-0,4 g/L. Από την μηλογαλακτική ζύμωση παράγεται το L-γαλακτικό οξύ σε ποσότητα έως 3 g/L. Το ηλεκτρικό οξύ δίνει ξινή, αλμυρή και πικρή γεύση ενώ η παρουσία του οξικού οξέος στους οίνους έχει σαν αποτέλεσμα μια δυσάρεστη οσμή και γεύση ξυδιού.

### 1.12. Τα φαινολικά συστατικά

Τα φαινολικά παράγωγα αποτελούν σημαντικό κομμάτι της οινολογίας, γιατί καθορίζουν τόσο το χρώμα και τις αποχρώσεις των έγχρωμων οίνων όσο και τους γευστικούς χαρακτήρες τους. Επίσης, επηρεάζουν το άρωμα των οίνων και ευθύνονται για τις θετικές ή αρνητικές μεταβολές της οινικής ποιότητας κατά τη συντήρηση και παλαίωση. Ο ρόλος τους στο σταφύλι πέραν των υπολοίπων είναι και αντιμικροβιακός, ενώ σε μικρότερο βαθμό προστατεύουν από τις προσβολές από έντομα και από την κατανάλωση από ζώα (Jackson R. S., 2008).



Τα φαινολικά συστατικά είναι δευτερεύοντα προϊόντα του μεταβολισμού των σακχάρων. Ο όρος φαινολικά συστατικά περιλαμβάνει ένα μεγάλο αριθμό στοιχείων τα οποία αποτελούνται από έναν ή περισσότερους αρωματικούς δακτυλίους ενωμένους με ένα ή περισσότερα υδροξύλια. Χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τα φλαβονοειδή και τα μη φλαβονοειδή. Στα φλαβονοειδή περιλαμβάνονται οι πολυφαινόλες με σκελετό 15 ατόμων άνθρακα C6-C3-C6. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι προανθοκυανιδίνες, οι ταννίνες, οι ανθοκυάνες, οι φλαβόνες, οι φλαβονόλες και οι φλαβανόλες (κατεχίνες). Οι μη φλαβονοειδείς φαινόλες χαρακτηρίζονται από τον C3-C6 σκελετό και αποτελούνται από φαινολικά οξέα (παράγωγα του βενζοϊκού και του κινναμωμικού οξέος) και τα στυλβένια. Τα μη φλαβονοειδή βρίσκονται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, εκτός των υδροξυκινναμωμικών οξέων (καφταρικό και κουταρικό οξύ) (Conde et al., 2007).

Όσον αφορά τις ανθοκυάνες, στις ερυθρές ποικιλίες αρχίζουν να συσσωρεύονται στους φλοιούς περίπου δύο βδομάδες πριν την εμφάνιση του χρώματος. Οι συγκεντρώσεις τους αυξάνονται κατά την ανάπτυξη των ραγών φτάνοντας σε μία μέγιστη τιμή και στη συνέχεια μειώνονται κατά την πλήρη ωρίμανση (Ribereau-Gayon et al., 1998). Ο Adams (2006) παρατήρησε ότι η συσσώρευσή τους ξεκινάει στο στάδιο του περκασμού. Ο χρόνος και ο ρυθμός σύνθεσης της συσσώρευσής τους εξαρτάται από την ποικιλία, τη συγκέντρωση των σακχάρων, τη θερμοκρασία, την ηλιακή ακτινοβολία, την υδατική κατάσταση των πρέμνων κ.α. Οι ακριβείς συνθήκες για την έναρξη του σχηματισμού των ανθοκυανών δεν είναι εντελώς γνωστές, αλλά φαίνεται ότι όταν η συγκέντρωση των σακχάρων στα κύτταρα του φλοιού ανέλθει στα 9 έως 10 Brix, ενεργοποιούνται τα γονίδια που εμπλέκονται στη βιοσύνθεση των ανθοκυανών (Σταυρακάκης, 2013). Από τις ενδογενείς ιδιότητες της ποικιλίας, η ζωηρότητα επιδρά στη σύνθεση των ανθοκυανών. Μάλιστα σύμφωνα με τους Cortell et al. (2005) οι ράγες σε πρέμνα χαμηλής ή μέτριας ζωηρότητας παρουσιάζουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε προανθοκυανιδίνες και προανθοκυάνες. Αντίθετα, σε συνθήκες σκίασης που διαμορφώνονται σε ζωηρά πρέμνα, ο ρυθμός σχηματισμού των ανθοκυανών είναι αργός με αποτέλεσμα τη χαμηλή συγκέντρωση χρωστικών στους φλοιούς. Στις περισσότερες λευκές ποικιλίες, οι ανθοκυάνες απουσιάζουν τελείως (π.χ. Sauvignon blanc, Chardonnay),

ενώ σε ορισμένες τις συναντάμε σε ίχνη (π.χ. Pinot blanc, Ugni blanc) (Ribéreau-Gayon et al. 2000). 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).

Όσον αφορά τις ταννίνες, βρίσκονται σε πολλά φυτικά είδη, αλλά συντίθενται συνήθως σε μεγαλύτερο βαθμό αν τραυματιστεί ο φυτικός ιστός. Λόγω αυτής της καταστροφής έρχονται σε επαφή οι πολυφαινολικές οξειδάσες με τα φαινολικά υποστρώματα όπως το γαλλικό οξύ, το χλωρογενικό οξύ, το καφεϊκό οξύ και τα φλαβονοειδή. Η οξείδωση των φαινολικών ενώσεων από τις πολυφαινολικές οξειδάσες παράγει κινόνες, οι οποίες πολυμερίζονται και σχηματίζουν ταννίνες. Οι τελευταίες θεωρούνται προστατευτικές ουσίες απέναντι στις προσβολές από παθογόνα. Τις ταννίνες τις βρίσκουμε στα στερεά μέρη της σταφυλής. Στα γίγαρτα βρίσκονται σε ποσοστό μέχρι 65%, στους βοστρύχους μέχρι 22%, στους φλοιούς μέχρι 12% ενώ στη σάρκα σε ποσοστό μόλις 1%. Οι ταννίνες επηρεάζουν την γευστικότητα των σταφυλιών και των προϊόντων τους. Σε μικρές ποσότητες συμβάλλουν θετικά στη γεύση των επιτραπέζιων σταφυλιών, στο χυμό των σταφυλιών και του οίνου. Στους οίνους επίσης βελτιώνουν το σώμα, σταθεροποιούν το χρώμα και συμβάλλουν στο κολλάρισμα (Καράταγλης 1995).

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1. Σκοπός και σχεδιασμός πειράματος

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής μελέτης είναι να προσδιοριστεί η επίδραση αμπισικού οξέος τόσο στην πορεία ωρίμανσης όσο και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά οίνων που έχουν προέλθει από την ποικιλία Σαββατιανό. Τα δείγματα προήλθαν από αμπελώνα που βρίσκεται στην κοιλάδα των Μουσών στην Άσκη Βοιωτίας. Χρησιμοποιήθηκαν τρία (3) διαφορετικά δείγματα, ο μάρτυρας(Control) και τα δείγματα με τις διαφορετικές συγκεντρώσεις αμπισικού οξέος, 400 mg/L(Group400) και 800 mg/L(Group800). Προκειμένου να εξαχθούν όσο το δυνατόν ασφαλέστερα συμπεράσματα για το κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκαν 3 επαναλήψεις

Παρακάτω παρουσιάζονται οι ημερομηνίες εφαρμογών του αμπισικού οξέος:

- 1η εφαρμογή: 21/7/2018
- 2η εφαρμογή: 22/7/2018
- 3η εφαρμογή: 24/7/2018

Στη συνέχεια παρουσιάζονται οι ημερομηνίες δειγματοληψίας των ραγών και για τα τρία (3) δείγματα (Control, 400 mg/L, 800 mg/L)

- 23/07/2018
- 01/08/2018
- 08/08/2018
- 15/08/2018
- 22/08/2018
- 29/08/2018
- 04/09/2018
- 12/09/2018 (Τρύγος Control)
- 21/09/2018 (Τρύγος Group400, Group800)

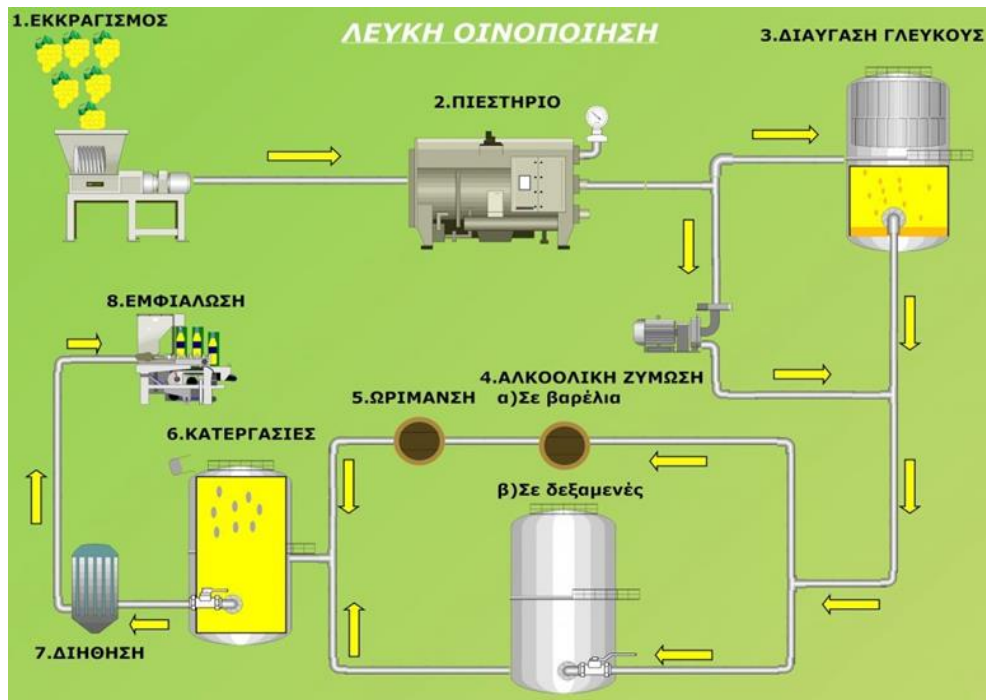
## 2.2. Λευκή οινοποίηση

Στη συγκεκριμένη εργασία, το πρωτόκολλο οινοποίησης που ακολουθήθηκε είναι αυτό της κλασικής λευκής οινοποίησης. Η οινοποίηση δε, πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο οιнологίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών στο υπόγειο του κτηρίου Χασιώτης. Αφού η πρώτη ύλη παρελήφθη και συγκεντρώθηκε στη σταφυλοδόχο, πέρασε στο σπαστήρα όπου έγινε ελαφριά έκθλιψη των σταφυλιών. Στη συνέχεια ακολούθησε η αποβοστρύχωση.

Αρχικά, το παραληφθέν γλεύκος οδηγήθηκε σε ανοξειδωτή δεξαμενή προς απολάσπωση. Θειώθηκε με metabisulfite με 7gr/HL προς αποφυγή ανεπιθύμητων οξειδώσεων. Έγινε, επίσης, προσθήκη πυκτινολυτικών ενζύμων (Safizym Clar) σε αναλογία 1g/HL. Η θερμοκρασία ρυθμίστηκε στους 4°C προκειμένου να γίνει καλύτερη στατική απολάσπωση. Έπειτα από 24 ώρες το διαυγασμένο πλέον γλεύκος παρελήφθη και τοποθετήθηκε σε δεύτερη ανοξειδωτή δεξαμενή όπου, έπειτα από εμβολιασμό με επιλεγμένα στελέχη ζυμομυκήτων του γένους *Saccharomyces cerevisiae* (εμπορική ονομασία *Vivace CKS102*) σε αναλογία 25gr/HL ξεκίνησε και ολοκληρώθηκε επιτυχώς η αλκοολική ζύμωση. Για την πρωτεϊνική σταθεροποίηση των οίνων έγινε προσθήκη μπεντονίτη σε αναλογία 25gr/HL. Κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης πραγματοποιήθηκε αρχικά οργανική θρέψη των μυκήτων με Springferm σε αναλογία 25gr/HL και προς το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης, ανόργανη θρέψη με DAP σε αναλογία 15gr/HL προκειμένου να αποφευχθούν ανεπιθύμητες καθυστερήσεις στη ζύμωση που θα επηρέαζαν αρνητικά τον οργανοληπτικό χαρακτήρα των εξεταζόμενων οίνων. Μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης, και αφού όλα τα σάκχαρα με τη βοήθεια ενζύμων που παράγονται από τους ζυμομύκητες, μετατράπηκαν σε αιθυλική αλκοόλη ακολούθησε η δεύτερη απολάσπωση του οίνου, η σταθεροποίηση του στους 4°C, στη συνέχεια η θείωση με 8-10gr/HL metabisulfite προς αποφυγήν μικροβιακών προσβολών και οξειδώσεων και τέλος η εμφιάλωση. Στη συνέχεια ακολούθησε φιλτράρισμα των οίνων και εμφιάλωση τους υπό κενό προκειμένου να αποφευχθούν τυχόν ανεπιθύμητες οξειδώσεις. Η ωρίμανση των εμφιαλωμένων πλέον κρασιών πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία 10°C

Τα βήματα που περιεγράφηκαν προηγουμένως αποδίδονται συνοπτικά και σχηματικά παρακάτω:

- Τρύγος – παραλαβή των σταφυλιών
- Αποβοστρύχωση και έκθλιψη σταφυλιών
- Πίεση σταφυλομάζας
- Παραλαβή γλεύκους, θείωση (7 gr MBS/ hL σκόνη μεταδιθειώδους καλίου)
- Προσθήκη διαυγαστικών ενζύμων μετά από 2 ώρες (πιθανή προσθήκη PVPP ή bentonite)
- Μεταφορά γλεύκους στους 4° C (στατική απολάσπωση)
- Μεταφορά διαυγούς γλεύκους στη δεξαμενή
- Αρχικές μετρήσεις Brix, pH, ογκομετρούμενη οξύτητα, YAN
- Εμβολιασμός
- Αλκοολική ζύμωση
- Μετρήσεις καθημερινώς σε Brix,
- Θρέψη
- Αποζύμωση
- Απολάσπωση
- Σταθεροποίηση του οίνου με παραμονή στους 4° C
- Θείωση (8-10 gr MBS/ hL)
- Φιλτράρισμα
- Εμφιάλωση του οίνου
- Διατήρηση φιαλών στους 10° C



Εικόνα 10. Πορεία λευκής οινοποίησης

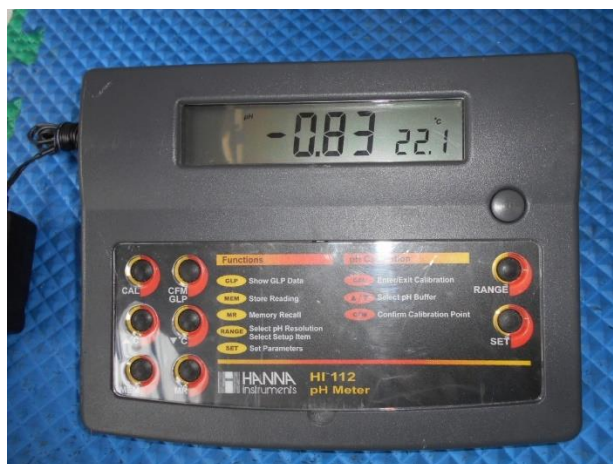
### 2.3. Προσδιορισμός βάρους ραγών

Για τον προσδιορισμό της εξέλιξης του βάρους των ραγών, συλλέχθηκαν για κάθε εφαρμογή και για τον μάρτυρα 50 τυχαίες ράγες, στις ημερομηνίες δειγματοληψιών που αναφέρθηκαν παραπάνω. Το βάρος των ραγών υπολογίστηκε με ζυγό ακριβείας.

### 2.4. Προσδιορισμός ενεργού οξύτητας-pH

Η μέθοδος βασίστηκε στη μέτρηση της διαφοράς δυναμικού σε ηλεκτρόδιο βυθισμένο στο εξεταζόμενο υγρό. Για τον προσδιορισμό της ενεργούς οξύτητας χρησιμοποιήθηκε το ψηφιακό pH-μετρο HANNA HI 112. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε η βαθμονόμηση του οργάνου σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή, χρησιμοποιώντας τα παρακάτω ρυθμιστικά διαλύματα (buffer solutions):

- Ρυθμιστικό διάλυμα pH=4,01 στους 25 °C
- Ρυθμιστικό διάλυμα pH=6,85 στους 25 °C



**Εικόνα 11.** Το ψηφιακό pH-μετρο

Το ηλεκτρόδιο φυλάσσεται μέσα σε απεσταγμένο νερό. Πριν από κάθε μέτρηση ρυθμίστηκε το μηδέν της κλίμακας. Κατόπιν, σε ένα ποτήρι ζέσεως τοποθετήθηκε αρκετή ποσότητα δείγματος προκειμένου το ηλεκτρόδιο να είναι πλήρως εμβαπτισμένο ενώ δόθηκε προσοχή ώστε να μην ακουμπάει στα τοιχώματα του ποτηριού. Η θερμοκρασία του προς ανάλυση δείγματος κυμαινόταν μεταξύ 20 και 25 °C. Με τη σταθεροποίηση της τιμής λαμβάνεται και η μέτρηση. Λήφθηκαν δυο μετρήσεις από το κάθε δείγμα και καταγράφηκε ο μέσος όρος προκειμένου να είναι ασφαλέστερο το αποτέλεσμα. Το pH του γλεύκους και του οίνου εκφράστηκε με δύο δεκαδικά ψηφία.

## 2.5. Προσδιορισμός ολικής οξύτητας

### **Υλικά και εξοπλισμός**

- Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) 0.1N
- Διάλυμα κυανού της βρωμοθυμόλης
- Προχοΐδα, κωνική φιάλη, σιφώνια, ποτήρι ζέσεως
- Ορθοστάτης με λαβίδα
- Ελαστική Poire
- Υδροβολέας με απιονισμένο νερό

Η μέθοδος προσδιορισμού της ολικής/ογκομετρούμενης οξύτητας βασίζεται στην εξουδετέρωση των όξινων ομάδων του δείγματος με πρότυπο διάλυμα αλκάλεως παρουσία ενός δείκτη. Στη συγκεκριμένη περίπτωση χρησιμοποιήθηκε ως βάση

NaOH 0.1 M ενώ ως δείκτης το κυανό της βρωμοθυμόλης. Τα βήματα που ακολουθήθηκαν στο εργαστήριο ήταν τα εξής:

α. Προετοιμασία δείγματος: Το δείγμα (γλεύκος ή οίνος) πρέπει να είναι διαυγές. Στην περίπτωση μέτρησης γλεύκους εν ζυμώσει είναι απαραίτητη η απομάκρυνση του CO<sub>2</sub> προκειμένου να μην παρεμβάλλεται στη μέτρηση. Αυτό επιτυγχάνεται είτε με αντλία κενού είτε με θέρμανση του δείγματος.

β. Μέτρηση οξύτητας με χρήση δείκτη: Μια προχοΐδα πληρώθηκε με πρότυπο διάλυμα NaOH 0.1 M και λήφθηκε η αρχική τιμή. Σε μια κωνική φιάλη τοποθετήθηκαν 10 mL δείγματος, 1 mL δείκτη κυανού της βρωμοθυμόλης και περίπου 30 mL απεσταγμένου νερού. Ακολούθησε τιτλοδότηση με το διάλυμα του NaOH, υπο συνεχή ανάδευση, μέχρι την αλλαγή του χρώματος (κυανοπράσινη χροιά). Σημειώθηκε η τελική τιμή της προχοΐδας. Από τη διαφορά αρχικής και τελικής τιμής βρέθηκε ο αριθμός των καταλωθέντων ml, έστω n.

Η ολική οξύτητα εκφραζόμενη σε χιλιοστοϊσοδύναμα ανά λίτρο (meq/L) δίνεται από την παρακάτω σχέση και εκφράζεται με ένα δεκαδικό ψηφίο

$$A = 10 * n$$

Η ολική οξύτητα εκφραζόμενη σε γραμμάρια τρυγικού οξέος ανά λίτρο (g/L) δίνεται από τον τύπο με ένα δεκαδικό ψηφίο (Κοτσερίδης Γ. και Προξενιά Ν., 2012).

$$A = 0.75 * n$$

## 2.6. Προσδιορισμός πτητικής οξύτητας

Η μέθοδος περιλαμβάνει ογκομέτρηση των πτητικών οξέων που διαχωρίζονται από τον οίνο με απόσταξη με υδρατμούς και συμπύκνωση των ατμών. Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν:

- Κρυσταλλικό τρυγικό οξύ (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>)
- Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) 0,1 N
- Διάλυμα φαινολοφθαλεΐνης 1 % σε ουδέτερη αλκοόλη 96 % vol.
- Υδροχλωρικό οξύ (ρ 20 = 1,18 έως 1,19 g/ml) αραιωμένο σε αναλογία 1:4 (v/v)
- Διάλυμα ιωδίου (I<sub>2</sub>) 0,005 M



- Κρυσταλλικό ιωδιούχο κάλιο (KI)
- Διάλυμα αμύλου 5 g/L
- Κορεσμένο διάλυμα βορικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ )

Όσον αφορά τη συσκευή απόσταξης με υδρατμούς που χρησιμοποιήθηκε, αυτή αποτελούνταν από:

- φιάλη παραγωγής υδρατμών (οι παραγόμενοι υδρατμοί πρέπει να είναι απαλλαγμένοι από διοξείδιο του άνθρακα)
- φιάλη απόσταξης
- αποστακτική στήλη
- ψυκτήρα

### 2.7. Προσδιορισμός της απόχρωσης του οίνου

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, οι φασματοφωτομετρικές μετρήσεις γίνονται σε κυψελίδα πάχους 10 mm χρησιμοποιώντας απεσταγμένο νερό ως τυφλό. Η εκτίμηση του χρώματος των λευκών οίνων γίνεται με μέτρηση της απορρόφησης στα 420 nm, όπου μετριέται το κίτρινο χρώμα. Η ένδειξη στα 420 nm δείχνει το βαθμό οξειδωσης των λευκών οίνων. Όσο πιο οξειδωμένος είναι ένας οίνος τόσο μεγαλύτερη η απορρόφηση που λαμβάνεται στα 420 nm.

### 2.8. Προσδιορισμός αλκοολικού τίτλου

Ο προσδιορισμός του αλκοολικού τίτλου πραγματοποιήθηκε με απόσταξη των οίνων και εκφράζεται ως % αιθανόλη κατ' όγκο

#### Υλικά και εξοπλισμός

- Απλή αποστακτική αποτελούμενη από: μια σφαιρική φιάλη pyrex των 500ml που χρησιμεύει ως βραστήρας και έναν επιμήκη ψυκτήρα από γυαλί που καταλήγει σε λεπτό σωλήνα που συνδέεται με την φιάλη.
- Αραιόμετρο
- Ογκομετρική φιάλη των 200ml
- Θερμόμετρο

### **Διαδικασία προσδιορισμού**

Αρχικά το δείγμα του οίνου αναδεύεται ώστε να απομακρυνθεί η μεγαλύτερη ποσότητα του διοξειδίου του άνθρακα. Στη συνέχεια 200 ml οίνου μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη, σημειώνεται η θερμοκρασία και μεταγγίζεται στη σφαιρική φιάλη της αποστακτικής. Η ογκομετρική φιάλη ξεπλένεται τέσσερις φορές με 5ml απεσταγμένο νερό το οποίο προστίθεται στη σφαιρική φιάλη μαζί με μερικά τεμαχίδια πορώδους ανενεργού υλικού (ελαφρόπετρα). Το απόσταγμα συλλέγεται στην ογκομετρική φιάλη των 200ml που χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση του οίνου. Συλλέγεται απόσταγμα όγκου ίσου με τα  $\frac{3}{4}$  του αρχικού όγκου και συμπληρώνεται η ογκομετρική φιάλη μέχρι τα 200 ml με απεσταγμένο νερό. Η θερμοκρασία του αποστάγματος δεν πρέπει να αποκλίνει από την αρχική θερμοκρασία περισσότερο από  $\pm 2^\circ$ . Ακολούθως το κατάλληλο αλκοολόμετρο εμβαπτίζεται στο απόσταγμα μαζί με ένα θερμόμετρο. Λαμβάνεται η θερμοκρασία και αφού ισοροπήσει το αλκοολόμετρο σημειώνεται η ένδειξη (φαινομενικός αλκοολικός τίτλος). Η θερμοκρασία του υγρού δεν πρέπει να διαφέρει από τη θερμοκρασία περιβάλλοντος πάνω από  $\pm 5^\circ\text{C}$ . Ο φαινομενικός αλκοολικός τίτλος που μετράται διορθώνεται ως προς τη θερμοκρασία.

### **Έκφραση αποτελεσμάτων**

Ο αλκοολικός τίτλος εκφράζεται σε % αιθανόλη κατ' όγκο και συμβολίζεται με "% vol".

#### **2.9. Test ταχείας αμαύρωσης**

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της ανάπτυξης της αμαύρωσης των οίνων (Sioumis, Kallithraka, Makris, Kefalas, 2006) είναι μια παραλλαγή αυτής που περιεγράφηκε από τους Singleton and Kramling (1976). Συγκεκριμένα, για κάθε δείγμα του πειράματος (Control, Group400, Group800) αντιστοιχούσαν 3 φιαλίδια βιδωτά με καπάκι (vial), με σκοπό τη μεγαλύτερη ακρίβεια, τον έλεγχο της επαναληψιμότητας και συνεπώς πιο ακριβή αποτελέσματα.

Για την απαλλαγή του δείγματος από στερεά σωματίδια αρχικά τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στις 4000rpm για 20 λεπτά και στη συνέχεια στα vials των 45 mL

(μήκος 9,5 cm, εσωτερική διάμετρος 2,5 cm), μεταφέρθηκαν με ογκομετρικό κύλινδρο 30 mL δείγματος οίνου ο οποίος προηγουμένως είχε διηθηθεί μέσω φαρμακευτικού βαμβακιού. Στα vials επισημάνθηκε ο αντίστοιχος κωδικός του οίνου. Τα vials πληρώθηκαν κατά τα 2/3 έτσι ώστε να παραμείνει 1/3 κενός χώρος για να εισέλθει το οξυγόνο και να επέλθει οξείδωση. Έπειτα, όλα τα vials υπεβλήθησαν σε θέρμανση υπό σταθερή θερμοκρασία  $55,0 \pm 0,2$  °C (τακτική παρατήρηση με τη βοήθεια θερμομέτρου) μέσα σε ειδικό υδατόλουτρο (προσθήκη νερού σε περίπτωση που δεν καλύπτονται τα vials) και συνθήκες σκότους. Τα vials αποσύρονταν από το υδατόλουτρο κάθε 24 ώρες και αφού αφήνονταν για διάστημα περίπου 1 ώρας να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος, με τη βοήθεια του φασματοφωτόμετρου καταγραφόταν η απορρόφηση των δειγμάτων στα 420 nm. Για το μηδενισμό του φασματοφωτόμετρου χρησιμοποιήθηκε απιονισμένο νερό ενώ οι μετρήσεις πραγματοποιούνταν σε γυάλινες κυψελίδες και λάμπα αλογόνου. Το περιεχόμενο των κυψελίδων επιστρεφόταν πάντα στα φιαλίδια από τα οποία αντλήθηκε έτσι ώστε να διατηρηθεί σταθερός ο αρχικός όγκος του δείγματος και ο κενός χώρος και τα vials τοποθετούνταν ξανά στο υδατόλουτρο. Η διαδικασία επαναλήφθηκε για 12 μέρες.

Για κάθε δείγμα προέκυψε μία καμπύλη μεταβολής της απορρόφησης του μήκους κύματος στα 420 nm σε συνάρτηση με το χρόνο. Η εκτίμηση του χρώματος για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα δίνεται από την εξίσωση  $A_{420} = A_{4200} + kt$  όπου θεωρούμε ως  $A_{420}$  τη μεταβολή του χρώματος που προκύπτει στον οίνο,  $A_{4200}$  την αρχική μέτρηση του χρώματος, συντελεστή  $k$  το ρυθμό μεταβολής του χρώματος και  $t$  το χρονικό διάστημα. Ο συντελεστής  $k$  χαρακτηρίζει την ταχύτητα μεταβολής του χρώματος και για κάθε δείγμα είναι διαφορετικός. Όσο μικρότερη τιμή έχει που αντιστοιχεί στη μεταβολή της απορρόφησης του μήκους κύματος 420 nm τόσο πιο αργά θα εμφανιστούν οι καφέ αποχρώσεις και θα οξειδωθεί ο οίνος.

## 2.10. Προσδιορισμός Φαινολικών συστατικών

### 2.10.1. Μέθοδος Follin – Ciocalteu

#### **Υλικά και εξοπλισμός**

- Πιπέτες ή σιφώνια

- Ογκομετρικές φιάλες των 20ml
- Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu
- Ανθρακικό νάτριο  $\text{NaCO}_3$  20%
- Φασματοφωτόμετρο, κυψελίδες

Με τη μέθοδο Follin- Ciocalteu που αναφέρεται από τους Waterman και Mole (1994) προσδιορίζεται η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενός δείγματος οίνου. Βασίζεται στην οξείδωση των φαινολών σε αλκαλικό περιβάλλον, παρουσία φωσφοροβολφραμικού και φωσφορομολυβδαινικού οξέος. Τα φαινολικά ιόντα οξειδώνονται με ταυτόχρονη αναγωγή των ετεροπολυερών οξέων. Κατά την οξείδωση των φαινολών το αντιδραστήριο Follin Ciocalteu ανάγεται προς μίγμα κυανών οξειδίων του βολφραμίου και του μολυβδαινίου. Το σχηματιζόμενο κυανό χρώμα παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 750nm και είναι ανάλογο με τη συγκέντρωση των ολικών φαινολών

#### **Διαδικασία προσδιορισμού**

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, σε ογκομετρική φιάλη των 10ml τοποθετούνται 0.1ml οίνου, 0.5ml αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu και 1.5ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20%. Ακολουθεί ανάδευση και η φιάλη συμπληρώνεται με νερό μέχρι τη χαραγή. Παράλληλα δημιουργείτε ένα τυφλό δείγμα όπου αντί για οίνο περιέχει νερό. Ύστερα από αναμονή 30' όπου συντελείται η ανάπτυξη του χρώματος μετριοούνται οι απορροφήσεις των διαλυμάτων σε φασματοφωτόμετρο στα 765nm. Ο μηδενισμός του φωτόμετρου γίνεται με το τυφλό δείγμα.

#### **Έκφραση των αποτελεσμάτων**

Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg/L γαλλικού οξέος που προκύπτουν από την καμπύλη αναφοράς η χάραξη της οποίας γίνεται με διαλύματα γαλλικού οξέος γνωστών συγκεντρώσεων (Χαρβαλιά, Α και Μπένα Τζούρου, E 1982 Ribereau Gayon P et al 2000). Δίνεται με τη μορφή δείκτη με τις εξής σχέσεις:

**Δείκτης FC=  $A_{750} \times 20$  για λευκούς μη αραιωμένους οίνους.**

### 2.10.2. Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ)

Ο προσδιορισμός βασίζεται στην ισχυρή απορρόφηση που παρουσιάζουν οι βενζολικοί δακτύλιοι των φαινολικών ενώσεων στο υπεριώδες φως, το μέγιστο της οποίας παρατηρείται γύρω στα 280 nm. Μετρά την περιεκτικότητα των φλαβονοειδών φαινολών (ανθοκυάνες, ταννίνες), των μη φλαβονοειδών (φαινολικά οξέα) και κάποιων μη φαινολικών ουσιών που απορροφούν στα 280 nm.

Τα υλικά και ο εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκαν ήταν:

- Φασματοφωτόμετρο
- Φυγόκεντρος ή ηθμός 1,2 μm
- Κυψελίδες χαλαζία μήκους οπτικής διαδρομής 1cm
- Ογκομετρική φιάλη των 100 mL
- Σιφώνιο 1 mL

Τα δείγματα του γλεύκους ή του οίνου που αντιστοιχούσαν σε κάθε εφαρμογή φυγοκεντρήθηκαν στις 4000 rpm για 5 min. Στη συνέχεια, παρελήφθη με σιφώνιο 1 mL από τα δείγματα και μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL όπου αραιώθηκε με απιονισμένο νερό μέχρι την χαραγή των 100 mL (αραιώση 1:100). Μετρήθηκε η απορρόφηση σε μήκος κύματος 280 nm. Ο ΔΦΟ προκύπτει από την ακόλουθη σχέση:

$$\Delta\Phi\text{O} = \text{OD} \times \text{Αραιώση δείγματος (εδώ 100)}$$

Όπου OD: η ένδειξη του οργάνου

### 2.11. Προσδιορισμός συγκέντρωσης αναγόντων σακχάρων με τη μέθοδο Luff

#### **Υλικά και εξοπλισμός**

- Αλκαλικό διάλυμα χαλκού
- Διάλυμα θειικού οξέος H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25%
- Διάλυμα ιωδιούχου καλίου 30%
- Δείκτης αμύλου 5gr/L
- Πρότυπο διάλυμα θειοθειικού νατρίου Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0.1N
- Προχοΐδα κωνική φιάλη 250ml με εσμύρισμα, ογκομετρικοί κύλινδροι
- Πιπέτες, κάθετος ψυκτήρας, θερμαντικός μανδύας

Το σύνολο των σακχάρων που διαθέτουν ελεύθερη αλδεϋδική ή κετονική ομάδα χαρακτηρίζονται από την ιδιότητα να ανάγουν το δισθενή χαλκό σε μονοσθενή, σε αλκαλικό περιβάλλον. Εκμεταλλεόμενοι αυτή την ιδιότητα γίνεται δυνατός ο προσδιορισμός τους με χημικές μεθόδους. Προσδιορίζοντας τα ανάγοντα σάκχαρα (γλυκόζη, φρουκτόζη) έχουμε μια σαφή εικόνα των ζυμώσιμων σακχάρων.

## 2.12. Μέτρηση οργανικών οξέων με τη χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC)

Η HPLC είναι μια κατάλληλη τεχνική για τον ακριβή και επαναλήψιμο προσδιορισμό ενός μεγάλου φάσματος χημικών ενώσεων. Αποτελεί παραλλαγή της κλασικής χρωματογραφίας στήλης και η ταχύτατη εδραίωση της στο χώρο της ενόργανης ανάλυσης βασίστηκε, κατά κύριο λόγο, στην εξέλιξη των υλικών πλήρωσης της στήλης. Το κύριο πεδίο εφαρμογών της HPLC είναι η ανάλυση φαρμάκων, τροφίμων και περιβαλλοντικών δειγμάτων.

Ο διαχωρισμός των συστατικών στο συγκεκριμένο χρωματογραφικό σύστημα είναι αποτέλεσμα της συνδυαστικής δράσης μιας κινητής και μιας στατικής φάσης. Σε πρώτο στάδιο, το προς ανάλυση δείγμα εισάγεται στη χρωματογραφική στήλη όπου βρίσκεται η στατική φάση. Τα συστατικά του δείγματος συμπαρασύρονται από την κινητή φάση, η οποία προωθείται στη στήλη με τη βοήθεια μιας αντλίας υψηλής πίεσης και, κάτω από σωστά επιλεγμένες πειραματικές συνθήκες, μετακινούνται διαμέσου της φάσης με διαφορετικές ταχύτητες και διαχωρίζονται.

Τα συστατικά, τα οποία εκλύονται από το άκρο της χρωματογραφικής στήλης, εισέρχονται στον κατάλληλο ανιχνευτή και τα σήματα καταγράφονται ως συνάρτηση του χρόνου, δίνοντας ένα διάγραμμα με μια σειρά κορυφών, το λεγόμενο χρωματογράφημα. Οι θέσεις των κορυφών ως προς τον άξονα του χρόνου εξυπηρετούν την ταυτοποίηση των συστατικών του δείγματος και το εμβαδόν κάθε κορυφής αποτελεί το ποσοτικό τους μέτρο. Τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν:

- Φιάλες αποθήκευσης διαλυτών
- Αντλία (σταθερής ροής, σταθερής πίεσης)
- Μονάδα εισαγωγής δείγματος (βαλβίδα εισαγωγής δείγματος)

- Χρωματογραφική στήλη
- Ανιχνευτής
- Καταγραφικό

Το μηχάνημα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το μοντέλο Waters Alliance 2695. Ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε ήταν το  $H_2SO_4$  συγκέντρωσης 5 mM (ο οποίος φιλτράρονταν υπό πίεση 300 atm). Το καταγραφικό ήταν ο υπολογιστής. Τα συστατικά που ανιχνεύθηκαν και μετέπειτα αναλύθηκαν μέσω αυτής της μεθόδου είναι το κιτρικό οξύ, το τρυγικό οξύ, το μηλικό οξύ, το γαλακτικό οξύ, το ηλεκτρικό οξύ.

### 2.13. Προσδιορισμός αφομοιώσιμου αζώτου

Το άζωτο είναι μια κρίσιμη θρεπτική ουσία σταφυλιού για την ανάπτυξη του πληθυσμού των ζυμομυκήτων και ως εκ τούτου της δραστηριότητα της ζύμωσης. Επηρεάζει το ρυθμό και την ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης, των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και του στίλ του κρασιού. Το αφομοιώσιμο άζωτο των σταφυλιών (YAN) προσδιορίζεται με τον ανεξάρτητο προσδιορισμό της αμμωνίας και του αμμωνιακού αζώτου. Στη συνέχεια αυτά εκφράζονται ως προς άζωτο και προστίθενται.

### 2.14. Προσδιορισμός αμμωνιακού αζώτου

Η μέθοδος προσδιορισμού του αμμωνιακού δυναμικού των σταφυλιών που συνήθως χρησιμοποιείται είναι αυτή που έχει προτείνει ο Scheiner (Scheiner D, 1976) και βασίζεται στην αντίδραση της αμμωνίας με αλκαλικό διάλυμα υποχλωριώδους παρουσίας φαινολικού καταλύτη, σχηματίζοντας ινδοφαινόλη η οποία έχει μπλε χρώμα. Η συγκέντρωση της ινδοφαινόλης υπολογίζεται φωτομετρικά στα 635 nm και είναι ανάλογη της συγκέντρωσης αμμωνίας στις ράγες.

Στην παρούσα εργασία για τον προσδιορισμό του αμμωνιακού αζώτου χρησιμοποιήθηκε μια τροποποίηση της μεθόδου Scheiner, η οποία περιγράφεται στη συνέχεια.

### Ρυθμιστικό διάλυμα

Για 100ml διαλύματος ζυγίζονται:

- 1.3 gr Φωσφορικό Νάτριο  $\text{NaPO}_4$
- 3 gr Τριβασικό Κιτρικό Νάτριο  $\text{NaC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- 0.3 gr EDTA

Διαλύονται σε 80ml απιονισμένου νερού. Ο όγκος συμπληρώνεται στα 100ml.

Φαινολικό διάλυμα καταλύτη: Για 100ml διαλύματος ζυγίζονται 6 gr φαινόλης και διαλύονται σε 80 ml ρυθμιστικού διαλύματος. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 20mg Sodium nitroprusside. Ο όγκος συμπληρώνεται με ρυθμιστικό διάλυμα. Το διάλυμα τοποθετείται σε σκούρο περιέκτη και μπορεί να αποθηκευτεί στο ψυγείο για περίπου 3 εβδομάδες.

Πρότυπο διάλυμα θειικού αμμωνίου 4 Mm:

Για 100ml πρότυπου διαλύματος ζυγίζονται 0.052 gr  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  και διαλύονται σε 80 ml νερού. Το διάλυμα μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη και συμπληρώνεται ο όγκος. Μπορεί να διατηρηθεί στο ψυγείο.

### Διαδικασία ανάλυσης

Σε δοκιμαστικούς σωλήνες προστίθενται με την παρακάτω σειρά 50 μL δείγματος οίνου, 2 mL νερού, 1 mL φαινολικού καταλύτη και 1,5 mL αλκαλικού διαλύματος υποχλωριώδους. Μετά από κάθε προσθήκη γίνεται επαρκής ανάδευση. Τα διαλύματα παραμένουν σε θερμοκρασία δωματίου για μία ώρα για τον σχηματισμό του χρωμοφόρου ινδοφαινόλης (μπλε χρώμα) και κατόπιν γίνεται η μέτρηση στα 635 nm. Οι απορροφήσεις μεταφράζονται σε mg αζώτου/L με χρήση πρότυπης καμπύλης, λαμβάνοντας υπόψη τις σχετικές αραιώσεις.

### Πρότυπη Καμπύλη

Από το πρότυπο διάλυμα του θειικού αμμωνίου 4 Mm δημιουργούνται οι παρακάτω αραιώσεις σε τελικό όγκο 1mL και ακολουθεί η διαδικασία της ανάλυσης. Από το θειικό αμμώνιο υπολογίζεται κατευθείαν η συγκέντρωση του αζώτου σε mgN/L).



**Πίνακας 1.** Μετρήσεις πρότυπης καμπύλης θειικού αμμωνίου 4 mM

Θειικό Αμμώνιο	Πρότυπο διάλυμα 4 mM (μL)	ddH <sub>2</sub> O (μL)	Αμμωνιακό άζωτο (mgN/L)
Μάρτυρας	0	1000	-
0,1	25	975	2,8
0,2	50	950	5,6
0,5	125	875	14
1	250	750	28
2	500	500	56

#### 2.15. Προσδιορισμός αζώτου βασικών αμινοξέων

Η μέθοδος προσδιορισμού των αφομοιώσιμων από τις ζύμες αμινοξέων (Dukes B. and Butzke C., 1998) βασίζεται στη δημιουργία παραγώγων των πρωτοταγών αμινομάδων με το o-phthaldialdehyde/N-acetyl-L-cysteine (OPA/NAC). Το αποτέλεσμα της αντίδρασης είναι ο σχηματισμός παραγώγων ισοϊνδολης, των οποίων η συγκέντρωση προσδιορίζεται φωτομετρικά στα 335 nm. Στην αντίδραση δεν λαμβάνει μέρος η προλίνη, η οποία είναι μη αφομοιώσιμη από της ζύμες. Σε δοκιμαστικούς σωλήνες προστίθενται 50 mL δείγματος οίνου και στη συνέχεια 3 mL διαλύματος OPA/NAC. Οι σωλήνες αφήνονται σε ηρεμία για 10 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και κατόπιν μετράται η απορρόφηση στα 335 nm. Οι μετρήσεις εκφράζονται σε mg αζώτου/L με χρήση πρότυπης καμπύλης.

#### Αντιδραστήρια

Διάλυμα OPA (o-phthaldialdehyde): Για 25ml διαλύματος ζυγίζονται 0,168 gr OPA και διαλύονται σε 20ml αιθανόλης 95%. Ο όγκος του διαλύματος συμπληρώνεται ως τα 25ml.

### Διάλυμα OPA-NAC

Για 250ml διαλύματος ζυγίζονται:

- 0,959 gr NaOH
- 2.117gr βορικό οξύ
- 0,204 gr NAC (N-acetyl-L-cysteine)

Τα παραπάνω διαλύονται σε 180ml απιονισμένου νερού. Στη συνέχεια, προστίθεται το διάλυμα OPA (25ml) και συμπληρώνεται ο όγκος με απιονισμένο νερό. Αποθηκεύεται στο ψυγείο για περίπου 3 εβδομάδες.

### Διάλυμα NAC για τον μάρτυρα

Για 250ml διαλύματος ζυγίζονται:

- 0,959 gr NaOH
- 2.117 gr βορικό οξύ
- 0,204 gr NAC (N-acetyl-L-cysteine)

Τα παραπάνω διαλύονται σε 160ml απιονισμένου νερού και ο όγκος συμπληρώνεται ως τα 250 ml.

### Πρότυπο διάλυμα ισολευκίνης:

Σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες προστίθενται με τη σειρά τα παρακάτω:

- 50 ml δείγματος ή πρότυπη συγκέντρωση (στην περίπτωση δείγματος έχει προηγηθεί φυγοκέντριση για 5 λεπτά)
- 3ml διάλυμα OPA-NAC

Στο μάρτυρα τοποθετείται το δείγμα και 3 ml διάλυμα NAC.

Οι δοκιμαστικοί σωλήνες αφήνονται σε ηρεμία για 10 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και κατόπιν μετριέται η απορρόφηση στα 335nm Οι μετρήσεις εκφράζονται σε mgN/L από την πρότυπη καμπύλη.

### Πρότυπη καμπύλη:

Από το πρότυπο διάλυμα ισολευκίνης 10Mm δημιουργούνται οι παρακάτω αραιώσεις σε τελικό όγκο 500μL και ακολουθεί η διαδικασία της ανάδευσης. Από την ισολευκίνη υπολογίζεται κατευθείαν η συγκέντρωση του αζώτου σε mgN/L.

**Πίνακας 2.** Μετρήσεις πρότυπης καμπύλης ισολευκίνης

Ισολευκίνη(Mm)	Πρότυπο διάλυμα 10 mM (μL)	DdH2O (μL)	Άζωτο βασικών αμινοξέων (mgN/L)
Μάρτυρας	0	500	-
2	100	400	28
4	200	300	56
6	300	200	84
8	400	100	112
10	500	0	140

#### 2.16. Οργανοληπτικός έλεγχος

Για την οργανοληπτική εξέταση του αρώματος πραγματοποιήθηκε περιγραφική δοκιμή από πάνελ 12 δοκιμαστών. Ο τρόπος εξέτασης χωρίστηκε σε δύο διαφορετικά είδη δοκιμών.

Στην πρώτη περίπτωση έγινε σύγκριση των δειγμάτων μεταξύ τους σε ζεύγη ως εξής:

- Μάρτυρας – Group400
- Μάρτυρας – Group800
- Group400– Group800

Πραγματοποιήθηκε οσφρητική και γευστική αξιολόγηση όπως παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα. Οι δοκιμαστές χρησιμοποίησαν τον αριθμό 1, όταν θεωρούσαν ότι το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό ήταν ίδιο για τα δύο δείγματα και τον αριθμό 2 όταν το χαρακτηριστικό ήταν διαφορετικό. Για κάθε ζεύγος έγιναν δύο ανεξάρτητες δοκιμές σε δύο κοντινές ημερομηνίες (22/11/2019 και 29/11/2019).

**Πίνακας 3.** Χαρακτηριστικά που αξιολογήθηκαν κατά τον οργανοληπτικό έλεγχο σε πάνελ 12 δοκιμαστών

---

Χρώμα
<b>Οσφρητική Αξιολόγηση</b>
Γενική Οσμή
Ένταση
Αρώματα Φρούτων
Αρώματα Βοτάνων
Αρώματα Ανθέων
<b>Γευστική Αξιολόγηση</b>
Οξύτητα
Σώμα
Φρούτα
Βότανα
Άνθη
Συνολική Εκτίμηση

---

Στη δεύτερη δοκιμή αξιολογήθηκε κάθε δείγμα ξεχωριστά. Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά που αξιολογήθηκαν για κάθε δείγμα μεμονωμένα και οι περιγραφικοί όροι που χρησιμοποιήθηκαν, με στόχο την καλύτερη περιγραφή των οίνων.

**Πίνακας 4.** Περιγραφικοί όροι που χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή των οίνων

	1	2	3	4	5
Χρώμα	Καφέ		Χρυσοκίτρινο		Κιτρινοπράσινο
Γενική Οσμή	Ελλατωματική		Αποδεκτή		Υγιής
Ένταση Αρώματος	Άτονο		Μέτριο		Έντονο
Κατηγορία Οσμής: Φρούτα	Λίγο		Μέτριο		Πολύ
Κατηγορία Οσμής: Βοτανικά	Λίγο		Μέτριο		Πολύ
Κατηγορία Οσμής: Ανθικά	Λίγο		Μέτριο		Πολύ
Οξύτητα	Επίπεδη		Μέτρια		Υψηλή
Σώμα	Υδαρές		Μέτριο		Γεμάτο
Συνολική Εκτίμηση	Απαράδεκτο		Μέτριο		Εξαιρετικό

#### 2.17. Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων

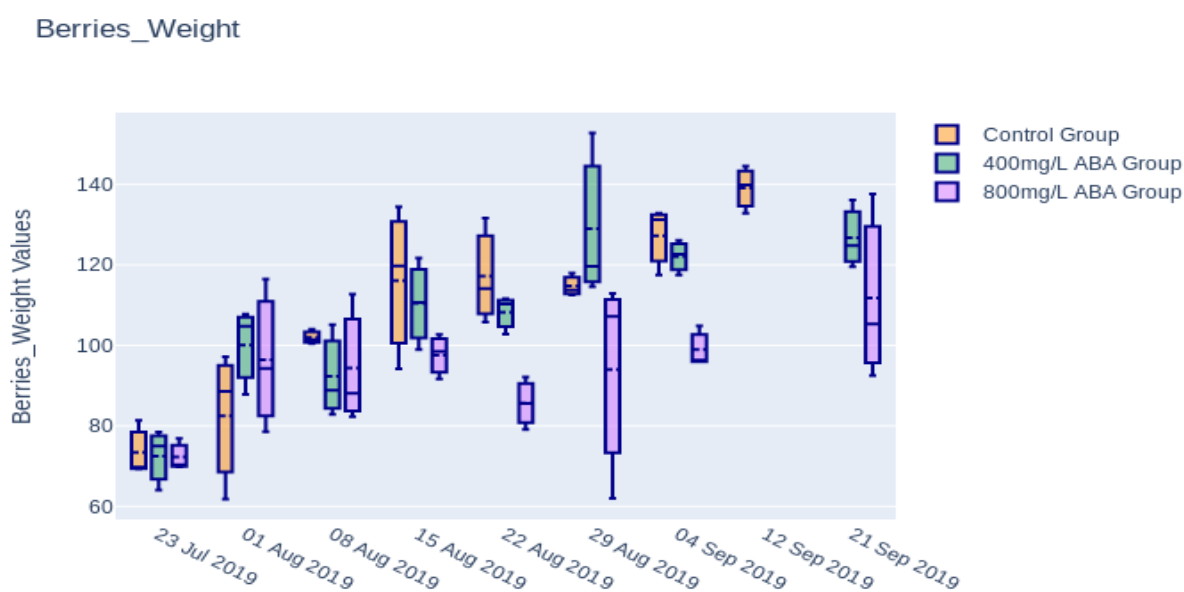
Το μεγαλύτερο μέρος της στατιστικής ανάλυσης των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση της γλώσσας προγραμματισμού Python. Στην ανάλυση των αποτελεσμάτων που αφορούσαν την αμαύρωση των οίνων και τον οργανοληπτικό έλεγχο χρησιμοποιήθηκε το Microsoft Excel

## 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 3.1. Αποτελέσματα πορείας ωρίμανσης ραγών

#### 3.1.1 Μέτρηση του βάρους των ραγών

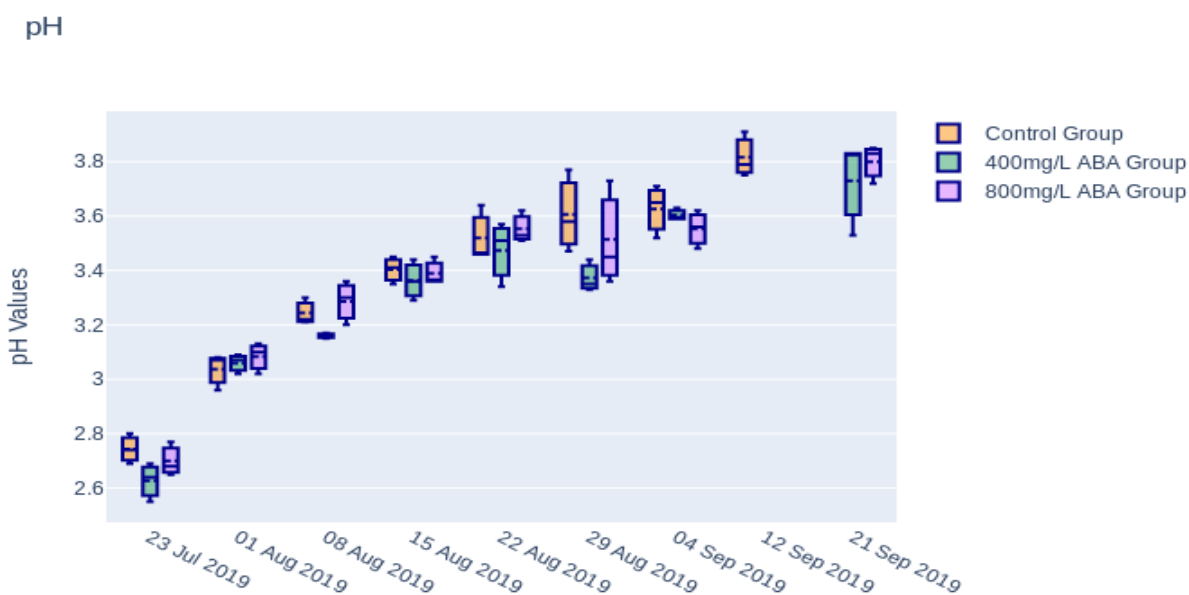
Η μεταβολή του βάρους των σταφυλιών σε συνάρτηση με την πορεία ωρίμανσης, ήταν ο πρώτος παράγοντας που μελετήθηκε για τα τρία διαφορετικά δείγματα, το μάρτυρα (Control) και αυτά που προέκυψαν από την προσθήκη 400 mg/L (Group400) και 800 mg/L (Group800) αμπισικού οξέος. Στο γράφημα που ακολουθεί συγκρίνονται τα αποτελέσματα που ελήφθησαν για κάθε περίπτωση. Όπως φαίνεται, καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης, η προσθήκη υψηλότερης συγκέντρωσης αμπισικού οξέος, 800 mg/L, οδήγησε σε μείωση του βάρους των σταφυλιών. Μείωση του βάρους των ραγών σε σχέση με το μάρτυρα παρατηρήθηκε και κατά την προσθήκη της ορμόνης σε χαμηλότερη συγκέντρωση, 400mg/l, σε μικρότερο όμως βαθμό, όπως ήταν αναμενόμενο. Η ανάλυση διακύμανσης σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$  έδειξε ωστόσο ότι οι διαφορές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.



**Γράφημα 1.** Μεταβολή του βάρους των ραγών με την προσθήκη του αμπισικού οξέος σε συγκεντρώσεις 400 mg/L και 800 mg/L

### 3.1.2. Μετρήσεις της ενεργού οξύτητας-pH

Στο γράφημα που ακολουθεί παρουσιάζεται η ενεργός οξύτητα σε συνάρτηση με την πορεία ωρίμανσης του οίνου όπου σημειώνονται οι μετρήσεις που ελήφθησαν τις αντίστοιχες ημερομηνίες τόσο για το μάρτυρα όσο και για τα δύο δείγματα με τις διαφορετικές συγκεντρώσεις αμπισικού οξέος. Όπως φαίνεται η τιμή του PH αυξανόταν σταδιακά με το πέρας της ωρίμανσης με τις μέγιστες τιμές για το δείγμα ΤΟΥ Group400 να σημειώνονται στις 21/09 ~3,7. Όσον αφορά το δείγμα του Group800, η μέγιστη τιμή σημειώθηκε επίσης την ίδια ημερομηνία και ήταν ~3,8. Παρόμοια εικόνα παρουσίασε και ο μάρτυρας ο οποίος εμφάνισε τη μέγιστη τιμή του Ph στις 12/9 ~3,81. Η ανάλυση διακύμανσης σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$  έδειξε ότι οι διαφορές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές για κάθε μία από τις ημερομηνίες που πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις.

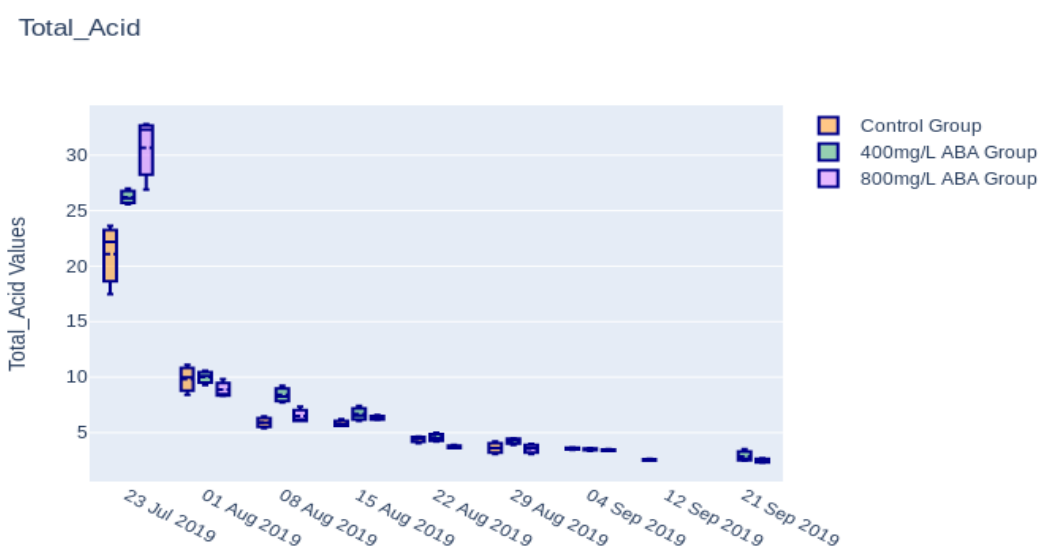


**Γράφημα 2.** Μετρήσεις της ενεργού οξύτητας-pH σε συνάρτηση με τον χρόνο ωρίμανσης

### 3.1.3. Μετρήσεις της ολικής οξύτητας

Το Γράφημα 3 παρουσιάζει τη μεταβολή της ολικής οξύτητας των δειγμάτων με τις δυο διαφορετικές συγκεντρώσεις αμπισικού οξέος σε συνάρτηση με την πορεία ωρίμανσης. Όπως φαίνεται, η τιμή μειώθηκε σημαντικά από τα πρώτα στάδια της

ωρίμανσης. Πιο συγκεκριμένα, κατά τις πρώτες μέρες ωρίμανσης, για το Group400, η τιμή από ~26,22 g τρυγικού οξέος/L έφτασε στο ~10 g/L, ενώ η μικρότερη τιμή στο τέλος της ωρίμανσης ήταν ~2,9 g/L. Για το δείγμα του Group800 από αρχική τιμή ~30,67 g τρυγικού οξέος/L τις πρώτες μέρες της ωρίμανσης μειώθηκε στο ~8,87 g/L, ενώ η μικρότερη τιμή στο τέλος της ωρίμανσης ήταν ~2,5 g/L. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι οι υπερβολικά χαμηλές οξύτητες που εμφανίζονται προς το τέλος της ωρίμανσης πιθανόν να οφείλονται στη φύλαξη των σταφυλιών σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες με αποτέλεσμα να καταβυθίζονται τα οξέα των σταφυλιών. Από την στατιστική επεξεργασία των τιμών που ελήφθησαν για τις διαφορετικές ημερομηνίες προέκυψε ότι η επίδραση του αμπισιικού οξέος δεν είναι στατιστικά σημαντική.



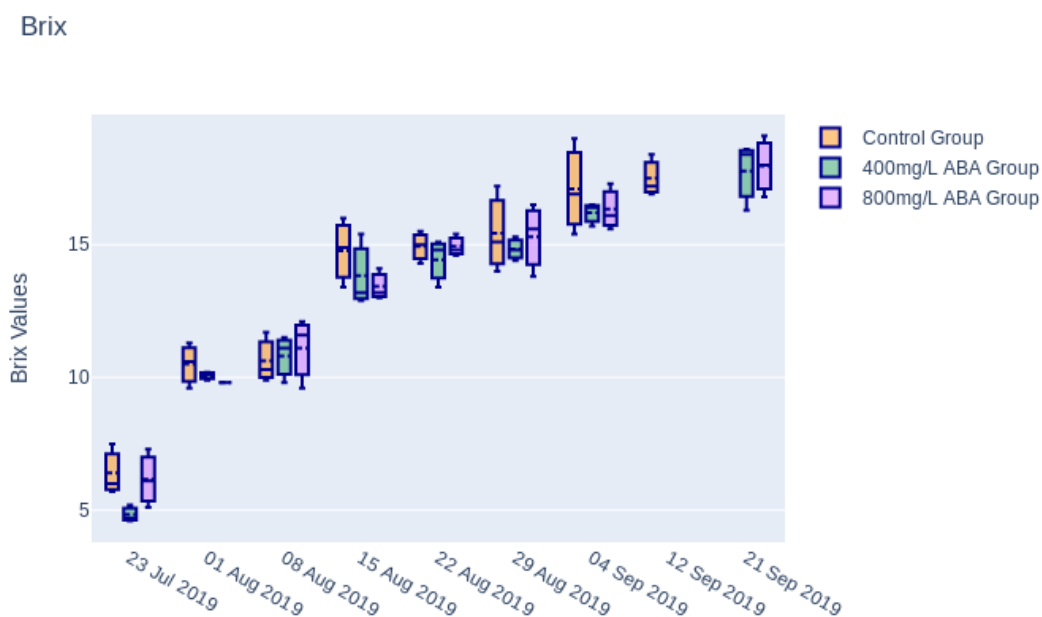
**Γράφημα 3.** Μετρήσεις της ολικής οξύτητας σε συνάρτηση με τον χρόνο ωρίμανσης

#### 3.1.4. Μετρήσεις της περιεκτικότητας των σακχάρων σε βαθμούς Brix

Στη συνέχεια της μελέτης, προσδιορίστηκε η περιεκτικότητα των δειγμάτων των διαφορετικών οίνων σε σάκχαρα σε βαθμούς Brix και τα συγκριτικά αποτελέσματα για τον μάρτυρα και τις δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις αμπισιικού οξέος παρουσιάζονται στο Γράφημα 5.4.. Όπως φαίνεται, η προσθήκη αμπισιικού οξέος είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση των τιμών σε σχέση με το μάρτυρα. Από την



στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων ωστόσο φαίνεται ότι οι διαφορές μεταξύ των δειγμάτων δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

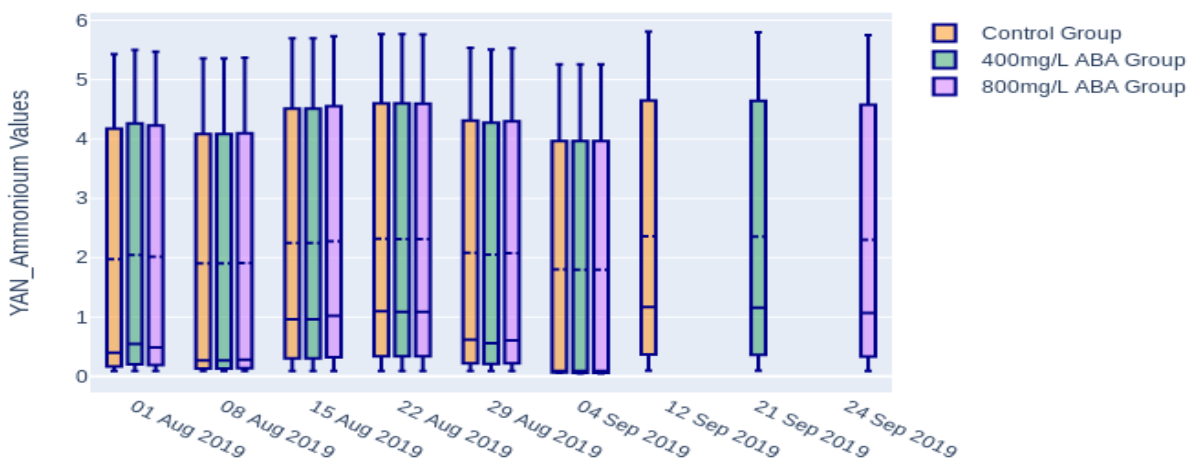


**Γράφημα 4.** Μετρήσεις της περιεκτικότητας των σακχάρων σε συνάρτηση με τον χρόνο ωρίμανσης

### 3.1.5. Αποτελέσματα προσδιορισμού του αφομοιώσιμου αζώτου (YAN)

Το αφομοιώσιμο άζωτο των σταφυλιών (YAN) προσδιορίζεται με τον ανεξάρτητο προσδιορισμό της αμμωνίας και του αμμωνιακού αζώτου. Τα αποτελέσματα από τον προσδιορισμό του αμμωνιακού αζώτου για τα τρία διαφορετικά δείγματα, όπως προέκυψαν από την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, παρουσιάζονται στο παρακάτω γράφημα. Οι διαφορές που προέκυψαν στις μετρήσεις για τις διαφορετικές ημερομηνίες δεν φαίνεται να είναι στατιστικά σημαντικές.

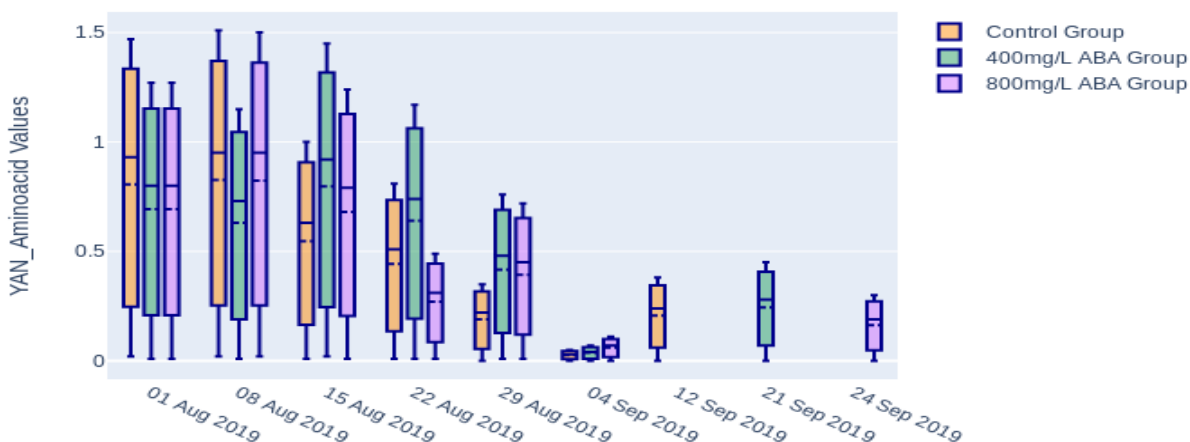
YAN\_Ammonium



**Γράφημα 5.** Προσδιορισμός του αμμωνιακού αζώτου σε συνάρτηση με τον χρόνο ωρίμανσης

Όσον αφορά τον προσδιορισμό του αζώτου των βασικών αμινοξέων για τα τρία διαφορετικά δείγματα οίνου, αυτά παρουσιάζονται στο Γράφημα 6., έπειτα από την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Όπως και στην προηγούμενη περίπτωση, η επίδραση του αμπισικού οξέος δεν ήταν στατιστικά σημαντική μεταξύ των δειγμάτων για τις διαφορετικές ημερομηνίες.

YAN\_Aminoacid



**Γράφημα 6.** Προσδιορισμός του αζώτου των βασικών αμινοξέων σε συνάρτηση με τον χρόνο ωρίμανσης

### 3.2. Αποτελέσματα κλασικών αναλύσεων στους οίνους

Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται οι μετρήσεις που λήφθηκαν και αφορούν τους οίνους που προέκυψαν από τις τρεις διαφορετικές εφαρμογές (μάρτυρας, Group400, Group800 αμπισιτικού οξέος). Αξίζει να αναφερθεί ότι για την κάθε διαφορετική εφαρμογή λήφθηκαν τρεις μετρήσεις και στη συνέχεια καταγράφηκε ο μέσος όρος προκειμένου να οδηγηθούμε σε ασφαλέστερα συμπεράσματα. Οι παρακάτω αναλύσεις αποτελούν την ομάδα των κλασικών αναλύσεων των οίνων και τα αποτελέσματα αυτών καθορίζουν τα τελικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος αλλά και την ικανότητα του κάθε οίνου να αντέχει στο χρόνο.

**Πίνακας 5.** Αποτελέσματα κλασικών αναλύσεων στον οίνο

<b>Ανάλυση</b>	<b>Control</b>	<b>400 mg/L</b>	<b>800 mg/L</b>
ρΗ	3,36	3,36	3,45
Ολική οξύτητα*	4,29	4,58	4,22
Πτητική οξύτητα	0,16	0,13	0,19
V.V %	12,8	12,1	12,5
Ανάγοντα σάκχαρα	1,06	0,97	0,87
Απορρόφηση A420	0,123	0,141	0,180
Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (Δ.Φ.Ο.)	4,3	6,3	5,4
Follin**	1423	229	163

\* gr τρυγικού οξέος /L

\*\*mg γαλλικού οξέος/L

### 3.2.1. pH Οίνων

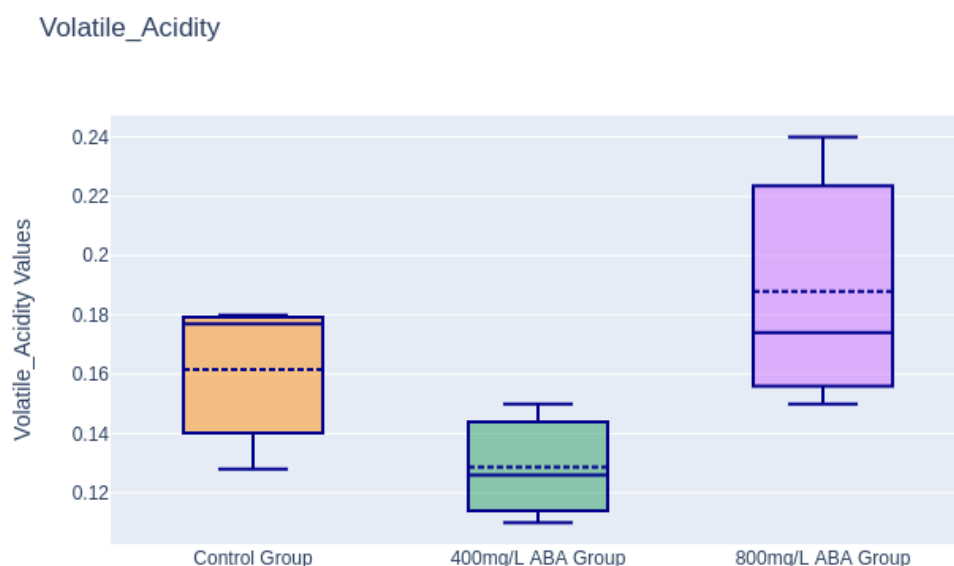
Όπως φαίνεται και στον πίνακα το υψηλότερο pH ~3.45 εμφάνισε το δείγμα στο οποίο είχε γίνει εφαρμογή 800mg ABA. Ενώ ο μάρτυρας και το δείγμα με εφαρμογή 400mg ABA εμφάνισαν το ίδιο pH=3.36. Ύστερα από ανάλυση των δειγμάτων δεν εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

### 3.2.2. Ολική Οξύτητα

Σχετικά με την ογκομετρούμενη /ολική οξύτητα μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι την υψηλότερη οξύτητα εμφάνισε το δείγμα του Group400 ενώ η μικρότερη τιμή εμφανίστηκε στο δείγμα του Group800. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι οι διαφορές που παρουσιάστηκαν μεταξύ των δειγμάτων δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

### 3.2.3. Πτητική οξύτητα

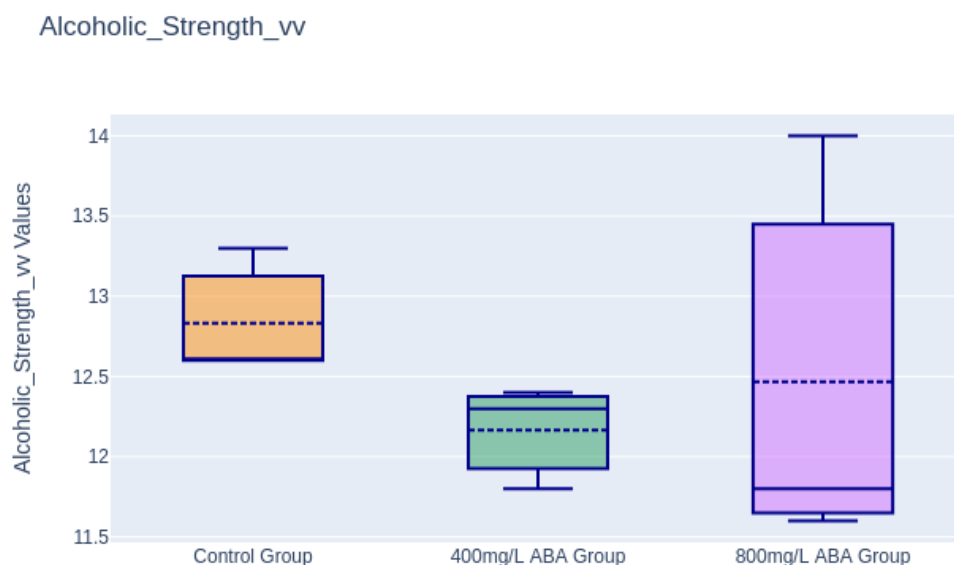
Την μεγαλύτερη πτητική οξύτητα εμφάνισε το δείγμα του Group800 ενώ τη μικρότερη εμφάνισε το δείγμα με τα 400mg ABA. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.



**Γράφημα 7.** Προσδιορισμός της πτητικής οξύτητας για τις συγκεντρώσεις 400 mg/L και 800 mg/L

### 3.2.4. Αλκοολικός τίτλος

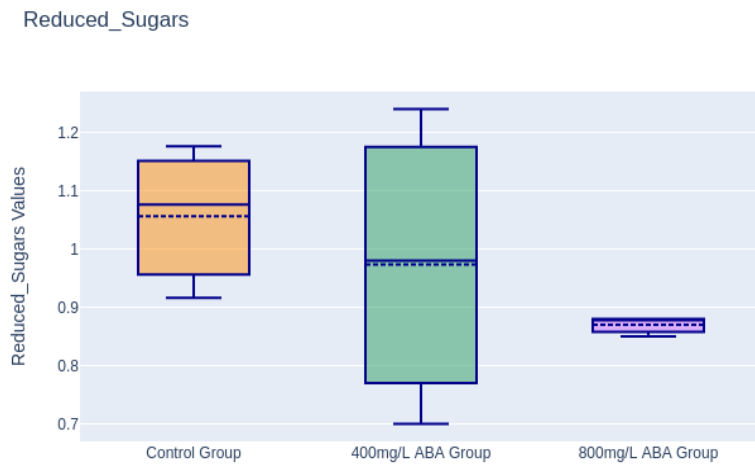
Καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν εμφάνισαν τα δείγματα ως προς την πτητική οξύτητα σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05. Παρ όλα αυτά, τη μεγαλύτερη τιμή εμφάνισε ο μάρτυρας με το αλκοόλ v/v να φτάνει το ~12.8 ενώ ο οίνος του Group800 ακολουθήσε με ~12.5. Τέλος, ο οίνος του Group400 είχε την μικρότερη περιεκτικότητα σε αλκοόλ.



**Γράφημα 8.** Προσδιορισμός του αλκοολικού τίτλου για τις συγκεντρώσεις 400 mg/L και 800 mg/L

### 3.2.5. Ανάγοντα Σάκχαρα

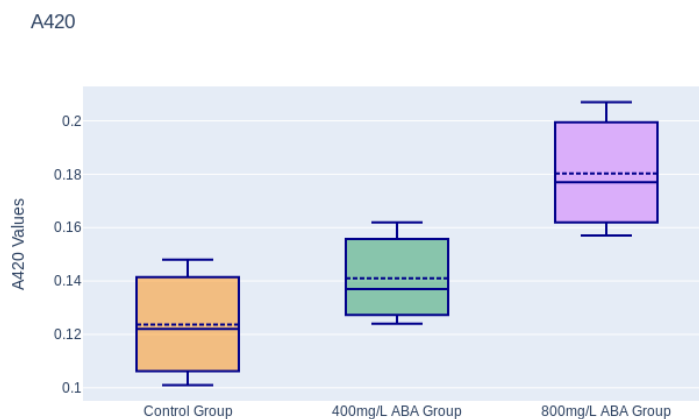
Όσον αφορά τα ανάγοντα σάκχαρα εμφανίστηκε πτωτική τάση με τον μάρτυρα να εμφανίζει την μεγαλύτερη ποσότητα σακχάρων, ενώ τη μικρότερη να εμφανίζεται στο δείγμα του Group800. Παρ όλα αυτά, στον πίνακα ANOVA φαίνεται ότι p-value > 0.05, οπότε η ανάλυση διακύμανσης δεν βρίσκει στατιστικά σημαντικές διαφορές, σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05



**Γράφημα 9.** Προσδιορισμός των αναγόντων σακχάρων για τις συγκεντρώσεις 400 mg/L και 800 mg/L

### 3.2.6. Απορρόφηση A420

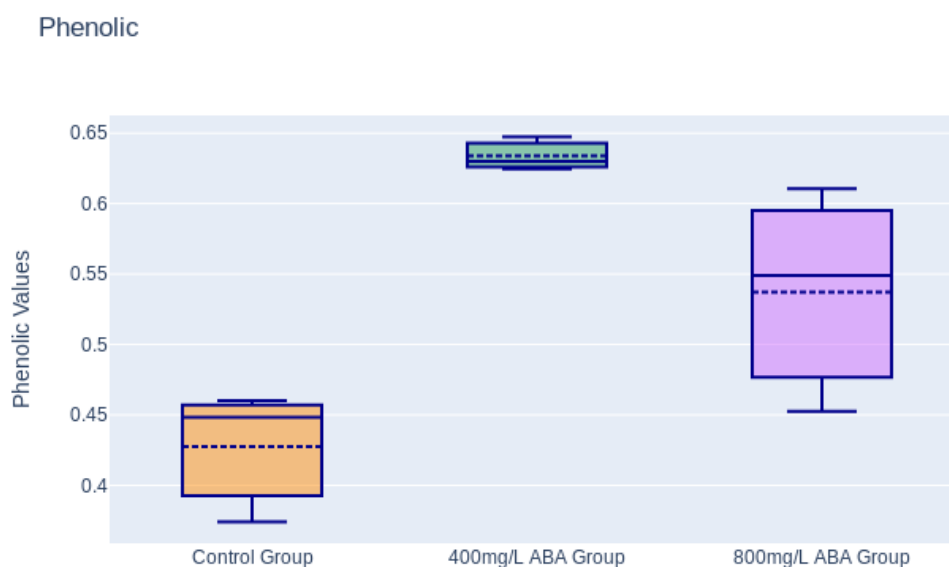
Στο παρακάτω συγκριτικό γράφημα (Γράφημα 10) παρουσιάζεται η απορρόφηση για τα τρία διαφορετικά δείγματα στα 420 nm. Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν στον πίνακα ANOVA φαίνεται ότι  $p\text{-value} > 0,05$ . Συγκεκριμένα, η τιμή που προέκυψε ήταν 0,05556 οπότε η ανάλυση διακύμανσης δεν βρήκε στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05 για τα τρία διαφορετικά δείγματα.



**Γράφημα 10.** Μεταβολή της απορρόφησης των τριών δειγμάτων με την προσθήκη του αμπισικού οξέος σε συγκεντρώσεις 400 mg/L και 800 mg/L στα 420 nm

### 3.2.7. Δείκτης Φαινολικών Ουσιών (ΔΦΟ)

Στο γράφημα που ακολουθεί (Γράφημα 11) παρουσιάζεται η μεταβολή του Δείκτη φαινολικών ουσιών με την προσθήκη του αμπισσικού οξέος. Αν και στις δυο περιπτώσεις η τιμή του αυξήθηκε, όταν προστέθηκαν 400 mg/L, ο δείκτης παρουσίασε την υψηλότερη τιμή.



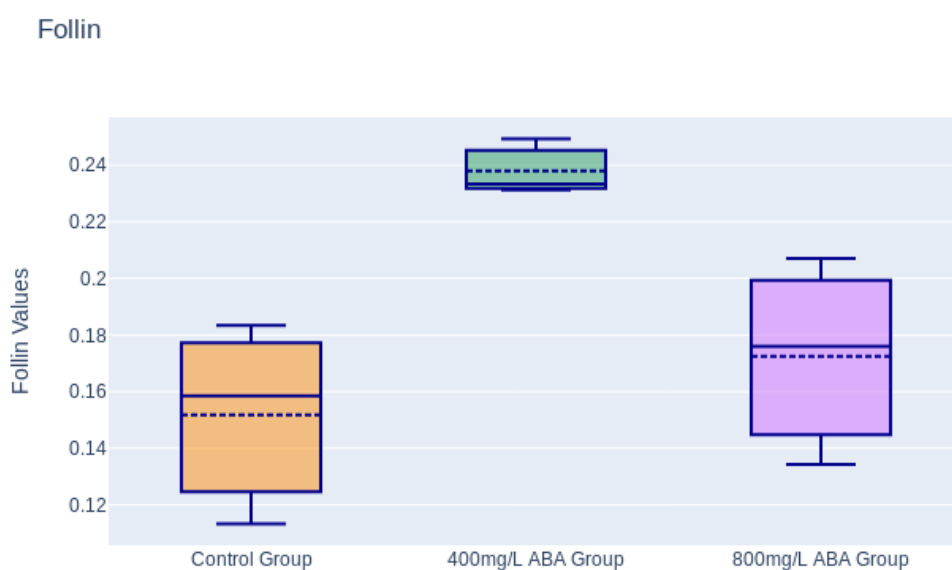
**Γράφημα 11.** Μεταβολή του Δείκτη Φαινολικών Ουσιών με την προσθήκη του αμπισσικού οξέος σε συγκεντρώσεις 400 mg/L και 800 mg/L

Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν στον πίνακα ANOVA φαίνεται ότι  $p\text{-value}=0,009642$ , δηλαδή  $<0,05$ , οπότε η ανάλυση διακύμανσης έδωσε στατιστικά σημαντικές διαφορές και γι' αυτό ακολούθησε έλεγχος Tukey για τους μέσους των ομάδων άνα δύο. Η μέθοδος Tukey εντόπισε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων Group400 και GroupC σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05. Επιπλέον, στατιστικά σημαντικές διαφορές εντοπίστηκαν και μεταξύ των ομάδων Group800 και GroupC σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05.

### 3.2.8. Follin-Ciucalto

Στο γράφημα που ακολουθεί (Γράφημα 12) παρουσιάζεται η μεταβολή της συγκέντρωσης των φαινολικών ουσιών με την προσθήκη του αμπισσικού οξέος σε συγκεντρώσεις 400mg/L και 800mg/L σύμφωνα με τη μέθοδο Follin. Από τα

αποτελέσματα που προέκυψαν στον πίνακα ANOVA φαίνεται ότι  $p\text{-value}=0,028976$ , δηλαδή  $<0,05$ , οπότε η ανάλυση διακύμανσης έδωσε στατιστικά σημαντικές διαφορές και γι' αυτό ακολούθησε έλεγχος Tukey για τους μέσους των ομάδων άνα δύο. Η μέθοδος Tukey εντόπισε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων Group400 και Group800 σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05. Επίσης, η μέθοδος Tukey εντόπισε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων Group400 και Control σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05.



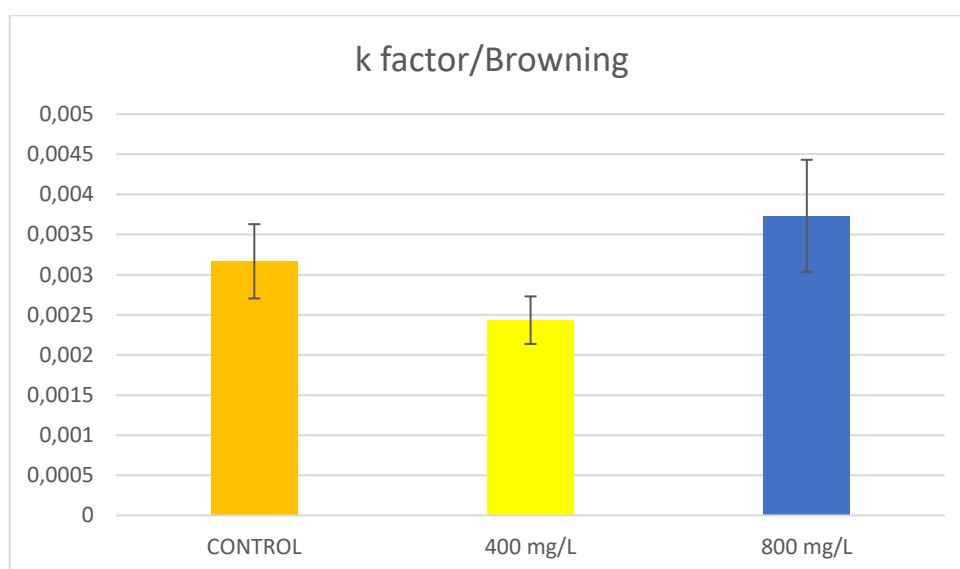
**Γράφημα 12.** Μεταβολή της συγκέντρωσης των Φαινολικών Ουσιών με την προσθήκη του αμπισικού οξέος σε συγκεντρώσεις 400 mg/L και 800 mg/L σύμφωνα με τη μέθοδο Follin

### 3.2.9. Αμαύρωση

Στη συνέχεια της πειραματικής διαδικασίας, μελετήθηκε η επίδραση της προσθήκης ABA σε δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις στην ανάπτυξη αμαύρωσης στο κρασί. Για το σκοπό αυτό, για κάθε δείγμα (Control, Group400, Group800 ) ελήφθησαν μετρήσεις σε τακτά χρονικά διαστήματα, όπως παρουσιάζονται στα γραφήματα που ακολουθούν. Για κάθε περίπτωση, χρησιμοποιήθηκαν τρία διαφορετικά μπουκάλια για τις μετρήσεις. Στο γράφημα που ακολουθεί συγκρίνονται τα αποτελέσματα για τα τρία διαφορετικά δείγματα και όπως προκύπτει με τη προσθήκη του αμπισικού

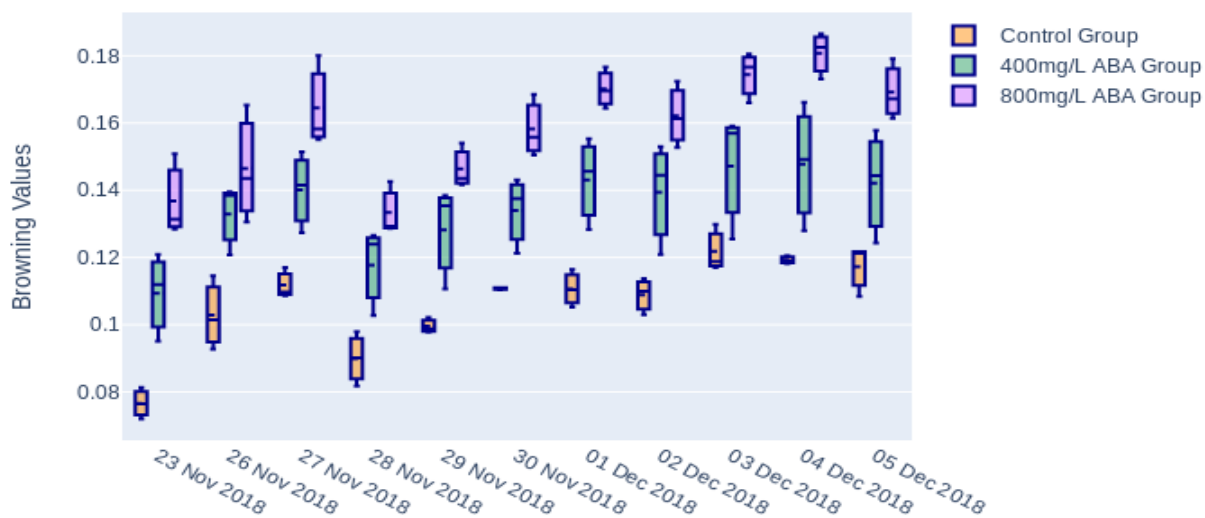


οξέος, η απορρόφηση αυξήθηκε. Σύμφωνα με την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων υπήρξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών ομάδων. Πιο συγκεκριμένα, όπως προέκυψε από τα P-values του ελέγχου Tukey σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$  εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων Control και Group 400, μεταξύ των ομάδων Control και Group 800 αλλά και μεταξύ των ομάδων Group 400 και Group 800. Ο συντελεστής k δείχνει το ρυθμό μεταβολής του χρώματος του κάθε οίνου σε σχέση με το χρόνο. Όσο μικροτερος είναι αυτός ο συντελεστής τόσο πιο αργά θα εμφανίσει αλλαγή στο χρώμα του ο οίνος, η οποία θα οφείλεται σε οξείδωση.



**Γράφημα 13.** Μεταβολή της συγκέντρωσης των Φαινολικών Ουσιών με την προσθήκη του αμπισιικού οξέος σε συγκεντρώσεις 400 mg/L και 800 mg/L σύμφωνα με τη μέθοδο Follin

## Browning



**Γράφημα 14.** Σύγκριση της ανάπτυξης αμαύρωσης στον οίνο σε συνάρτηση με τον χρόνο για τα τρία διαφορετικά δείγματα

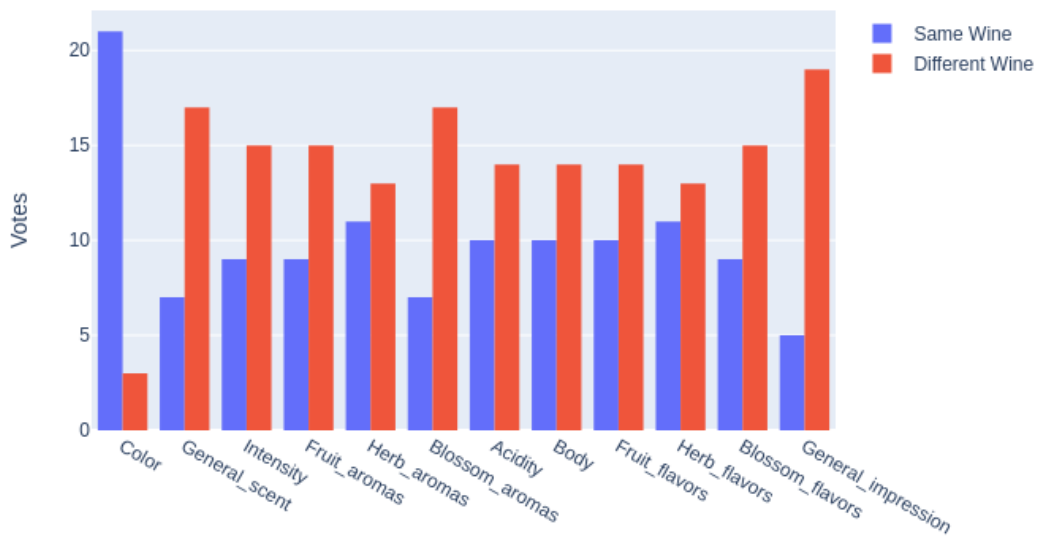
### 3.2.10. Προσδιορισμός οργανικών οξέων στον οίνο με τη μέθοδο HPLC

Στη συνέχεια της πειραματικής διαδικασίας, μελετήθηκε η σύσταση του οίνου σε οργανικά οξέα. Πιο συγκεκριμένα, εντοπίστηκαν τα εξής οργανικά οξέα: τρυγικό στην υψηλότερη συγκέντρωση ενώ σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις εντοπίστηκαν το ηλεκτρικό, το μηλικό και το οξικό οξύ. Να σημειωθεί ότι λόγω σημαντικών σφαλμάτων που παρουσίασε το αναλυτικό όργανο κατά τη διάρκεια των μετρήσεων που έλαβαν χώρα, δεν στάθηκε εφικτό να πραγματοποιηθεί ποσοτική ανάλυση των αποτελεσμάτων.

### 3.2.11. Οργανοληπτικός έλεγχος

Στο Γράφημα 15. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της σύγκρισης του μάρτυρα (Control) με τους οίνους του Group 400. Όπως προέκυψε από τη στατιστική ανάλυση, υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις ότι τα δύο δείγματα είναι διαφορετικά ως προς τη γενική οσμή, τα αρώματα ανθέων και τη συνολική εκτίμηση.

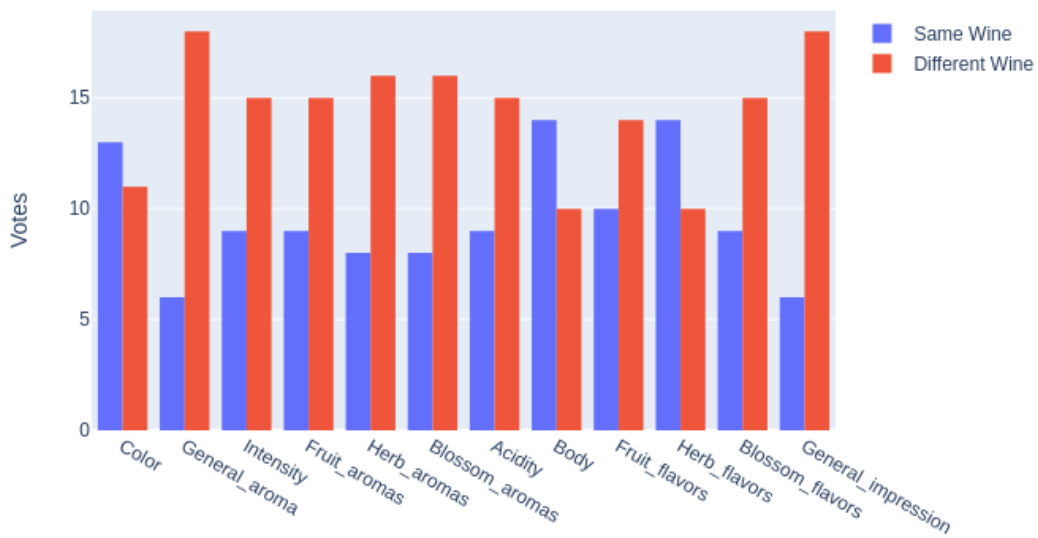
### Sensory Comparison: Control Vs 400mg/L ABA Wine



**Γράφημα 15.** Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου με τη συμμετοχή των 12 δοκιμαστών, όταν συγκρίθηκαν τα δείγματα του μάρτυρα και του οίνου με 400 mg/L αμπισικού οξέος

Στη συνέχεια, ακολούθησε η σύγκριση του μάρτυρα (Control) και του οίνου του Group 800 και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο γράφημα που ακολουθεί. Όπως προέκυψε από τη στατιστική ανάλυση, υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις ότι τα δύο δείγματα είναι διαφορετικά ως προς τη γενική οσμή, τα αρώματα βοτάνων και ανθέων και τη συνολική εκτίμηση.

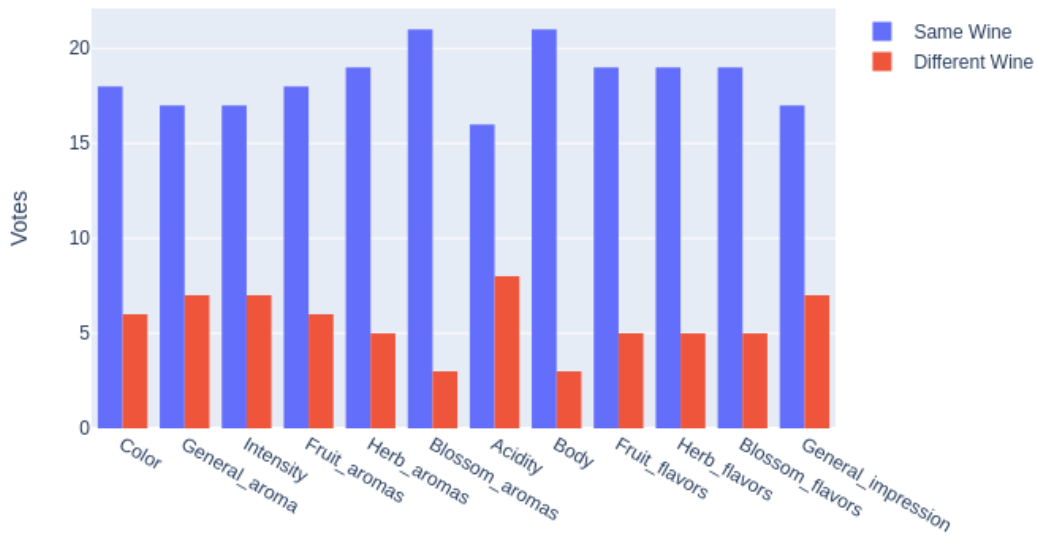
### Sensory Comparison: Control Vs 800mg/L ABA Wine



**Γράφημα 16.** Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου με τη συμμετοχή των 12 δοκιμαστών, όταν συγκρίθηκαν τα δείγματα του μάρτυρα και του οίνου με 800 mg/L αμπισικού οξέος

Τέλος, πραγματοποιήθηκε σύγκριση του οίνου του Group 400 και αυτού του Group 800. Όπως παρουσιάζεται στο Γράφημα 17. και σύμφωνα με τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, τα δύο δείγματα παρουσίασαν σημαντική στατιστική ομοιότητα για όλα τα χαρακτηριστικά που αξιολογήθηκαν.

### Sensory Comparison: 400mg/L ABA Vs 800mg/L ABA Wine



**Γράφημα 17.** Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου με τη συμμετοχή των 12 δοκιμαστών, όταν συγκρίθηκαν τα δείγματα και του οίνου με 400 mg/L και του οίνου με τα 800 mg/L αμπισικού οξέος

Στο δεύτερο στάδιο, αξιολογήθηκε κάθε δείγμα ξεχωριστά για τα διαφορετικά χαρακτηριστικά του που αφορούσαν το χρώμα, το άρωμα, τη γεύση και το σώμα. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν παρουσιάζονται στο Γράφημα 18.



**Γράφημα 18.** Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου με τη συμμετοχή των 12 δοκιμαστών, κατά την αξιολόγηση κάθε δείγματος ξεχωριστά

## 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Η παρούσα εργασία ασχολήθηκε με την διερεύνηση της επίδρασης της φυτοορμόνης ABA σε φυτά αμπέλου της ποικιλίας Σαββατιανό τα οποία βρίσκονταν στην Άσκη Βοιωτίας. Για το σκοπό αυτό εφαρμόστηκαν σε επιλεγμένες σειρές του αμπελώνα δυο διαφορετικές συγκεντρώσεις 400-800mg της ουσίας ενώ σε άλλες σειρές δεν έγινε εφαρμογή φυτοορμόνης και χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρας.

Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα, όσον αφορά την εξέλιξη του βάρους των ραγών ως προς την πορεία ωρίμανσης, φαίνεται να μην επηρεάζεται σημαντικά από τη χρήση της φυτοορμόνης ABA. Παρ' όλα αυτά εμφανίστηκε μια τάση μείωσης του βάρους όταν χρησιμοποιήθηκε η μεγαλύτερη ποσότητα της φυτορυθμιστικής ουσίας. Το αποτέλεσμα αυτό φαίνεται να συμφωνεί με τους Lurie et al 2010, Shulman, et al 1985 Cantin et al 2007, Roberto et al, 2012 Raquel González et al 2017, οι οποίοι διατύπωσαν ότι η εφαρμογή ABA στην αρχή της ωρίμανσης δεν επηρεάζει ούτε την απόδοση το πρέμνων ούτε το μέγεθος των σταφυλιών. Οι Andrea M, Quiroga et al 2008 διαπίστωσαν αύξηση της παραγωγής πρέμνων της ποικιλίας Cabernet Sauvignon στα οποία είχε γίνει εφαρμογή ABA, με ταυτόχρονη μείωση του μέσου βάρους των ραγών. Η αύξηση της απόδοσης εικάζεται ότι οφείλεται στην καλύτερη καρπόδεση που παρουσίασαν τα πρέμνα στα οποία είχε γίνει εφαρμογή της φυτοορμόνης. Επιπλέον, ετούτη η εργασία εν μέρει συμφωνεί και με τους Gabriel Balint et al 2012, οι οποίοι παρατήρησαν σημαντική μείωση στο βάρος των ραγών ποικιλίας Cabernet Sauvignon στις οποίες είχε εφαρμοστεί εξωγενώς ABA σε συγκέντρωση 150mg/L 300mg/L σε σχέση με το μάρτυρα.

Όσον αφορά την ενεργό οξύτητα σε συνάρτηση με την πορεία ωρίμανσης των σταφυλιών, παρατηρήθηκε μέγιστη τιμή του pH να εμφανίζει το γλεύκος το οποίο προέκυψε από το μάρτυρα. Παρ' όλα αυτά το pH των γλευκών φαίνεται να μην επηρεάζεται σημαντικά από την εφαρμογή ή μη της συγκεκριμένης φυτοορμόνης. Θα πρέπει να παρατηρήσουμε ότι, ακόμα και αν ληφθεί υπόψη ότι στους υγιείς λευκούς οίνους το pH που προκύπτει ύστερα από το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης

είναι μικρότερο από το pH του γλεύκους από το οποίο προήλθαν, και στις τρεις πειραματικές περιπτώσεις οι τιμές του pH εμφανίζονται σχετικά υψηλότερες από αυτές που θεωρείται ότι θα πρέπει να έχει ένας λευκός ξηρός οίνος προκειμένου να διατηρεί την φρεσκάδα του και να είναι ανθεκτικός σε βακτηριακής και ενζυμικής φύσεως οξειδώσεις. Όσον αφορά το δείγμα με συγκέντρωση 800 mg/L ABA η μέγιστη τιμή ήταν ~3,8. Μέγιστη τιμή για το δείγμα με συγκέντρωση 400 mg/L είναι η ~3,7. Παρόμοια εικόνα παρουσίασε και ο μάρτυρας ο οποίος εμφάνισε μέγιστη τιμή του Ph ~3,81. Αντίστοιχα καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν εμφανίστηκε ούτε και στην πορεία εξέλιξης της ολικής οξύτητα των δειγμάτων. Η ολική οξύτητα των οίνων εμφάνισε καμπύλες φυσιολογικές για την πορεία ωρίμανσης. Η μικρότερη τιμή εμφανίστηκε στην εφαρμογή 800mg ~2.45 ενώ αντίστοιχα χαμηλές τιμές εμφάνισαν τόσο ο μάρτυρας όσο και η εφαρμογή 400mg ~2.87 και ~2,84 αντίστοιχα. Αυτές οι τιμές θεωρούνται εξαιρετικά χαμηλές τιμές για λευκό οίνο. Πιθανόν και στις δυο περιπτώσεις τα μη αποδεκτά αποτελέσματα να οφείλονται στην ψύξη των δειγμάτων σε μη κατάλληλες θερμοκρασίες. Όπως έχει διατυπωθεί, η καταβύθιση των αλάτων του όξινου τρυγικού καλίου εξαρτάται μεταξύ άλλων και από τη θερμοκρασία. Η αποθήκευση των ραγών σε κοινό καταψύκτη (-18-20°) είναι πιθανό να επιτάχυνε την καταβύθιση των αλάτων του όξινου τρυγικού καλίου με συνεπακόλουθη μείωση της ολικής οξύτητας και αύξηση, του Ph. Στη βιβλιογραφία προτείνεται η ψύξη των δειγμάτων σε ψυκτικούς θαλάμους με θερμοκρασίες -80° βαθμών παρ' όλα αυτά το εργαστήριο στο οποίο διεξήχθη το πείραμα δεν διέθετε τέτοιο εξοπλισμό. Σε αυτή την υπόθεση συνηγορεί και το ότι η ολική οξύτητα και τα επίπεδα του Ph των παραγόμενων οίνων, για την οποία γίνεται λόγος στη συνέχεια της εργασίας, κινήθηκαν σε φυσιολογικά επίπεδα μιας και σε αυτή την περίπτωση τα σταφύλια οινοποιήθηκαν αμέσως μετά την παραλαβή τους χωρίς να εκτεθούν σε χαμηλές θερμοκρασίες. Τα παραπάνω αποτελέσματα συμφωνούν με την πλειοψηφία των αποτελεσμάτων της βιβλιογραφίας (Cantin et al., 2007; Delgado et al., 2004). Ωστόσο, έρχονται σε αντίθεση με τους Omran, 2011, Peppi et al 2007, Reynolds et al 2016, Yamamoto et al 2015), οι οποίοι διατύπωσαν ότι η εφαρμογή ABA τείνει να προκαλεί μείωση της ενεργού οξύτητας και αύξηση του Ph του μούστου σε ποικιλίες επιτραπέζιων σταφυλιών .



Η περιεκτικότητα των σακχάρων φαίνεται να μην επηρεάζεται σημαντικά από την εφαρμογή της φυτοορμόνης. Παρ' όλα αυτά, μπορούμε να λάβουμε υπόψιν ότι παρατηρείται μια μείωση των σακχάρων στα σταφύλια στα οποία έχει εφαρμοστεί ABA. Το αποτέλεσμα αυτό έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα παρόμοιας έρευνας των Gabriel Balint et al 2012, οι οποίοι διαπίστωσαν αύξηση της ποσότητας των σακχάρων σε φυτά αμπέλου στα οποία είχε εφαρμοστεί ABA σε διαφορετικές συγκεντρώσεις σε σχέση με τον μάρτυρα.

Η εφαρμογή της φυτοορμόνης δεν φαίνεται να επηρεάζει το ποσοστό του αζώτου των βασικών αμινοξέων που βρίσκεται στα σταφύλια.

Όσον αφορά τους οίνους, σε σχέση με την εφαρμογή ή όχι της φυτοορμόνης, φαίνεται ότι το pH δεν επηρεάζεται σημαντικά. Παρ' όλα αυτά, η μικρότερη τιμή εμφανίζεται στον οίνο με του Group 800. Αντίστοιχα, ο ίδιος οίνος εμφάνισε και τη μικρότερη τιμή όσον αφορά την ολική οξύτητα και σε αυτή την περίπτωση όμως η εφαρμογή με ABA φαίνεται να μην επηρεάζει σημαντικά. Η διατύπωση αυτή φαίνεται να ταυτίζεται με τα αποτελέσματα των Raguei Gonzales et al 2014, A. S. Gonzales 2012, ενώ έρχεται σε αντίθεση με τους Luan et al 2014, οι οποίοι ισχυρίζονται ότι η εφαρμογή εξωγενώς ABA σε σταφύλια των ποικιλιών Cabernet Sauvignon και Yan 73 μειώνει την ολική οξύτητα και το pH σε σχέση με το μάρτυρα.

Απ' την άλλη μεριά, ο ίδιος οίνος με του Group 800 εμφάνισε τη μεγαλύτερη πτητική οξύτητα 0,188, ενώ η μικρότερη πτητική οξύτητα εμφανίστηκε στον οίνο με του Group 400. Και στις τρεις περιπτώσεις, τα όρια ήταν κατωτέρα από αυτά που έχει θεσπίσει ο OIV. Η διαφορά τους δεν κρίθηκε στατιστικά σημαντική. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με αυτά των Luan et al 2013, A. S. Gonzales 2012, οι οποίοι δεν παρατήρησαν διαφορά στην πτητική οξύτητα οίνων στους οποίους είχε γίνει χειρισμός με ABA σε σχέση με τον μάρτυρα.

Όσον αφορά την περιεκτικότητα σε αλκοόλ των παραγόμενων οίνων, αυτοί του Group 400 εμφάνισαν τη μικρότερη τιμή ~12,1 ενώ ακολουθήσε αυτοί με του Group

800 με τιμή  $\sim 12.5$  και τέλος ο οίνος-μάρτυρας  $\sim 12,8$ . Και σε αυτή την περίπτωση η διαφορά τους δεν κρίθηκε στατιστικά σημαντική. Το αποτέλεσμα αυτό έρχεται σε αντίθεση με τους Raquel Gonzales et al 2017, οι οποίοι διατύπωσαν ότι η εφαρμογή ABA σε σταφύλια της ποικιλίας Verdejo αύξησε τον αλκοολικό τίτλο των παραγόμενων οίνων σε σχέση με φυτά-μάρτυρα στα οποία δεν είχε γίνει εφαρμογή της φυτοορμόνης

Τα λιγότερα υπολειπόμενα σάκχαρα στους οίνους εμφανίστηκαν σε αυτούς που προήλθαν από το Group 800  $\sim 0,87$ , ενώ τα περισσότερα εμφανίστηκαν στον οίνο μάρτυρα  $\sim 1,05$ . Και στις τρεις περιπτώσεις, οι οίνοι θεωρούνται ξηροί σύμφωνα με τα όρια που έχουν τεθεί από τον OIV . Η διαφορά τους, ύστερα από στατιστική ανάλυση, δεν κρίθηκε σημαντική. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τους A. S. Gonzales 2012, οι οποίοι δεν παρατήρησαν καμία στατιστικά σημαντική διαφορά κατά την παρατήρηση αυτής της παραμέτρου.

Ως προς την απορρόφηση, στο φάσμα 420nm παρατηρήθηκε μια αυξητική τάση. Πιο συγκεκριμένα, τη μικρότερη απορρόφηση στα 420nm εμφάνισε ο οίνος μάρτυρας ενώ ακολούθησε το Group400 και τέλος των Group800. Από τη στατιστική ανάλυση προέκυψε ότι  $p\text{-value} > 0,05$ . Συγκεκριμένα, η τιμή που προέκυψε ήταν 0,05556, οπότε η ανάλυση διακύμανσης δεν βρήκε στατιστικά σημαντικές διαφορές, σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05 για τα τρία διαφορετικά δείγματα. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν εν μέρει με τους Yamamoto et al 2015 οι οποίοι παρατήρησαν ότι η εφαρμογή ABA σε σταφύλια της ποικιλίας Isabel αύξησε σημαντικά την απορρόφηση στα 420 nm.

Στατιστικά σημαντική διαφορά παρουσίασαν οι οίνοι ως προς το Φαινολικό τους φορτίο και στις δυο μεθόδους που ακολουθήθηκαν (ΔΦΟ -Follin). Όσον αφορά το δείκτη φαινολικών ουσιών η ανάλυση διακύμανσης εντόπισε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων Group400 και GroupC, σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05. Πιο συγκεκριμένα, ο μαρτυρας εμφάνισε τη μικρότερη τιμή  $\sim 4,273$ , ενώ ο οίνος του Group400  $\sim 6.33$ . Αντίστοιχα, στατιστικά σημαντικές διαφορές εντοπίστηκαν και μεταξύ της σύγκρισης των Group800 και GroupC με το οίνο του

Group800 να εμφανίζει τιμή  $\sim 5,36$ . Αξίζει να σημειωθεί ότι δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά, σε επίπεδο σημαντικότητας  $p\text{-value} > 0,05$ , μεταξύ των εφαρμογών των Group400 και Group800. Χρησιμοποιώντας τη μέθοδο *folllin* παρατηρήθηκαν διαφορές τόσο ανάμεσα στις εφαρμογές με ABA όσο και στη σύγκριση του Group400 με το δείγμα-μαρτυρά. Παρ' όλα αυτά, δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της εφαρμογής 800mg ABA σε σχέση με το δείγμα-μαρτυρά. Και στις δύο μεθόδους που ακολουθήθηκαν το μεγαλύτερο ποσο φαινολικών ουσιών παρουσιάστηκε στο Group400, ενώ ακολουθούσε το Group800 και στη συνέχεια το δείγμα-μαρτυράς. Φαίνεται έτσι ότι η εφαρμογή με ABA επηρεάζει θετικά την αύξηση του φαινολικού φορτίου. Αν και η βιβλιογραφία είναι φτωχή στο κομμάτι της έρευνας, σε σχέση με την επίδραση εξωγενώς της ορμόνης ABA σε λευκές ποικιλίες σταφυλιών, θα μπορούσαμε να αντλήσουμε δεδομένα από την εκτεταμένη έρευνα που στο κομμάτι αυτό αφορά τις ερυθρές ποικιλίες. Πιο συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας ερχονται σε συμφωνία με τους Rodrigo Alonso et al 2016, Gregory D. Venburg, et al 2016 οι οποίοι παρατήρησαν αύξηση των φαινολών μικρού μοριακού βάρους σε σταφύλια των ποικιλιών Malbec, Carmenere και Cabernet Sauvignon. Επίσης, συμφωνούν με τα αποτελέσματα των Yamamoto et al 2015 οι οποίοι παρατήρησαν αύξηση των φλαβονολών σε οίνους που έχουν προέλθει από την ερυθρή ποικιλία Isabel και στους οποίους είχε γίνει εφαρμογή με ABA. Τέλος, οι Raquel González et al (2018) ερευνώντας τη λευκή ποικιλία Verdejo διατύπωσαν ότι η εφαρμογή της ορμόνης ABA εξωγενώς θα μπορούσε να αυξήσει το φαινολικό φορτίο των οίνων αλλά η επίδραση της ορμόνης μπορεί να είναι διαφορετική σε κάθε ένα από τα φαινολικά συστατικά. Σίγουρα ως προς αυτό το σκέλος της έρευνας απαιτείται επιπλέον έρευνα για να διαλευκανθεί πλήρως ο ρόλος του ABA στις λευκές ποικιλίες σταφυλιών.

Στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν επίσης και ως προς την τάση για αμαύρωση που προκαλεί η χρήση ABA. Σύμφωνα με την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων υπήρξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών ομάδων. Πιο συγκεκριμένα, όπως προέκυψε από τα P-values του ελέγχου Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$ , εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ

των ομάδων GroupC και Group400, μεταξύ των ομάδων GroupC και Group800 αλλά και μεταξύ των ομάδων Group400 και Group800. Ο συντελεστής  $k$  που παρουσιάζεται στα αποτελέσματα δηλώνει το ρυθμό μεταβολής της κιτρινης αποχρώσεως στον εξεταζόμενο οίνο σε σχέση με το χρόνο. Αυξημένη ποσότητα χρωστικών που απορροφούν στο κιτρινο φάσμα του ορατού φωτός 420nm υποδηλώνουν οξείδωση στον οίνο. Λαμβανοντας υπόψη τα παραπάνω, συμπεραίνουμε ότι χαμηλές τιμές του συντελεστή  $k$  δηλώνουν αργή οξείδωση των εξεταζόμενων οίνων κάτω από τις ίδιες συνθήκες.

Όσον αφορά τον οργανοληπτικό έλεγχο που διενεργήθηκε, οι οίνοι του Group400 χαρακτηρίστηκαν διαφορετικά ως προς όλα τα χαρακτηριστικά τους σε σχέση με τον οίνο-μάρτυρα, εκτός από τον παράγοντα χρώμα. Ο οίνος του Group800 σε σχέση με το δείγμα-μάρτυρα εμφάνισε ομοιότητα ως προς το χρώμα, το σώμα και το βοτανικό χαρακτήρα, ενώ υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς όλα τα υπόλοιπα ερωτήματα. Και στις δυο περιπτώσεις, στο πιο κρίσιμο ερώτημα, στο οποίο ζητούνταν από τους δοκιμαστές να χαρακτηρίσουν τους οίνους ως όμοιους ή διαφορετικούς σε σχέση με το δείγμα-μάρτυρα, οι δοκιμαστές τους χαρακτήρισαν ως διαφορετικούς. Όσον αφορά τη σύγκριση των οίνων που προήλθαν από εφαρμογές ABA, οι οίνοι χαρακτηρίστηκαν όμοιοι ως προς όλα τα ζητούμενα χαρακτηριστικά. Ως προς την αξιολόγηση των οίνων σε σχέση με τον οίνο-μάρτυρα οι δοκιμαστές βρήκαν ότι οι οίνοι βελτιώθηκαν σε όλα τα χαρακτηριστικά τους σε σχέση με το οίνο-μάρτυρα. Επιπλέον, ο οίνος του Group800 θεωρήθηκε ότι διαθέτει καλύτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά σε σχέση με τον οίνο του Group400. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με την έρευνα που παρουσίασαν οι Gregory D. Venburg, et al (2016).

Παίρνοντας ως βάση όλα τα παραπάνω, θα μπορούσαμε να ισχυριστούμε ότι η εφαρμογή εξωγενώς της φυτοορμόνης ABA σε φυτά αμπέλου της ποικιλίας Σαββατιανό δύναται να χρησιμοποιηθεί προκειμένου να ελεγχθεί έως ένα βαθμό η ημερομηνία τρυγητού. Στην παρούσα εργασία, η εφαρμογή ABA εξωγενώς καθυστέρησε την ωρίμανση κατά 9 ημέρες. Θα μπορούσε λοιπόν η φυτοορμόνη να αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμη σε παραγωγούς, οι οποίοι έχουν στην κατοχή τους

πολύ μεγάλες εκτάσεις με την ίδια ποικιλία στην ίδια γεωγραφική περιοχή και για οποιονδήποτε λόγο δεν επιθυμούν να συλλέξουν όλη την παραγωγή ταυτόχρονα. Αντίστοιχα, αυτή η συνθήκη είναι δυνατόν να εξυπηρετεί επίσης το σχεδιασμό παραγωγής και οινοποιητικών μονάδων που δέχονται μεγάλες ποσότητες σταφυλιών προκειμένου να αποφευχθεί μια υπερφόρτωση της παραλαβής από το οινοποιό. Έμμεσα τα παραπάνω συντελούν στη βελτίωση της ποιότητας του παραγόμενου οίνου μιας και μπορεί να αποφευχθεί η παρατεταμένη αποθήκευση σταφυλιών σε μη κατάλληλες θερμοκρασίες έως τη στιγμή της οινοποίησης, αποτρέπονται έτσι οξειδώσεις που μπορεί να προκύψουν και να επηρεάσουν δυσμενώς το τελικό προϊόν .Επιπλέον, δύναται να συντελέσει στη μακροχρόνια μείωση των δαπανών για αγορά/ενοικίαση ψυκτικών θαλάμων, στα οποία θα πρέπει να αποθηκεύονται προσωρινά τα σταφύλια. Ταυτόχρονα, μειώνεται το κόστος ενέργειας που προκύπτει από τη λειτουργία τέτοιων μηχανημάτων. Αξιοσημείωτο είναι δε ότι η καθυστέρηση στην ημερομηνία τρυγητού που παρατηρήθηκε δεν συνοδεύτηκε από σημαντικές διαφορές ως προς τους παράγοντες που καθορίζουν την ημερομηνία του τρυγητού, όπως το βάρος, τα σάκχαρα, το Ph, το αφομοιώσιμο-από της ζύμες- άζωτο και την οξύτητα των σταφυλιών. Όσον αφορά τους παραγόμενους οίνους, η χρήση της συγκεκριμένης φυτοορμόνης δεν συνοδεύτηκε από σημαντικές διαφορές σε σχέση με τον οίνο-μάρτυρα ως προς βασικούς παράγοντες που επιδρούν στο οργανοληπτικό προφίλ του οίνου, όπως το χρώμα η οξύτητα, το Ph , η πτητική οξύτητα, ο αλκοολικός τίτλος και τα υπολειπόμενα σάκχαρα. Αντιθέτως, προκύπτει ότι η εφαρμογή ABA αυξάνει το φαινολικό φορτίο των παραγόμενων οίνων ιδιαίτερα όταν εφαρμόζεται ψεκασμός με 400mg ABA. Ο συνδυασμός αυτού του αποτελέσματος με τα αποτελέσματα του οργανοληπτικού ελέγχου, τα οποία έδειξαν ότι το οργανοληπτικό προφίλ των οίνων που έχουν προέλθει από εφαρμογή ABA στον αμπελώνα βελτιώθηκε σε σχέση με τον οίνο-μάρτυρα, μπορεί να μας οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι η εξωγενής εφαρμογή ABA στον αμπελώνα σε λευκή ποικιλία σταφυλιών μπορεί να μειώσει την τάση των οίνων για οξείδωση αυξάνοντας ταυτόχρονα την ικανότητά τους για παλαίωση και βελτιώνοντας τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά . Παρ όλα αυτά, απαιτούνται επιπλέον έρευνες προκειμένου να διασαφηνιστεί καλύτερα ο ρόλος της φυτοορμόνης ABA, τόσο αμπελουργικά όσο

και οινολογικά και ιδιαίτερα όσον αφορά τις λευκές ποικιλίες σταφυλιών μιας και η διεθνής βιβλιογραφία υστερεί ως προς αυτό το κομμάτι της έρευνας.

## 5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Addicott F. T. Physiology of abscission 1965 [Handbuch der Pflanzenphysiologie / Encyclopedia of Plant Physiology](#) book series (532, volume 15)

Andrea M. Quiroga , Federico J Berli, Daniela Moreno Juan B Cavagnaro , Ruben Bottini . Abscisic Acid Sprays Significantly Increase Yield per Plant in Vineyard-Grown Wine Grape (*Vitis vinifera* L.) cv. Cabernet Sauvignon Through Increased Berry Set with No Negative Effects on Anthocyanin Content and Total Polyphenol Index of Both Juice and Wine

Antolín, M.C., H. Santesteban, E. Santa Maria, J. Aguirreolea, and M. Sanchez-Diaz. 2008. 646 Involvement of abscisic acid and polyamines in berry ripening of *Vitis vinifera* (L.) subjected to 647 water deficit irrigation. Austral. J. Grape and Wine Res. 14:123-133.

Boss PK, Davies C, Robinson SP (1996) Anthocyanin composition and anthocyanin pathway gene expression in grapevine sports differing in berry skin colour. Aust J Grape Wine R 2:163–170

Cantin, C.M., Fidelibus, M.W. and Crisosto, C.H. 2007. Application of abscisic acid (ABA) at veraison advanced red colour development and maintained postharvest quality of 'Crimson Seedless' grapes. Postharvest Biol. Technol. 46:237-241.

Conde, C., Silva, Paulo ,Fontes, N. ,Dias, Alberto Carlos Pires,Tavares, R. M.,Sousa, Maria João, Agasse, A. ,Delrot, Serge , H 2007. Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality Food". ISSN 1749-7140. 1:1 (June 2007) 1-22.

Coombe, B. G. Hale, C. R. 1973: The hormone content of ripening grape berries and the effects of growth substance treatments. Plant Physiol. 51, 629-634.

Cortell M Jessica. Kennedy A. James Michael Halbleib Andrew V. Galagher.Influence of Vine Vigor on Grape (*Vitis vinifera* L. Cv. Pinot Noir) and Wine Proanthocyanidins *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 14, 5798–5808

Delgado, R.; Gallegos, J.I.; Martín, P; González, M.R. 2004. Influence of ABA and Ethephon treatments on fruit composition of 'Tempranillo' grapevines. Acta Horticulturae 640: 321-326.

Douglas O Adams Phenolics and Ripening in Grape Berries 2006 American Journal of Enology and Viticulture

Dukes C Bruce. , Butzke E Christian. 1998. Rapid Determination of Primary Amino Acids in Grape Juice Using an *o*-Phthaldialdehyde/N-Acetyl-L-Cysteine Spectrophotometric Assay American journal of Enology and Viticulture 49: 125-134

Gagné, S., K. Esteve, C. Deytieux, C. Sauvier, and L. GénY. 2006. Influence of abscisic acid in 665 triggering véraison in grape berry skins of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. Vitis 40:7-14.

Balint Gabriel , Reynolds G.Andrew 2012. Impact of Exogenous Abscisic Acid on Vine Physiology and Grape Composition of Cabernet Sauvignon. Am J Enol Vitic. March 2013 64: 74-87

Gambetta, G.A., M.A. Matthews, T.H. Shaghasi, A.J. McElrone, and S.D. Castellarin. 2010. Sugar 667 and abscisic acid signaling orthologs are activated at the onset of ripening in grape. Planta 668 232:219-234.

Gregory D. Venburg, Andrew Rath, Peter D. Petracek 2016. Use of abscisic acid to alter sensory characteristics of red grapes and wine.

Gregory D. Venburg, Andrew Rath, Peter D. Petracek. 2016. Use of abscisic acid to alter sensory characteristics of white grapes and wine United States Patent

Gonzales R. Rosa M, González P Martín 2018 Abscisic acid and ethephon treatments applied to 'Verdejo' white grapes affect the quality of wine in different ways. Sci. agric. (Piracicaba, Braz.) vol.75 no.5 Piracicaba Sept./Oct. 2018

P. F. Wareing, J. W. Cornforth , B. V. Milborrow, G. Ryeback 1965 Chemistry and Physiology of 'Dormins' In Sycamore: Identity of Sycamore 'Dormin' with Abscisin II Nature 205.

Hale, C.R. and B.G. Coombe. 1974. Abscisic acid-an effect on the ripening of grapes. Bull. R. Soc. NZ 12:831-836.

Jackson RS (2000) Vineyard practice. In: Taylor S (ed) Wine science. Academic, San Diego, pp 109–111

Jiang, F. and W. Hartung. 2008. Long-distance signaling of abscisic acid (ABA): the factors regulating the intensity of the ABA signal. J. Exp. Bot. 59:37–43.

Koyama, K., K. Sadamatsu, and N. Goto-Yamamoto. 2010. Abscisic acid stimulated ripening and gene expression in berry skins of the Cabernet Sauvignon grape. Functional and Integrative Genomics 10:367-381.



L. Singleton, T. E. Kramlinga 1976 Browning of White Wines and an Accelerated Test for Browning Capacity. American Journal of Enology and Viticulture ,27 157-160.

Luan Li Ying, Li-Na Ma Zhu-Mei Xi,Jiang-Fei Meng,Shan-Shan Huo & Zhen-Wen Zhang 2013. Exogenously applied abscisic acid to Yan73 (*V. vinifera*) grapes enhances phenolic content and antioxidant capacity of its wine. Internation Journal of Food Science and Nutrition Vol 13 P444-451

Luan, L.Y.; Zhang, Z.W.; Xi, Z.M.; Huo, S.S.; Ma, L.B. 2014. Comparing the effects of exogenous abscisic acid on the phenolic composition of Yan 73 and Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) wines. European Food Research and Technology 239: 203-213.

Lurie, S.; Lichter, A.; Kaplunov, T.; Zutahy, Y.; Oren-Shamie, M.; Ovadia, R. 2010. Improvement of 'Crimson Seedless' grape colour by abscisic acid treatment. Acta Horticulturae 880: 183- 189.

Omran, Y. 2011. Enhanced yield and fruit quality of redglobe grapevines by abscisic acid (ABA) and ethanol applications. Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin 45: 13-18.

Peppi, M. C., Fidelibus, M. W., & Dokoozlian, N. 2007 Application timing and concentration of abscisic acid affect the quality of 'Redglobe' grapes. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology Vol 82

Peppi, M. C., Fidelibus, M. W., & Dokoozlian, N. (2006). Abscisic acid application timing and concentration affect firmness, pigmentation, and colour of 'flame seedless' grapes. HortScience, 41, 1440–1445.

Reynolds, A.; Robbins, N.; Lee, H.-S.; Kotsaki, E. 2016. Impacts and interactions of abscisic acid and gibberellic acid on sovereign coronation and skookum seedless table grapes. American Journal of Enology and Viticulture 67: 327-338.

Roberto, S.R.; De Assis, A.M.; Yamamoto, L.Y.; Miotto, L.C.V.; Sato, A.J.; Koyama, R.; Genta, W. 2012. Application timing and concentration of abscisic acid improves color of 'Benitaka' table grape. Scientia Horticulturae 142: 44-48.

Rodrigo Alonso,Federico J Berli, Ariel Fontana, Patricia Piccoli, Ruben Bottini (2016) Malbec grape (*Vitis vinifera* L.) responses to the environment: Berry phenolics as influenced by solar UV-B, water deficit and sprayed abscisic acid. Plant Physiology and Biochemistry Vol 109 P84-90

Scheiner D. 1976 Determination of ammonia and Kjeldahl nitrogen by indophenol method. Water Research Vol 10 Issue 1 p31-36

Shulman, Y.; Cohen, S.; Slingen, C. 1985. Improved maturation and wine quality of Carignane grapes by ethephon treatments. American Journal of Enology and Viticulture 36: 26-267.

Sioumis, N. Kalithraka, S. Makris, D.P. ., Kefalas (2006) Kinetics of browning onset in white wines: Influence of principal redox- active polyphenols and impact on the reducing capacity Food Chem 94 98, 104

Skoog, D.A., Holler, J.F., Nieman, T.A. (2002) Αρχες Ενοργανης Αναλυσης 5<sup>η</sup> εκδοση Εκδοσεις Κωσταρακης Αθηνα

Yamamoto, L.Y.; De Assis, A.M.; Roberto, S.R.; Bovolenta, Y.R.; Nixdorf, S.L.; García-Romero, E.; Gómez-Alonso, S.; Hermosín-Gutiérrez, I. 2015. Application of abscisic acid (S-ABA) to cv. Isabel grapes (*Vitis vinifera* × *Vitis labrusca*) for color improvement: effects on color, phenolic composition and antioxidant capacity of their grape juice. Food Research International 77: 572-583.

Yamane, T, S.T. Jeong, N. Goto-Yamamoto, Y. Koshita, and S. Kobayashi. 2006. Effects of 733 temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins. Am. J. Enol. Vitic. 57:54-59.

Αμπελογραφία Σταυρακάκης 2010

Κοτσερίδης Γ. και Προξενιά Ν., 2012 Εργαστηριακες Ασκησεις Οινολογια Ι Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου. Αθήνα

Κουράκου- Δραγώνα Σ Θέματα Οινολογίας Εκδόσεις Τροχαλία Αθήνα 1998

Χαρβαλιά Α. και Μπενά- Τζούρου Ε., (1982) Τα φαινολικά συστατικά και το χρώμα των Ελληνικών οίνων Ελληνικά Οινολογικά Χρονικά 2, 1-77 Ινστιτούτο Οινου

## ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

<http://www.winesofathens.com/>

<http://www.ampeli.gr>

<https://www.karakasis.mw/>

<https://www.burgundy-report.com/wp/wp-content/uploads/2005/09/vegetal-characters-Practical-Winery.pdf>

## 6. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

### Λίστα γραφημάτων

**Γράφημα 1.** Μεταβολή του βάρους των ραγών με την προσθήκη του αμπισικού οξέος σε συγκεντρώσεις 400 mg/L και 800 mg/L

**Γράφημα 2.** Μετρήσεις της ενεργού οξύτητας-pH σε συνάρτηση με τον χρόνο ωρίμανσης

**Γράφημα 3.** Μετρήσεις της ολικής οξύτητας σε συνάρτηση με τον χρόνο ωρίμανσης

**Γράφημα 4.** Μετρήσεις της περιεκτικότητας των σακχάρων σε συνάρτηση με τον χρόνο ωρίμανσης

**Γράφημα 5.** Προσδιορισμός του αμμωνιακού αζώτου σε συνάρτηση με τον χρόνο ωρίμανσης

**Γράφημα 6.** Προσδιορισμός του αζώτου των βασικών αμινοξέων σε συνάρτηση με τον χρόνο ωρίμανσης

**Γράφημα 7.** Προσδιορισμός της πτητικής οξύτητας για τις συγκεντρώσεις 400 mg/L και 800 mg/L

**Γράφημα 8.** Προσδιορισμός του αλκοολικού τίτλου για τις συγκεντρώσεις 400 mg/L και 800 mg/L

**Γράφημα 9.** Προσδιορισμός των αναγόντων σακχάρων για τις συγκεντρώσεις 400 mg/L και 800 mg/L

**Γράφημα 10.** Μεταβολή της απορρόφησης των τριών δειγμάτων με την προσθήκη του αμπισικού οξέος σε συγκεντρώσεις 400 mg/L και 800 mg/L στα 420 nm

**Γράφημα 11.** Μεταβολή του Δείκτη Φαινολικών Ουσιών με την προσθήκη του αμπισικού οξέος σε συγκεντρώσεις 400 mg/L και 800 mg/L

**Γράφημα 12.** Μεταβολή της συγκέντρωσης των Φαινολικών Ουσιών με την προσθήκη του αμπισικού οξέος σε συγκεντρώσεις 400 mg/L και 800 mg/L σύμφωνα με τη μέθοδο Follin

**Γράφημα 13.** Μεταβολή της συγκέντρωσης των Φαινολικών Ουσιών με την προσθήκη του αμπισιικού οξέος σε συγκεντρώσεις 400 mg/L και 800 mg/L σύμφωνα με τη μέθοδο Follin

**Γράφημα 14.** Σύγκριση της ανάπτυξης αμαύρωσης στον οίνο σε συνάρτηση με τον χρόνο για τα τρία διαφορετικά δείγματα

**Γράφημα 15.** Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου με τη συμμετοχή των 12 δοκιμαστών, όταν συγκρίθηκαν τα δείγματα του μάρτυρα και του οίνου με 400 mg/L αμπισιικού οξέος

**Γράφημα 16.** Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου με τη συμμετοχή των 12 δοκιμαστών, όταν συγκρίθηκαν τα δείγματα του μάρτυρα και του οίνου με 800 mg/L αμπισιικού οξέος

**Γράφημα 17.** Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου με τη συμμετοχή των 12 δοκιμαστών, όταν συγκρίθηκαν τα δείγματα και του οίνου με 400 mg/L και του οίνου με τα 800 mg/L αμπισιικού οξέος

**Γράφημα 18.** Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου με τη συμμετοχή των 12 δοκιμαστών, κατά την αξιολόγηση κάθε δείγματος ξεχωριστά

**Αναλυτικά αποτελέσματα από την στατιστική επεξεργασία των μετρήσεων**

Για την ανάλυση των μετρήσεων A420 εκτελούμε μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ABA\_levels.

=====

Regression Table

OLS Regression Results

=====

Dep. Variable:	A420	R-squared:	0.618
Model:	OLS	Adj. R-squared:	0.491
Method:	Least Squares	F-statistic:	4.862
Date:	Tue, 29 Sep 2020	Prob (F-statistic):	0.0556
Time:	13:41:14	Log-Likelihood:	23.080

No. Observations: 9 AIC: -40.16  
 Df Residuals: 6 BIC: -39.57  
 Df Model: 2  
 Covariance Type: nonrobust

```
=====
```

	coef	std err	t	P> t	[0.025	0.975]
Intercept	0.1237	0.013	9.391	0.000	0.091	0.156
ABA_levels[T.Group400]	0.0173	0.019	0.931	0.388	-0.028	0.063
ABA_levels[T.Group800]	0.0567	0.019	3.043	0.023	0.011	0.102

```
=====
```

```
=====
```

Omnibus: 2.048 Durbin-Watson: 2.104  
 Prob(Omnibus): 0.359 Jarque-Bera (JB): 0.849  
 Skew: 0.228 Prob(JB): 0.654  
 Kurtosis: 1.566 Cond. No. 3.73

```
=====
```

Notes:

[1] Standard Errors assume that the covariance matrix of the errors is correctly specified.

```
=====
```

===== Normality Test =====

Σύμφωνα με τον έλεγχο Shapiro μπορούμε να δεχθούμε ότι τα σφάλματα προέρχονται από κανονική κατανομή

\*\*\*\*\*

===== Variance Homogeneity Test =====

Σύμφωνα με τον έλεγχο Barlett μπορούμε να δεχθούμε ότι τα δεδομένα έχουν ίσες διακυμάνσεις

\*\*\*\*\*

One-way ANOVA results:

	sum_sq	df	F	PR(>F)
ABA_levels	0.005059	2.0	4.862025	0.05556
Residual	0.003121	6.0	NaN	NaN

Στον πίνακα ANOVA φαίνεται ότι p-value > 0.05, οπότε η ανάλυση διακύμανσης δεν βρίσκει στατιστικά σημαντικές διαφορές, σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05

Για την ανάλυση των μετρήσεων Phenolic εκτελούμε μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ABA\_levels.

Regression Table

OLS Regression Results

Dep. Variable:	Phenolic	R-squared:	0.787
Model:	OLS	Adj. R-squared:	0.716
Method:	Least Squares	F-statistic:	11.09
Date:	Tue, 29 Sep 2020	Prob (F-statistic):	0.00964
Time:	13:41:15	Log-Likelihood:	15.370
No. Observations:	9	AIC:	-24.74
Df Residuals:	6	BIC:	-24.15
Df Model:	2		
Covariance Type:	nonrobust		

	coef	std err	t	P> t	[0.025	0.975]
Intercept	0.4275	0.031	13.784	0.000	0.352	0.503
ABA_levels[T.Group400]	0.2065	0.044	4.707	0.003	0.099	0.314
ABA_levels[T.Group800]	0.1098	0.044	2.503	0.046	0.002	0.217

Omnibus:	0.888	Durbin-Watson:	1.870
Prob(Omnibus):	0.642	Jarque-Bera (JB):	0.306
Skew:	-0.426	Prob(JB):	0.858
Kurtosis:	2.700	Cond. No.	3.73

Notes:

[1] Standard Errors assume that the covariance matrix of the errors is correctly specified.

===== Normality Test =====

Σύμφωνα με τον έλεγχο Shapiro μπορούμε να δεχθούμε ότι τα σφάλματα προέρχονται από κανονική κατανομή

\*\*\*\*\*

===== Variance Homogeneity Test =====

Σύμφωνα με τον έλεγχο Barlett μπορούμε να δεχθούμε ότι τα δεδομένα έχουν ίσες διακυμάνσεις

\*\*\*\*\*

One-way ANOVA results:

	sum_sq	df	F	PR(>F)
ABA_levels	0.064029	2.0	11.094833	0.009642
Residual	0.017313	6.0	NaN	NaN

Στον πίνακα ANOVA φαίνεται ότι p-value < 0.05, οπότε

η ανάλυση διακύμανσης δίνει στατιστικά σημαντικές διαφορές και θα κάνουμε test Tuckey άνα δύο, για τους μέσους των ομάδων

\*\*\*\*\*

	A	B	mean(A)	mean(B)	diff	se	T	p-tukey	hedges
0	Group0	Group400	0.427500	0.633967	-0.206467	0.04386	-4.707417	0.001000	-3.074872
1	Group0	Group800	0.427500	0.537300	-0.109800	0.04386	-2.503428	0.044791	-1.635232
2	Group400	Group800	0.633967	0.537300	0.096667	0.04386	2.203989	0.085635	1.439640



Η μέθοδος Tukey εντοπίζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων Control Group και 400mg/L ABA Group σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05.

Η μέθοδος Tukey εντοπίζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων Control Group και 800mg/L ABA Group σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05.

Για την ανάλυση των μετρήσεων Follin εκτελούμε μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης για τον παράγοντα ABA\_levels.

=====

Regression Table

OLS Regression Results

=====

Dep. Variable:	Follin	R-squared:	0.693
Model:	OLS	Adj. R-squared:	0.590
Method:	Least Squares	F-statistic:	6.767
Date:	Tue, 29 Sep 2020	Prob (F-statistic):	0.0290
Time:	13:41:16	Log-Likelihood:	20.622
No. Observations:	9	AIC:	-35.24
Df Residuals:	6	BIC:	-34.65
Df Model:	2		
Covariance Type:	nonrobust		

=====

	coef	std err	t	P> t	[0.025	0.975]
--	------	---------	---	------	--------	--------

-----

Intercept	0.1517	0.017	8.769	0.000	0.109	0.194
ABA_levels[T.Group400]	0.0862	0.024	3.524	0.012	0.026	0.146
ABA_levels[T.Group800]	0.0207	0.024	0.847	0.429	-0.039	0.081

=====

Omnibus:	0.326	Durbin-Watson:	2.966
Prob(Omnibus):	0.850	Jarque-Bera (JB):	0.428
Skew:	-0.286	Prob(JB):	0.808
Kurtosis:	2.098	Cond. No.	3.73

=====  
Notes:

[1] Standard Errors assume that the covariance matrix of the errors is correctly specified.

=====  
Normality Test =====

Σύμφωνα με τον έλεγχο Shapiro μπορούμε να δεχθούμε ότι τα σφάλματα προέρχονται από κανονική κατανομή

\*\*\*\*\*

=====  
Variance Homogeneity Test =====

Σύμφωνα με τον έλεγχο Barlett μπορούμε να δεχθούμε ότι τα δεδομένα έχουν ίσες διακυμάνσεις

\*\*\*\*\*

=====  
One-way ANOVA results:

	sum_sq	df	F	PR(>F)
ABA_levels	0.012156	2.0	6.76729	0.028976
Residual	0.005389	6.0	NaN	NaN

=====  
Στον πίνακα ANOVA φαίνεται ότι p-value < 0.05, οπότε η ανάλυση διακύμανσης δίνει στατιστικά σημαντικές διαφορές και θα κάνουμε test Tuckey ανά δύο, για τους μέσους των ομάδων

\*\*\*\*\*

=====  
A B mean(A) mean(B) diff se T p-tukey hedges

0	Group0	Group400	0.151733	0.237967	-0.086233	0.02447	-3.524052	0.003058	-2.301901
1	Group0	Group800	0.151733	0.172467	-0.020733	0.02447	-0.847298	0.655067	-0.553453
2	Group400	Group800	0.237967	0.172467	0.065500	0.02447	2.676754	0.029880	1.748448

\*\*\*\*\*

Η μέθοδος Tukey εντοπίζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων Control Group και 400mg/L ABA Group σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05.

Η μέθοδος Tukey εντοπίζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων 400mg/L ABA Group και 800mg/L ABA Group σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05.

Για την ανάλυση των μετρήσεων Browning εκτελούμε διπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης για τους παράγοντες Date και ABA\_levels.

=====

Regression Table

OLS Regression Results

=====

Dep. Variable: Browning R-squared: 0.886  
 Model: OLS Adj. R-squared: 0.831  
 Method: Least Squares F-statistic: 16.08  
 Date: Tue, 29 Sep 2020 Prob (F-statistic): 1.31e-20  
 Time: 13:41:16 Log-Likelihood: 326.19  
 No. Observations: 99 AIC: -586.4  
 Df Residuals: 66 BIC: -500.7  
 Df Model: 32  
 Covariance Type: nonrobust

=====

	coef	std err	t	P> t	[0.025	0.975]
Intercept	0.1107	0.006	17.444	0.000	0.098	0.123
Date[T.02/12/18]	-0.0018	0.009	-0.201	0.842	-0.020	0.016
Date[T.03/12/18]	0.0112	0.009	1.250	0.216	-0.007	0.029
Date[T.04/12/18]	0.0086	0.009	0.957	0.342	-0.009	0.026
Date[T.05/12/18]	0.0066	0.009	0.733	0.466	-0.011	0.024
Date[T.23/11/18]	-0.0341	0.009	-3.796	0.000	-0.052	-0.016
Date[T.26/11/18]	-0.0077	0.009	-0.863	0.391	-0.026	0.010
Date[T.27/11/18]	0.0011	0.009	0.125	0.901	-0.017	0.019
Date[T.28/11/18]	-0.0207	0.009	-2.309	0.024	-0.039	-0.003
Date[T.29/11/18]	-0.0111	0.009	-1.236	0.221	-0.029	0.007

Date[T.30/11/18]	7.778e-05	0.009	0.009	0.993	-0.018	0.018	
ABA_levels[T.Group400]	0.0324	0.009	3.613	0.001	0.015	0.050	
ABA_levels[T.Group800]	0.0595	0.009	6.638	0.000	0.042	0.077	
Date[T.02/12/18]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0018	0.013	-0.145	0.886	-0.027	0.023	
Date[T.03/12/18]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0071	0.013	-0.560	0.578	-0.032	0.018	
Date[T.04/12/18]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0039	0.013	-0.307	0.760	-0.029	0.021	
Date[T.05/12/18]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0075	0.013	-0.589	0.558	-0.033	0.018	
Date[T.23/11/18]:ABA_levels[T.Group400]	0.0003	0.013	0.025	0.980	-0.025	0.026	
Date[T.26/11/18]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0024	0.013	-0.191	0.849	-0.028	0.023	
Date[T.27/11/18]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0041	0.013	-0.324	0.747	-0.029	0.021	
Date[T.28/11/18]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0046	0.013	-0.365	0.716	-0.030	0.021	
Date[T.29/11/18]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0038	0.013	-0.298	0.767	-0.029	0.022	
Date[T.30/11/18]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0092	0.013	-0.725	0.471	-0.035	0.016	
Date[T.02/12/18]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0062	0.013	-0.491	0.625	-0.032	0.019	
Date[T.03/12/18]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0070	0.013	-0.553	0.582	-0.032	0.018	
Date[T.04/12/18]:ABA_levels[T.Group800]	0.0019	0.013	0.153	0.879	-0.023	0.027	
Date[T.05/12/18]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0075	0.013	-0.595	0.554	-0.033	0.018	
Date[T.23/11/18]:ABA_levels[T.Group800]	0.0007	0.013	0.057	0.955	-0.025	0.026	
Date[T.26/11/18]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0160	0.013	-1.258	0.213	-0.041	0.009	
Date[T.27/11/18]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0069	0.013	-0.540	0.591	-0.032	0.018	
Date[T.28/11/18]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0161	0.013	-1.268	0.209	-0.041	0.009	
Date[T.29/11/18]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0127	0.013	-1.005	0.319	-0.038	0.013	
Date[T.30/11/18]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0120	0.013	-0.949	0.346	-0.037	0.013	

=====

Omnibus:	1.732	Durbin-Watson:	2.809
Prob(Omnibus):	0.421	Jarque-Bera (JB):	1.716
Skew:	-0.246	Prob(JB):	0.424
Kurtosis:	2.583	Cond. No.	44.5

=====

Notes:

[1] Standard Errors assume that the covariance matrix of the errors is correctly specified.

===== Normality Test =====

=====

Σύμφωνα με τον έλεγχο Shapiro μπορούμε να δεχθούμε ότι τα σφάλματα προέρχονται από κανονική κατανομή

===== D' Agostino =====

data looks normal according to D'Agostino test

===== Variance Homogeneity Test =====

=====

Σύμφωνα με τον έλεγχο Barlett μπορούμε να δεχθούμε ότι τα δεδομένα έχουν ίσες διακυμάνσεις

\*\*\*\*\*

=====

Two-way ANOVA results:

	sum_sq	df	F	PR(>F)
Date	0.016354	10.0	13.547326	1.450017e-12
ABA_levels	0.044921	2.0	186.062300	7.451227e-28
Date:ABA_levels	0.000835	20.0	0.345779	9.949533e-01
Residual	0.007967	66.0	NaN	NaN

=====

Όπως φαίνεται από τα P-values του παραπάνω πίνακα ANOVA, η ανάλυση διακύμανσης μας δίνει σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0.05$  ότι:

- \* Η επίδραση του παράγοντα Date είναι στατιστικά σημαντική
- \* Η επίδραση του παράγοντα ABA\_levels είναι στατιστικά σημαντική
- \* Η αλληλεπίδραση των παραγόντων Date και ABA\_levels δεν είναι στατιστικά σημαντική

Επειδή η επίδραση του παράγοντα ABA\_levels εμφανίζεται στατιστικά σημαντική θα πραγματοποιήσουμε έλεγχο Tukey ανά 2 για τους μέσους των ομαδοποιήσεων σχετικά με το ABA\_levels

```

=====
A      B      mean(A) mean(B) diff   se      T      p-tukey hedges
0  Group0 Group400 0.106308 0.134707 -0.028399 0.003985 -7.126282 0.001 -1.733730
1  Group0 Group800 0.106308 0.158415 -0.052107 0.003985 -13.075453 0.001 -3.181084
2  Group400 Group800 0.134707 0.158415 -0.023708 0.003985 -5.949172 0.001 -1.447354
=====

```

Όπως φαίνεται από τα P-values του παραπάνω πίνακα του ελέγχου Tukey, σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0.05$ :

\* Εμφανίζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων Control Group και 400mg/L ABA Group

\* Εμφανίζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων Control Group και 800mg/L ABA Group

\* Εμφανίζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων 400mg/L ABA Group και 800mg/L ABA Group

Για την ανάλυση των μετρήσεων Berries\_Weight εκτελούμε διπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης για τους παράγοντες Date και ABA\_levels.

```
=====
```

### Regression Table

#### OLS Regression Results

```
=====
```

```

Dep. Variable:      Berries_Weight  R-squared:          0.744
Model:              OLS             Adj. R-squared:     0.621
Method:             Least Squares   F-statistic:        6.063
Date:               Tue, 29 Sep 2020  Prob (F-statistic): 7.78e-08
Time:               13:41:20         Log-Likelihood:     -272.90
No. Observations:   72             AIC:                593.8
Df Residuals:       48             BIC:                648.4
Df Model:            23
Covariance Type:    nonrobust

```

```
=====
```

	coef	std err	t	P> t	[0.025	0.975]	
Date[01/08/19]	82.5167	7.574	10.895	0.000	67.288	97.745	
Date[04/09/19]	127.2100	7.574	16.796	0.000	111.982	142.438	
Date[08/08/19]	101.9700	7.574	13.463	0.000	86.742	117.198	
Date[12/09/19]	139.0767	7.574	18.363	0.000	123.848	154.305	
Date[15/08/19]	116.1367	7.574	15.334	0.000	100.908	131.365	
Date[21/09/19]	69.0133	7.141	9.665	0.000	54.656	83.371	
Date[22/08/19]	117.1933	7.574	15.473	0.000	101.965	132.422	
Date[23/07/19]	73.4100	7.574	9.692	0.000	58.182	88.638	
Date[29/08/19]	114.7767	7.574	15.154	0.000	99.548	130.005	
ABA_levels[T.Group400]	17.6167	10.711	1.645	0.107	-3.920	39.153	
ABA_levels[T.Group800]	13.9367	10.711	1.301	0.199	-7.600	35.473	
Date[T.04/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	-22.7300	15.148	-1.501	0.140	-53.187	7.727	
Date[T.08/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	-27.2767	15.148	-1.801	0.078	-57.734	3.180	
Date[T.12/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	-3.903e-15	5.18e-15	-0.753	0.455	-1.43e-14	6.52e-15	
Date[T.15/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	-23.3000	15.148	-1.538	0.131	-53.757	7.157	
Date[T.21/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	40.1633	8.373	4.797	0.000	23.328	56.999	
Date[T.22/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	-26.5733	15.148	-1.754	0.086	-57.030	3.884	
Date[T.23/07/19]:ABA_levels[T.Group400]	-18.5433	15.148	-1.224	0.227	-49.000	11.914	
Date[T.29/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	-3.3800	15.148	-0.223	0.824	-33.837	27.077	
Date[T.04/09/19]:ABA_levels[T.Group800]	-42.1867	15.148	-2.785	0.008	-72.644	-11.730	
Date[T.08/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	-21.5433	15.148	-1.422	0.161	-52.000	8.914	
Date[T.12/09/19]:ABA_levels[T.Group800]	1.121e-14	3.17e-15	3.535	0.001	4.83e-15	1.76e-14	
Date[T.15/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	-32.4733	15.148	-2.144	0.037	-62.930	-2.016	
Date[T.21/09/19]:ABA_levels[T.Group800]	28.8500	8.373	3.445	0.001	12.014	45.686	
Date[T.22/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	-45.4967	15.148	-3.004	0.004	-75.954	-15.040	
Date[T.23/07/19]:ABA_levels[T.Group800]	-15.0433	15.148	-0.993	0.326	-45.500	15.414	
Date[T.29/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	-34.7000	15.148	-2.291	0.026	-65.157	-4.243	

Omnibus:	1.541	Durbin-Watson:	2.872
Prob(Omnibus):	0.463	Jarque-Bera (JB):	0.902
Skew:	-0.079	Prob(JB):	0.637
Kurtosis:	3.525	Cond. No.	4.18e+16

Notes:

[1] Standard Errors assume that the covariance matrix of the errors is correctly specified.

[2] The smallest eigenvalue is 1.9e-32. This might indicate that there are strong multicollinearity problems or that the design matrix is singular.

Normality Test

Σύμφωνα με τον έλεγχο Shapiro μπορούμε να δεχθούμε ότι τα σφάλματα προέρχονται από κανονική κατανομή

D' Agostino

data looks normal according to D'Agostino test

Variance Homogeneity Test

Σύμφωνα με τον έλεγχο Barlett μπορούμε να δεχθούμε ότι τα δεδομένα έχουν ίσες διακυμάνσεις

Two-way ANOVA results:

	sum_sq	df	F	PR(>F)
Date	296872.315600	9.0	191.673533	1.740467e-34
ABA_levels	518.120022	2.0	1.505343	2.322319e-01
Date:ABA_levels	80037.479836	16.0	29.067547	1.133036e-18
Residual	8260.498933	48.0	NaN	NaN



Όπως φαίνεται από τα P-values του παραπάνω πίνακα ANOVA, η ανάλυση διακύμανσης μας δίνει σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0.05$  ότι:

- \* Η επίδραση του παράγοντα Date είναι στατιστικά σημαντική
- \* Η επίδραση του παράγοντα ABA\_levels δεν είναι στατιστικά σημαντική
- \* Η αλληλεπίδραση των παραγόντων Date και ABA\_levels είναι στατιστικά σημαντική

Για την ανάλυση των μετρήσεων pH εκτελούμε διπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης για τους παράγοντες Date και ABA\_levels.

```

=====
Regression Table
                OLS Regression Results
=====
Dep. Variable:          pH  R-squared:          0.953
Model:                  OLS  Adj. R-squared:      0.930
Method:                 Least Squares  F-statistic:      42.03
Date:                   Tue, 29 Sep 2020  Prob (F-statistic):  2.28e-24
Time:                   13:41:21  Log-Likelihood:    86.674
No. Observations:      72    AIC:              -125.3
Df Residuals:          48    BIC:              -70.71
Df Model:               23
Covariance Type:       nonrobust
=====

```

	coef	std err	t	P> t	[0.025	0.975]
Date[01/08/19]	3.0367	0.051	59.150	0.000	2.933	3.140
Date[04/09/19]	3.6267	0.051	70.642	0.000	3.523	3.730
Date[08/08/19]	3.2433	0.051	63.175	0.000	3.140	3.347
Date[12/09/19]	3.8167	0.051	74.343	0.000	3.713	3.920
Date[15/08/19]	3.4033	0.051	66.292	0.000	3.300	3.507
Date[21/09/19]	2.4867	0.048	51.375	0.000	2.389	2.584
Date[22/08/19]	3.5200	0.051	68.564	0.000	3.417	3.623

Date[23/07/19]	2.7433	0.051	53.436	0.000	2.640	2.847	
Date[29/08/19]	3.6067	0.051	70.253	0.000	3.503	3.710	
ABA_levels[T.Group400]	0.0233	0.073	0.321	0.749	-0.123	0.169	
ABA_levels[T.Group800]	0.0467	0.073	0.643	0.523	-0.099	0.193	
Date[T.04/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0467	0.103	-0.454	0.652	-0.253	0.160	
Date[T.08/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	-0.1067	0.103	-1.039	0.304	-0.313	0.100	
Date[T.12/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	1.33e-16	3.51e-17	3.785	0.000	6.24e-17	2.04e-16	
Date[T.15/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0633	0.103	-0.617	0.540	-0.270	0.143	
Date[T.21/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	1.2200	0.057	21.495	0.000	1.106	1.334	
Date[T.22/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0700	0.103	-0.682	0.499	-0.276	0.136	
Date[T.23/07/19]:ABA_levels[T.Group400]	-0.1400	0.103	-1.363	0.179	-0.346	0.066	
Date[T.29/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	-0.2567	0.103	-2.500	0.016	-0.463	-0.050	
Date[T.04/09/19]:ABA_levels[T.Group800]	-0.1200	0.103	-1.169	0.248	-0.326	0.086	
Date[T.08/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0033	0.103	-0.032	0.974	-0.210	0.203	
Date[T.12/09/19]:ABA_levels[T.Group800]	3.42e-16	2.15e-17	15.910	0.000	2.99e-16	3.85e-16	
Date[T.15/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0600	0.103	-0.584	0.562	-0.266	0.146	
Date[T.21/09/19]:ABA_levels[T.Group800]	1.2667	0.057	22.317	0.000	1.153	1.381	
Date[T.22/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0133	0.103	-0.130	0.897	-0.220	0.193	
Date[T.23/07/19]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0900	0.103	-0.877	0.385	-0.296	0.116	
Date[T.29/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	-0.1400	0.103	-1.363	0.179	-0.346	0.066	

=====

Omnibus:	1.472	Durbin-Watson:	2.239
Prob(Omnibus):	0.479	Jarque-Bera (JB):	0.841
Skew:	0.050	Prob(JB):	0.657
Kurtosis:	3.520	Cond. No.	4.18e+16

=====

Notes:

[1] Standard Errors assume that the covariance matrix of the errors is correctly specified.

[2] The smallest eigenvalue is 1.9e-32. This might indicate that there are strong multicollinearity problems or that the design matrix is singular.

=====

===== Normality Test =====

=====

Σύμφωνα με τον έλεγχο Shapiro μπορούμε να δεχθούμε ότι τα σφάλματα προέρχονται από κανονική κατανομή

==== D' Agostino ====

data looks normal according to D'Agostino test

===== Variance Homogeneity Test =====

=====

Σύμφωνα με τον έλεγχο Barlett μπορούμε να δεχθούμε ότι τα δεδομένα έχουν ίσες διακυμάνσεις

\*\*\*\*\*

=====

Two-way ANOVA results:

	sum_sq	df	F	PR(>F)
Date	277.343767	9.0	3897.330289	1.424231e-65
ABA_levels	0.003267	2.0	0.206569	8.140890e-01
Date:ABA_levels	69.750848	16.0	551.341674	5.522266e-48
Residual	0.379533	48.0	NaN	NaN

=====

Όπως φαίνεται από τα P-values του παραπάνω πίνακα ANOVA, η ανάλυση διακύμανσης μας δίνει σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0.05$  ότι:

- \* Η επίδραση του παράγοντα Date είναι στατιστικά σημαντική
- \* Η επίδραση του παράγοντα ABA\_levels δεν είναι στατιστικά σημαντική
- \* Η αλληλεπίδραση των παραγόντων Date και ABA\_levels είναι στατιστικά σημαντική

Για την ανάλυση των μετρήσεων Total\_Acid εκτελούμε διπαραγοντική ανάλυση  
διακύμανσης για τους παράγοντες  
Date και ABA\_levels.

=====

Regression Table

OLS Regression Results

=====

Dep. Variable: Total\_Acid R-squared: 0.986  
Model: OLS Adj. R-squared: 0.979  
Method: Least Squares F-statistic: 144.2  
Date: Tue, 29 Sep 2020 Prob (F-statistic): 1.04e-36  
Time: 13:41:22 Log-Likelihood: -92.990  
No. Observations: 72 AIC: 234.0  
Df Residuals: 48 BIC: 288.6  
Df Model: 23  
Covariance Type: nonrobust

=====

	coef	std err	t	P> t	[0.025	0.975]
Date[01/08/19]	9.8233	0.623	15.780	0.000	8.572	11.075
Date[04/09/19]	3.5733	0.623	5.740	0.000	2.322	4.825
Date[08/08/19]	5.9167	0.623	9.504	0.000	4.665	7.168
Date[12/09/19]	2.5467	0.623	4.091	0.000	1.295	3.798
Date[15/08/19]	5.8200	0.623	9.349	0.000	4.568	7.072
Date[21/09/19]	2.0378	0.587	3.472	0.001	0.858	3.218
Date[22/08/19]	4.4000	0.623	7.068	0.000	3.148	5.652
Date[23/07/19]	21.0967	0.623	33.890	0.000	19.845	22.348
Date[29/08/19]	3.6233	0.623	5.820	0.000	2.372	4.875
ABA_levels[T.Group400]	0.1733	0.880	0.197	0.845	-1.597	1.943
ABA_levels[T.Group800]	-0.9533	0.880	-1.083	0.284	-2.723	0.817
Date[T.04/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	-0.2500	1.245	-0.201	0.842	-2.753	2.253
Date[T.08/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	2.3067	1.245	1.853	0.070	-0.197	4.810

```

Date[T.12/09/19]:ABA_levels[T.Group400] -8.754e-16  4.26e-16  -2.055  0.045  -1.73e-15  -
1.89e-17
Date[T.15/08/19]:ABA_levels[T.Group400]  0.6767  1.245  0.543  0.589  -1.827  3.180
Date[T.21/09/19]:ABA_levels[T.Group400]  0.6589  0.688  0.957  0.343  -0.725  2.043
Date[T.22/08/19]:ABA_levels[T.Group400] -0.0067  1.245  -0.005  0.996  -2.510  2.497
Date[T.23/07/19]:ABA_levels[T.Group400]  4.9533  1.245  3.978  0.000  2.450  7.457
Date[T.29/08/19]:ABA_levels[T.Group400]  0.4533  1.245  0.364  0.717  -2.050  2.957
Date[T.04/09/19]:ABA_levels[T.Group800]  0.8000  1.245  0.643  0.524  -1.703  3.303
Date[T.08/08/19]:ABA_levels[T.Group800]  1.5333  1.245  1.232  0.224  -0.970  4.037
Date[T.12/09/19]:ABA_levels[T.Group800] -1.814e-15  2.61e-16  -6.960  0.000  -2.34e-15  -
1.29e-15
Date[T.15/08/19]:ABA_levels[T.Group800]  1.4567  1.245  1.170  0.248  -1.047  3.960
Date[T.21/09/19]:ABA_levels[T.Group800]  1.3789  0.688  2.004  0.051  -0.005  2.763
Date[T.22/08/19]:ABA_levels[T.Group800]  0.2533  1.245  0.203  0.840  -2.250  2.757
Date[T.23/07/19]:ABA_levels[T.Group800] 10.5233  1.245  8.452  0.000  8.020 13.027
Date[T.29/08/19]:ABA_levels[T.Group800]  0.8767  1.245  0.704  0.485  -1.627  3.380

```

```

=====
Omnibus:          38.677  Durbin-Watson:          2.145
Prob(Omnibus):    0.000  Jarque-Bera (JB):    193.307
Skew:             -1.397  Prob(JB):            1.06e-42
Kurtosis:         10.525  Cond. No.            4.18e+16
=====

```

Notes:

[1] Standard Errors assume that the covariance matrix of the errors is correctly specified.

[2] The smallest eigenvalue is 1.9e-32. This might indicate that there are strong multicollinearity problems or that the design matrix is singular.

=====

=====  
Normality Test  
=====

!!!!!! Σύμφωνα με τον έλεγχο Shapiro δεν μπορούμε να δεχθούμε ότι τα σφάλματα προέρχονται από κανονική κατανομή !!!!!

==== D' Agostino ====

data does not look normal according to D'Agostino test

===== Variance Homogeneity Test =====

=====

!!!!!! Σύμφωνα με τον έλεγχο Levene δεν μπορούμε να δεχθούμε ότι τα δεδομένα έχουν ίσες διακυμάνσεις !!!!!

Θα πραγματοποιηθεί ανάλυση διακύμανσης κατά τον Welch.

\*\*\*\*\*

=====

Two-way ANOVA results:

	sum_sq	df	F	PR(>F)
Date	2123.931333	9.0	202.992306	4.577147e-35
ABA_levels	2.208267	2.0	0.949737	3.939913e-01
Date:ABA_levels	157.423334	16.0	8.463125	9.282838e-09
Residual	55.803267	48.0	NaN	NaN

=====

Όπως φαίνεται από τα P-values του παραπάνω πίνακα ANOVA, η ανάλυση διακύμανσης μας δίνει σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0.05$  ότι:

- \* Η επίδραση του παράγοντα Date είναι στατιστικά σημαντική
- \* Η επίδραση του παράγοντα ABA\_levels δεν είναι στατιστικά σημαντική
- \* Η αλληλεπίδραση των παραγόντων Date και ABA\_levels είναι στατιστικά σημαντική

Για την ανάλυση των μετρήσεων Brix εκτελούμε διπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης για τους παράγοντες Date και ABA\_levels.

=====

Regression Table

OLS Regression Results

=====

Dep. Variable: Brix R-squared: 0.953  
 Model: OLS Adj. R-squared: 0.931  
 Method: Least Squares F-statistic: 42.57  
 Date: Tue, 29 Sep 2020 Prob (F-statistic): 1.72e-24  
 Time: 13:41:19 Log-Likelihood: -87.925  
 No. Observations: 72 AIC: 223.9  
 Df Residuals: 48 BIC: 278.5  
 Df Model: 23  
 Covariance Type: nonrobust

=====

	coef	std err	t	P> t	[0.025	0.975]
-----						
Date[01/08/19]	10.5000	0.580	18.096	0.000	9.333	11.667
Date[04/09/19]	17.1000	0.580	29.471	0.000	15.933	18.267
Date[08/08/19]	10.6333	0.580	18.326	0.000	9.467	11.800
Date[12/09/19]	17.5000	0.580	30.160	0.000	16.333	18.667
Date[15/08/19]	14.7667	0.580	25.450	0.000	13.600	15.933
Date[21/09/19]	12.2889	0.547	22.464	0.000	11.189	13.389
Date[22/08/19]	14.9333	0.580	25.737	0.000	13.767	16.100
Date[23/07/19]	6.4000	0.580	11.030	0.000	5.233	7.567
Date[29/08/19]	15.4333	0.580	26.599	0.000	14.267	16.600
ABA_levels[T.Group400]	-0.4333	0.821	-0.528	0.600	-2.083	1.217
ABA_levels[T.Group800]	-0.7000	0.821	-0.853	0.398	-2.350	0.950
Date[T.04/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	-0.4667	1.160	-0.402	0.689	-2.800	1.867
Date[T.08/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	0.6000	1.160	0.517	0.608	-1.733	2.933
Date[T.12/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	-2.908e-16	3.97e-16	-0.732	0.467	-1.09e-15	5.08e-16
Date[T.15/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	-0.5000	1.160	-0.431	0.668	-2.833	1.833
Date[T.21/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	5.9111	0.641	9.215	0.000	4.621	7.201
Date[T.22/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0667	1.160	-0.057	0.954	-2.400	2.267
Date[T.23/07/19]:ABA_levels[T.Group400]	-1.1333	1.160	-0.977	0.334	-3.467	1.200
Date[T.29/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	-0.1667	1.160	-0.144	0.886	-2.500	2.167
Date[T.04/09/19]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0667	1.160	-0.057	0.954	-2.400	2.267
Date[T.08/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	1.1667	1.160	1.005	0.320	-1.167	3.500
Date[T.12/09/19]:ABA_levels[T.Group800]	1.705e-15	2.43e-16	7.020	0.000	1.22e-15	2.19e-15

15

Date[T.15/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	-0.6333	1.160	-0.546	0.588	-2.967	1.700
Date[T.21/09/19]:ABA_levels[T.Group800]	6.3778	0.641	9.942	0.000	5.088	7.668
Date[T.22/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	0.7000	1.160	0.603	0.549	-1.633	3.033
Date[T.23/07/19]:ABA_levels[T.Group800]	0.4667	1.160	0.402	0.689	-1.867	2.800
Date[T.29/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	0.5667	1.160	0.488	0.628	-1.767	2.900

```
=====
Omnibus:          0.557  Durbin-Watson:          2.645
Prob(Omnibus):    0.757  Jarque-Bera (JB):          0.668
Skew:             0.044  Prob(JB):              0.716
Kurtosis:         2.536  Cond. No.               4.18e+16
=====
```

Notes:

[1] Standard Errors assume that the covariance matrix of the errors is correctly specified.

[2] The smallest eigenvalue is 1.9e-32. This might indicate that there are strong multicollinearity problems or that the design matrix is singular.

```
===== Normality Test =====
```

Σύμφωνα με τον έλεγχο Shapiro μπορούμε να δεχθούμε ότι τα σφάλματα προέρχονται από κανονική κατανομή

```
==== D' Agostino =====
```

data looks normal according to D'Agostino test

```
===== Variance Homogeneity Test =====
```

Σύμφωνα με τον έλεγχο Barlett μπορούμε να δεχθούμε ότι τα δεδομένα έχουν ίσες διακυμάνσεις

```
*****
```



=====  
Two-way ANOVA results:

	sum_sq	df	F	PR(>F)
Date	4815.366667	9.0	529.743308	7.106313e-45
ABA_levels	0.748889	2.0	0.370737	6.921845e-01
Date:ABA_levels	1631.722921	16.0	100.972953	1.213142e-30
Residual	48.480000	48.0	NaN	NaN

=====  
Όπως φαίνεται από τα P-values του παραπάνω πίνακα ANOVA, η ανάλυση διακύμανσης μας δίνει σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0.05$  ότι:

- \* Η επίδραση του παράγοντα Date είναι στατιστικά σημαντική
- \* Η επίδραση του παράγοντα ABA\_levels δεν είναι στατιστικά σημαντική
- \* Η αλληλεπίδραση των παραγόντων Date και ABA\_levels είναι στατιστικά σημαντική

Για την ανάλυση των μετρήσεων YAN\_Ammonium εκτελούμε διπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης για τους παράγοντες Date και ABA\_levels.

=====  
Regression Table

#### OLS Regression Results

=====  
Dep. Variable: YAN\_Ammonium R-squared: 0.006  
Model: OLS Adj. R-squared: -0.467  
Method: Least Squares F-statistic: 0.01321  
Date: Tue, 29 Sep 2020 Prob (F-statistic): 1.00  
Time: 13:41:24 Log-Likelihood: -146.05  
No. Observations: 63 AIC: 334.1  
Df Residuals: 42 BIC: 379.1  
Df Model: 20  
Covariance Type: nonrobust  
=====

	coef	std err	t	P> t	[0.025	0.975]	
-----							
Date[01/08/19]	1.9733	1.738	1.135	0.263	-1.534	5.481	
Date[04/09/19]	1.8033	1.738	1.038	0.305	-1.704	5.311	
Date[08/08/19]	1.9067	1.738	1.097	0.279	-1.601	5.414	
Date[12/09/19]	2.3600	1.738	1.358	0.182	-1.147	5.867	
Date[15/08/19]	2.2500	1.738	1.295	0.203	-1.257	5.757	
Date[21/09/19]	1.1400	1.505	0.757	0.453	-1.897	4.177	
Date[22/08/19]	2.3200	1.738	1.335	0.189	-1.187	5.827	
Date[24/09/19]	1.1300	1.505	0.751	0.457	-1.907	4.167	
Date[29/08/19]	2.0833	1.738	1.199	0.237	-1.424	5.591	
ABA_levels[T.Group400]	0.0733	2.458	0.030	0.976	-4.887	5.033	
ABA_levels[T.Group800]	0.0433	2.458	0.018	0.986	-4.917	5.003	
Date[T.04/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0767	3.476	-0.022	0.983	-7.091	6.938	
Date[T.08/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0733	3.476	-0.021	0.983	-7.088	6.941	
Date[T.12/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	-6.356e-16	9.52e-16	-0.668	0.508	-2.56e-15	1.28e-15	
Date[T.15/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0733	3.476	-0.021	0.983	-7.088	6.941	
Date[T.21/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	1.1400	1.505	0.757	0.453	-1.897	4.177	
Date[T.22/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0767	3.476	-0.022	0.983	-7.091	6.938	
Date[T.24/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	-2.255e-16	1.3e-15	-0.173	0.863	-2.85e-15	2.4e-15	
Date[T.29/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	-0.1033	3.476	-0.030	0.976	-7.118	6.911	
Date[T.04/09/19]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0467	3.476	-0.013	0.989	-7.061	6.968	
Date[T.08/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0367	3.476	-0.011	0.992	-7.051	6.978	
Date[T.12/09/19]:ABA_levels[T.Group800]	-3.101e-17	1.15e-16	-0.269	0.789	-2.64e-16	2.02e-16	
Date[T.15/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0133	3.476	-0.004	0.997	-7.028	7.001	
Date[T.21/09/19]:ABA_levels[T.Group800]	0	0	nan	nan	0	0	
Date[T.22/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0500	3.476	-0.014	0.989	-7.065	6.965	
Date[T.24/09/19]:ABA_levels[T.Group800]	1.1300	1.505	0.751	0.457	-1.907	4.167	
Date[T.29/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0500	3.476	-0.014	0.989	-7.065	6.965	
=====							
Omnibus:	73.451	Durbin-Watson:	2.934				
Prob(Omnibus):	0.000	Jarque-Bera (JB):	10.558				
Skew:	0.666	Prob(JB):	0.00510				
Kurtosis:	1.500	Cond. No.	3.07e+16				

=====  
Notes:

[1] Standard Errors assume that the covariance matrix of the errors is correctly specified.

[2] The smallest eigenvalue is 3.17e-32. This might indicate that there are strong multicollinearity problems or that the design matrix is singular.

=====  
Normality Test =====

!!!!!! Σύμφωνα με τον έλεγχο Shapiro δεν μπορούμε να δεχθούμε ότι τα σφάλματα προέρχονται από κανονική κατανομή !!!!!

==== D' Agostino =====

data does not look normal according to D'Agostino test

=====  
Variance Homogeneity Test =====

!!!!!! Σύμφωνα με τον έλεγχο Levene δεν μπορούμε να δεχθούμε ότι τα δεδομένα έχουν ίσες διακυμάνσεις !!!!!

Θα πραγματοποιηθεί ανάλυση διακύμανσης κατά τον Welch.

\*\*\*\*\*

=====  
Two-way ANOVA results:

	sum_sq	df	F	PR(>F)
Date	93.672967	9.0	1.148643	0.351898
ABA_levels	0.008156	2.0	0.000450	0.999550
Date:ABA_levels	28.725363	16.0	0.198134	0.997853
Residual	380.571333	42.0	NaN	NaN

=====

Όπως φαίνεται από τα P-values του παραπάνω πίνακα ANOVA, η ανάλυση διακύμανσης μας δίνει σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0.05$  ότι:

- \* Η επίδραση του παράγοντα Date δεν είναι στατιστικά σημαντική
- \* Η επίδραση του παράγοντα ABA\_levels δεν είναι στατιστικά σημαντική
- \* Η αλληλεπίδραση των παραγόντων Date και ABA\_levels δεν είναι στατιστικά σημαντική

Οι παράγοντες Date και ABA\_levels δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντική επίδραση

-----

Για την ανάλυση των μετρήσεων YAN\_Aminoacid εκτελούμε διπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης για τους παράγοντες Date και ABA\_levels.

=====

#### Regression Table

##### OLS Regression Results

=====

Dep. Variable:	YAN_Aminoacid	R-squared:	0.322
Model:	OLS	Adj. R-squared:	-0.001
Method:	Least Squares	F-statistic:	0.9970
Date:	Tue, 29 Sep 2020	Prob (F-statistic):	0.485
Time:	13:41:23	Log-Likelihood:	-31.115
No. Observations:	63	AIC:	104.2
Df Residuals:	42	BIC:	149.2
Df Model:	20		
Covariance Type:	nonrobust		

=====

	coef	std err	t	P> t	[0.025	0.975]
Date[01/08/19]	0.8067	0.280	2.877	0.006	0.241	1.372
Date[04/09/19]	0.0267	0.280	0.095	0.925	-0.539	0.592
Date[08/08/19]	0.8267	0.280	2.948	0.005	0.261	1.392
Date[12/09/19]	0.2067	0.280	0.737	0.465	-0.359	0.772

Date[15/08/19]	0.5467	0.280	1.950	0.058	-0.019	1.112	
Date[21/09/19]	0.1783	0.243	0.734	0.467	-0.312	0.668	
Date[22/08/19]	0.4433	0.280	1.581	0.121	-0.122	1.009	
Date[24/09/19]	0.1383	0.243	0.570	0.572	-0.352	0.628	
Date[29/08/19]	0.1900	0.280	0.678	0.502	-0.376	0.756	
ABA_levels[T.Group400]	-0.1133	0.397	-0.286	0.776	-0.914	0.687	
ABA_levels[T.Group800]	-0.1133	0.397	-0.286	0.776	-0.914	0.687	
Date[T.04/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	0.1233	0.561	0.220	0.827	-1.008	1.255	
Date[T.08/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	-0.0833	0.561	-0.149	0.883	-1.215	1.048	
Date[T.12/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	-3.476e-17	1.54e-16	-0.226	0.822	-3.45e-16		
	2.75e-16						
Date[T.15/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	0.3633	0.561	0.648	0.521	-0.768	1.495	
Date[T.21/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	0.1783	0.243	0.734	0.467	-0.312	0.668	
Date[T.22/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	0.3100	0.561	0.553	0.583	-0.822	1.442	
Date[T.24/09/19]:ABA_levels[T.Group400]	-2.016e-17	2.1e-16	-0.096	0.924	-4.44e-16	4.03e-16	
Date[T.29/08/19]:ABA_levels[T.Group400]	0.3400	0.561	0.606	0.548	-0.792	1.472	
Date[T.04/09/19]:ABA_levels[T.Group800]	0.1467	0.561	0.262	0.795	-0.985	1.278	
Date[T.08/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	0.1100	0.561	0.196	0.845	-1.022	1.242	
Date[T.12/09/19]:ABA_levels[T.Group800]	-1.211e-17	1.86e-17	-0.651	0.519	-4.97e-17		
	2.54e-17						
Date[T.15/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	0.2467	0.561	0.440	0.662	-0.885	1.378	
Date[T.21/09/19]:ABA_levels[T.Group800]	0	0	nan	nan	0	0	
Date[T.22/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	-0.0600	0.561	-0.107	0.915	-1.192	1.072	
Date[T.24/09/19]:ABA_levels[T.Group800]	0.1383	0.243	0.570	0.572	-0.352	0.628	
Date[T.29/08/19]:ABA_levels[T.Group800]	0.3167	0.561	0.565	0.575	-0.815	1.448	

```
=====
```

Omnibus:	1.988	Durbin-Watson:	3.014
Prob(Omnibus):	0.370	Jarque-Bera (JB):	1.967
Skew:	-0.388	Prob(JB):	0.374
Kurtosis:	2.618	Cond. No.	3.07e+16

```
=====
```

Notes:

[1] Standard Errors assume that the covariance matrix of the errors is correctly specified.

[2] The smallest eigenvalue is 3.17e-32. This might indicate that there are strong multicollinearity problems or that the design matrix is singular.

=====

===== Normality Test =====

=====

!!!!!! Σύμφωνα με τον έλεγχο Shapiro δεν μπορούμε να δεχθούμε ότι τα σφάλματα προέρχονται από κανονική κατανομή !!!!!

==== D' Agostino ====

data looks normal according to D'Agostino test

===== Variance Homogeneity Test =====

=====

!!!!!! Σύμφωνα με τον έλεγχο Levene δεν μπορούμε να δεχθούμε ότι τα δεδομένα έχουν ίσες διακυμάνσεις !!!!!

Θα πραγματοποιηθεί ανάλυση διακύμανσης κατά τον Welch.

\*\*\*\*\*

=====

Two-way ANOVA results:

	sum_sq	df	F	PR(>F)
Date	6.452100	9.0	3.039859	0.006869
ABA_levels	0.025689	2.0	0.054464	0.947059
Date:ABA_levels	0.758041	16.0	0.200894	0.997706
Residual	9.905000	42.0	NaN	NaN

=====

Όπως φαίνεται από τα P-values του παραπάνω πίνακα ANOVA, η ανάλυση διακύμανσης μας δίνει σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0.05$  ότι:

\* Η επίδραση του παράγοντα Date είναι στατιστικά σημαντική

\* Η επίδραση του παράγοντα ABA\_levels δεν είναι στατιστικά σημαντική

\* Η αλληλεπίδραση των παραγόντων Date και ABA\_levels δεν είναι στατιστικά σημαντική  
400mg/L ABA και 800mg/L ABA, είναι διαφορετικά  
ως προς Fruit\_flavors, είναι άνω του 50%

\* Δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές ενδείξεις σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05 για να

απορρίψουμε την υπόθεση ότι το ποσοστό των συμφωνούντων πως τα κρασιά 400mg/L ABA και 800mg/L ABA, είναι διαφορετικά  
ως προς Herb\_flavors, είναι άνω του 50%

\* Δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές ενδείξεις σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05 για να

απορρίψουμε την υπόθεση ότι το ποσοστό των συμφωνούντων πως τα κρασιά 400mg/L ABA και 800mg/L ABA, είναι διαφορετικά  
ως προς Blossom\_flavors, είναι άνω του 50%

\* Δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές ενδείξεις σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05 για να

απορρίψουμε την υπόθεση ότι το ποσοστό των συμφωνούντων πως τα κρασιά 400mg/L ABA και 800mg/L ABA, είναι διαφορετικά  
ως προς General\_impression, είναι άνω του 50%