

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΣΥΝΔΥΑΣΜΩΝ ΥΠΟΚΕΙΜΕΝΩΝ-ΚΛΩΝΩΝ ΣΤΟ
ΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΦΟΡΤΙΟ ΓΙΓΑΡΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΙΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΡΟΜΠΟΛΑΣ
ΚΕΦΑΛΟΝΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΤΩΝ

ΜΑΓΓΟΥΡΕΤΣΙΟΥ ΜΑΡΘΑ & ΗΡΑΚΛΕΙΔΟΥ ΜΑΡΓΑΡΙΤΑ

Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

Σχολή Περιβάλλοντος

ΙΟΝΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ



Αργοστόλι Κεφαλληνίας

Οκτώβριος 2022

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΣΥΝΔΥΑΣΜΩΝ ΥΠΟΚΕΙΜΕΝΩΝ-ΚΛΩΝΩΝ ΣΤΟ
ΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΦΟΡΤΙΟ ΓΙΓΑΡΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΙΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΡΟΜΠΟΛΑΣ
ΚΕΦΑΛΟΝΙΑΣ

Η πτυχιακή εργασία εγκρίθηκε από :

Η επιβλέπουσα Κατσαλήρου Ειρήνη

Μέλος της επιτροπής Μήλλα Σωτηρία

,

Μέλος της επιτροπής Γεράκης Αργύριος

Δηλώνουμε υπεύθυνα ότι η διπλωματική εργασία είναι εξ' ολοκλήρου δικό μας έργο και κανένα μέρος της δεν είναι αντιγραμμένο από έντυπες ή ηλεκτρονικές πηγές, μετάφραση από ξενόγλωσσες πηγές και αναπαραγωγή από εργασίες άλλων ερευνητών ή φοιτητών. Όπου έχει βασιστεί σε ιδέες ή κείμενα άλλων, έχουμε προσπαθήσει με όλες μας τις δυνάμεις να τα προσδιορίσουμε σαφώς μέσα από την καλή χρήση αναφορών ακολουθώντας την ακαδημαϊκή δεοντολογία και την αποφυγή λογοκλοπής.

Περίληψη

Οι φαινολικές ενώσεις του κρασιού κατέχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες, κάτι που τις καθιστά πολύτιμα συστατικά της διατροφής. Εκτός από το ίδιο το κρασί και τα στέμφυλα, παραπροϊόντα της οινοποίησης, περιέχουν σημαντική ποσότητα φαινολικών ενώσεων. Στην παρούσα πτυχιακή εργασία, μελετάται η διαφοροποίηση στη συγκέντρωση ολικών φαινολών, όπως προσδιορίστηκαν με την μέθοδο Folin Ciocalteu, σε γίγαρτα σταφυλιών από διαφορετικούς συνδυασμούς υποκείμενων κλώνων της ποικιλίας Ρομπόλας Κεφαλονιάς. Τα αποτελέσματα από την σύγκριση μεταξύ των διαφορετικών συνδυασμών υποκείμενων-κλώνων ρομπόλας έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις ολικών φαινολών στα γίγαρτα δεν είχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ τους.

Λέξεις κλειδιά: Φαινολικές ενώσεις, υποκείμενο, κλώνος, Folin Ciocalteu.

Abstract

The phenolic compounds of wine possess antioxidant properties, which makes them valuable components of the diet. Apart from the wine itself and the grapes, by-products of winemaking, they contain a significant amount of phenolic compounds. In this thesis, the variation in the concentration of total phenols, as determined by the Folin Ciocalteu method, in grape marc from different combinations of underlying clones of the Robola Kefalonia variety is studied. Results from the comparison between the different rootstock-robola clone combinations showed that the concentrations of total phenols in grape seeds had no statistically significant differences between them.

Keywords: Phenolic Compounds, clone, ungrafted,

Πίνακας Περιεχομένων

Σελίδα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
---------------	---

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι

1.1. Βιβλιογραφική ανασκόπηση.....	10
1.1.1 Φαινολικές ενώσεις σε σταφύλια και οίνους.....	10
1.1.2 Αξιοποίηση παραπροϊόντων οινοποιείου.....	11
1.1.3 Ο φλοιός του σταφυλιού.....	12
1.1.4 Γίγαρτα και μίσχοι.....	13
1.2 Ρομπόλα.....	14
1.3. Αντιοξειδωτικές ουσίες.....	15
1.3.1 Αντιοξειδωτικές ουσίες και μηχανισμός δράσης τους.....	15
1.3.2 Αντιοξειδωτική δράση	15
1.3.3 Αντιοξειδωτική δράση φαινολικών ουσιών	17
1.3.4 Αντιοξειδωτική δράση φαινολών του φλοιού και των σπόρων σταφυλιών.....	17
1.4. Παραπροϊόντα γιγάρτων	19
1.4.1 Γίγαρτα σταφυλιού, έλαιο γιγάρτων σταφυλιού	19
1.4.2 Έλαιο γιγάρτων (μαγειρική).....	19
1.4.3 Έλαιο γιγάρτων κοσμετολογία	20
1.4.4 Αντιοξειδωτικά (ιατρική).....	20
1.4.5 Βιοκαύσιμα λιπαντικά.....	20
1.5. Μέθοδοι μέτρησης φαινολικών	22
1.5.1 Ανάκτηση φαινολικών με εκχύλιση.....	22
1.5.2 Μέθοδος Folin Ciocaltu.....	23

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙ

Υλικά και μέθοδοι	24
2.1 Ο πειραματικός αμπελώνας.....	24
2.1.1 Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων.....	24
2.1.2 Διαλύματα	25

2.1.3 Όργανα	26
2.2 Προετοιμασία δειγμάτων.....	26
2.3 Προσδιορισμός ολικών φαινολών στα γίγαρτα.....	26
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ	
Αποτελέσματα – Συζήτηση.....	28
3.1 Αποτελέσματα στατιστικών δεδομένων του έτους 2018.....	28
3.2 Αποτελέσματα στατιστικών δεδομένων του έτους 2019.....	29
3.3 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	33
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	34

Εισαγωγή

Φαινολικές ενώσεις υπάρχουν παντού στα τρόφιμα φυτικής προέλευσης και επομένως αποτελούν αναπόσπαστο μέρος της ανθρώπινης διατροφής. Πρόσφατα διαπιστώθηκε ότι οι φαινολικές ενώσεις εμπλέκονται στην μείωση εκφυλιστικών διαδικασιών όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις και ο καρκίνος (Pinelo et al., 2006).

Το κρασί είναι μια εξαιρετική πηγή των διαφόρων κατηγοριών φαινολικών ενώσεων. Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες σχετίζονται με την περιεκτικότητα σε φλαβόνες, ανθοκυάνες και ταννικό οξύ αν και πιστεύεται ότι οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες συνδυάζονται με την συνολική συγκέντρωση σε φαινολικές ενώσεις παρά σε κάποια μεμονωμένη (Makris et al., 2003).

Η παραλαβή των φαινολικών συστατικών από τα σταφύλια εξαρτάται φυσικά από τη σύστασή τους αλλά και από την ικανότητα της ράγας να συσσωρεύει φαινολικές ενώσεις, την προζυμωτική εκχύλιση, το βαθμό έκθλιψης, το χρόνο επαφής χυμού και στερεών, τη θερμοκρασία ζύμωσης, τη θείωση του γλεύκους, τον αριθμό και τις μεθόδους ανακύκλωσης και διαβροχής, και την παρουσία αιθανόλης (Makris et al., 2003).

Αμπελουργικές και οινολογικές έρευνες έχουν δείξει ότι η διακύμανση των καιρικών συνθηκών μεταξύ ακραίων τιμών σε ημερήσια βάση, όπως οι μέγιστες και ελάχιστες θερμοκρασίες, η ταχύτητα του ανέμου, η υγρασία και η βροχόπτωση, μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τη φυσιολογία και τα στάδια ανάπτυξης των φυτών. Αυτές οι επιδράσεις μπορούν τελικά να οδηγήσουν σε σημαντικές μεταβολές της φαινολογίας της αμπέλου, επηρεάζοντας έτσι τα στάδια ανάπτυξης, όπως την εμφάνιση των φύλλων, την ανθοφορία, την ωρίμανση και τη συγκομιδή. Οι αλλαγές στη φαινολογία, με τη σειρά τους, συνήθως οδηγούν σε αλλαγές στη σύσταση των

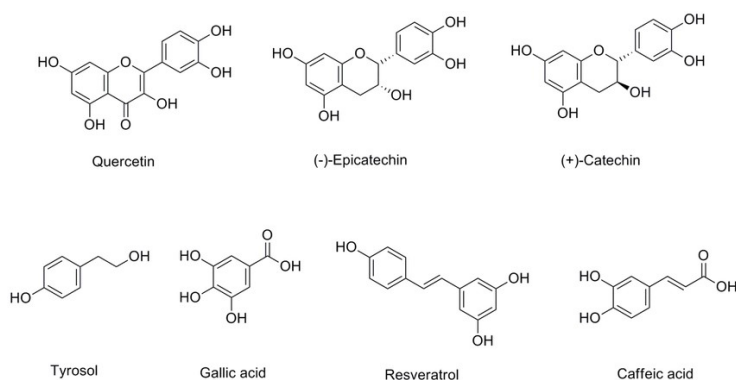
ραγών και του μούστου για παράδειγμα στην περιεκτικότητα σε σάκχαρα και στη σύνθεση άλλων κύριων συστατικών, όπως των οξέων, φαινολών και ορισμένων πρόδρομων αρωματικών ενώσεων. Η μεταβολή στη χημική σύσταση του σταφυλιού συνεπάγεται τη μεταβολή των ποιοτικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του, γεγονός που θα οδηγήσει σε αρκετές περιπτώσεις, σε επανέλεγχο των καλλιεργητικών τεχνικών, αλλά και επαναπροσδιορισμό της παραγωγικής διαδικασίας, της ποσότητας του καρπού που διατίθεται στην αγορά και του σκοπού για τον οποίο διατίθεται. Σκοπός της εργασίας είναι η διερεύνηση της επίδρασης διαφορετικών συνδυασμών υποκείμενων-κλώνων (βιότυπων) ρομπόλας στο φαινολικό φορτίο των γιγάρτων των στέμφυλων τους.

1.1 Βιβλιογραφική ανασκόπηση

1.1.1 Φαινολικές ενώσεις σε σταφύλια και οίνους

Φαινολικές καλούνται οι αρωματικές ενώσεις που περιέχουν στο μόριό τους τη χαρακτηριστική ομάδα της φαινόλης (Σχ. 1). Στους οίνους υπάρχουν διάφορες οικογένειες φαινολικών ενώσεων τα φαινολικά οξέα, οι φλαβόνες, οι ανθοκυάνες και οι τανίνες. Τα συστατικά αυτά είναι υπεύθυνα για το χρώμα των οίνων, συμμετέχουν στη διαμόρφωση ορισμένων γευστικών χαρακτηριστικών (στυφάδα, τραχύτητα), προσφέρουν στους οίνους αντιβακτηριδιακή και αντιοξειδωτική προστασία και παίζουν αποφασιστικό ρόλο στην παλαίωση και τις διάφορες τεχνολογικές κατεργασίες (Σουφλερός, 1995).

Η μελέτη των φαινολικών συστατικών έχει μεγάλη σπουδαιότητα για την Οινολογία, εξαιτίας του σημαντικού οργανοληπτικού τους ρόλου. Είναι η κύρια πηγή του χρώματος των οίνων, αλλά και της στυφής αίσθησης και άρα υπεύθυνες για της διαφορές χρώματος και γεύσης μεταξύ των. Η φύση έχει απασχολήσει πολλούς ερευνητές.



Σχήμα 1: Τύποι μερικών φαινολικών ενώσεων (Διαδίκτυο)

https://www.researchgate.net/figure/Representative-examples-of-wine-phenolic-compounds-with-biological-activities_fig1_320051118/download

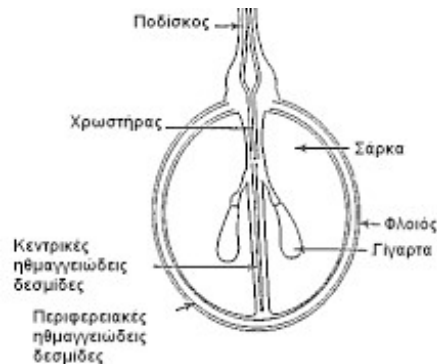
Τα ερυθρά κρασιά περιέχουν φαινόλες σε σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις από τα λευκά κρασιά (Πίν. 1). Εξαίρεση αποτελούν τα οξέα γεντιστικό και φερουλικό. Σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις τους τελευταίας ενώσεις είναι χαρακτηριστικό του κρασιού Riesling. Κατά την ωρίμανση του λευκού κρασιού, οι τανικοί παράγοντες πολυμερίζονται με δύο τρόπους και γίνονται αδιάλυτες μειώνοντας την στυφή τους γεύση.

Πίνακας 1: Φαινόλες σε λευκό και ερυθρό οίνο.(Schieberle et al., 2011)

Ένωση (mg/L)	Λευκός οίνος	Ερυθρός οίνος
Γεντιστικό οξύ	0,15–1,07	0,44 – 0,46
Βανιλλικό οξύ	0,09–0,38	2,3 – 3,7
Φερουλικό οξύ	0,05–4,40	0,05- 2,9
p-Κουμαρικό οξύ	1,57–3,20	2,6-4,5
Καφεϊκό οξύ	1,50–5,20	3,15 – 13
Γαλλικό οξύ	0,50–2,80	13 – 30
Cis-Ρεσβερατρόλη	<0.10	0,27 – 0,88
Trans-Ρεσβερατρόλη	<0.25	0,71 – 2,5
Cis-Πολυδατίνη	-	0,02- 0,68
Trans-Πολυδατίνη	-	0,02 – 0,98
(+)-Κατεχίνη	3,8 – 4,20	60 – 213
(-)-Κατεχίνη	1,7 – 3,8	25 -82
Κουερσετίνη	-	0,5 – 2,6

1.1.2 Αξιοποίηση παραπροϊόντων οινοποιείου

Όταν τα σταφύλια υποβάλλονται σε επεξεργασία για την παραγωγή οίνου, οι φλούδες και οι σπόροι μπορεί να βρίσκονται σε επαφή με το γλεύκος για αρκετές ημέρες (συνήθως στους ερυθρούς οίνους). Υπόκεινται έτσι σε μα ήπια αλλά παρατεταμένη αιθανολική εξόρυξη παρέχοντας στο κρασί υψηλή περιεκτικότητα σε φαινόλες. Παρόλα αυτά τα κατάλοιπα που μένουν μετά την ζύμωση, δηλαδή οι φλούδες, οι σπόροι και οι μίσχοι εξακολουθούν να περιέχουν υψηλά επίπεδα πολύφαινολών με τις περισσότερες να διατηρούνται στο κεντρικό μέρος της φλούδας (Pinelo et al., 2006).



Σχήμα 2: Δομή σταφυλιού (Διαδίκτυο)
 (<http://.../Desktop/%CE%94%CE%BF%CE%BC%CE%AE%20%CF%83%CF%84%CE%B1%CF%86%CF%85%CE%BB%CE%B9%CE%BF%CF%8D.pdf>)

1.1.3 Ο φλοιός του σταφυλιού

Σε γενικές γραμμές παρόλο που η φαινολική σύνθεση μπορεί έντονα να διαφέρει ανάλογα με την ποικιλία και τις συνθήκες καλλιέργειας, η φλούδα περιέχει το υψηλότερο ποσοστό των τανινών στο σταφύλι. Οι τανίνες διαφέρουν στα σταφύλια λόγω υψηλού βαθμού πολυμερισμού και χαμηλού ποσοστού των εστέρων του γαλλικού οξέος. Κατεχίνη, επικατεχίνη και γαλλική επικατεχίνη είναι τα συστατικά της τανίνης. Οι ανθοκυανίνες στην φλούδα των σταφυλιών είναι υπεύθυνες για το κόκκινο χρώμα σταφυλιών και κρασιού. Η κερκετίνη, οι γλυκοζίτες, τα γλυκουρονίδια, το γαλλικό οξύ και η ρεσβερατρόλη ολοκληρώνουν την φαινολική σύσταση του φλοιού. Ο φλοιός αντιπροσωπεύει περίπου το 10% του συνολικού ξηρού βάρους των σταφυλιών και ενεργεί ως υδρόφοβο εμπόδιο για την προστασία τους από φυσικούς και τραυματισμούς κλιματολογικούς, αφυδάτωση, μυκητιασική

λοιμώξη και υπεριώδες φως. Μπορεί να διαιρεθεί σε τρία στρώματα: Το πρώτο στρώμα είναι η επιδερμίδα που καλύπτεται από υδροξυλιωμένα λιπαρά οξέα , το δεύτερο στρώμα είναι η ενδιάμεση επιδερμίδα και το τρίτο στρώμα είναι το εσωτερικό στρώμα, το υποδερμικό που βρίσκεται πλησιέστερα προς τον πολτό (Arnous et al., 2009).

Πίνακας 2. Φαινολικές ενώσεις στα σταφύλια (Pinelo et al., 2006).

Ένωση (mg/g)	Στέμφυλα	Φλοιός	Σπόρια	Μίσχος
Γαλλικό οξύ	0,3-0,11	0,03	0,10-0,11	-
Κουταρικό οξύ	0-1,23	0,03-1,23	-	-
Καφταρικό οξύ	0-6,97	0,11-6,97	-	0,04
Κατεχίνη	0-0,18	0-0,16	2,14-2,15	0,06
Επικατεχίνη	0-0,16	0-0,13	0,88-0,91	0,28
Επικατεχίνη-3-γαλλική	0-0,03	0,04	0,25-0,31	0,07
Ταννίνες	0,22-2,32	1,61	3,56-6,15	0,22-0,89
Ολικές φλαβαν-3-όλες	0,34-4,25	0,12-3,38	3,56-6,15	0,22-0,89
Ολικές ανθοκυανίνες	11,47-29,82	11,47-29,82	-	-
Ολικές φλαβονόλες	0,03-0,63	0,48-0,63	0,02-0,05	0,022

1.1.4 Γιγάρτα και Μίσχοι

Οι ταννίνες των γιγάρτων έχουν την ίδια συστατική μονάδα όπως οι ταννίνες του φλοιού, αλλά βρίσκονται σε μονομερή μορφή και όχι πολυμερισμένες. Η ποσότητα τους μειώνεται εντυπωσιακά στο στάδιο της ωρίμανσης. Το επίπεδο εστέρων του γαλλικού οξέος στους σπόρους είναι 30% υψηλότερο από εκείνο του φλοιού και των μίσχων. Οι μίσχοι είναι επίσης μια καλή πηγή φαινολών. Οι οίνοι από ολόκληρα σταφύλια γενικά περιέχουν υψηλότερα επίπεδα φαινολικών ενώσεων, απ' αυτούς που παρασκευάζονται μόνο από ράγες σταφυλιών (Pinelo et al., 2006).

1.2 Ρομπόλα

Συνώνυμα της ποικιλίας αυτής είναι Ρομπόλα κέρινη, Ρομπόλα άσπρη, Ασπρορομπόλα. Προέρχεται από την περιοχή της Βενετίας απ' όπου εισήχθη κατά τον Μεσαίωνα. Καλλιεργείται κυρίως στην Κεφαλονιά και σποραδικά στη Ζάκυνθο, Λευκάδα, Πρέβεζα και Αρκαδία. Αμπελογραφικά έχει φύλλα μέτριου έως μεγάλου μεγέθους, τρίλοβο, σχεδόν κυκλικό. Άνω επιφάνεια φύλλου πράσινη, λεία η κάτω καλυμμένη με λεπτά τριχίδια. Μισχικός κόλπος σχήματος V. Σταφύλι μέτριου έως μεγάλου μεγέθους, κυλινδρικό μέσης πυκνότητας. Ράγα (Σχ. 3) μέτριου μεγέθους, σφαιρική. Φλοιός παχύς κιτρινόλευκος - χρυσός, πλούσιος σε ταννοειδείς ύλες. Επιδερμίδα διαφανής. Σάρκα μαλακή, χυμώδης αρωματική με ιδιάζουσα γεύση. Λευκή ποικιλία, ζωηρή, μέσης πρωιμότητας (τέλη Αυγούστου η πλήρης ωρίμανση), παραγωγική. Μορφώνεται σε κυπελλοειδές σχήμα και δέχεται κλάδεμα βραχύ. Πολύτιμη ποικιλία αμπέλου, μπορεί να αξιοποιήσει εδάφη φτωχά και ξηρά και να δώσει προϊόντα ανώτερης ποιότητας («ρομπόλα Κεφαλληνίας» είναι οίνος ονομασίας προέλευσης ανώτερης ποιότητας).



Σχήμα 3: Δείγματα ραγών από τους αμπελώνες ομαλών.

1.3 Αντιοξειδωτικές ουσίες

1.3.1 Αντιοξειδωτικές ουσίες και μηχανισμός δράσης τους

Ουσίες που προστίθενται στα τρόφιμα ώστε να επιβραδύνουν την οξείδωση και να κρατήσουν τα τρόφιμα εύληπτα για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Μια αντιοξειδωτική ουσία πρέπει να συνδυάζει τις εξής ιδιότητες:

- α) Να είναι αποτελεσματική σε πολύ μικρή ποσότητα
- β) Να μην έχει καμία βλαβερή επίδραση στην υγεία του ανθρώπου
- γ) Να μην προσδίδει στο τρόφιμο δυσάρεστη οσμή και γεύση
- δ) Να είναι όσο γίνεται σταθερή στα διάφορα στάδια επεξεργασίας του τροφίμου (Μπόσκου και συν., 1986).

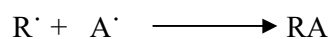
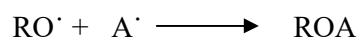
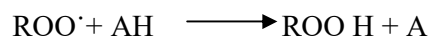
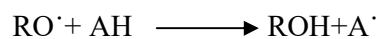
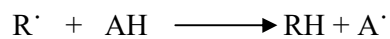
Τα πιο γνωστά αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται στην τεχνολογία των τροφίμων είναι:

- 1) Η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA), μίγμα δυο ισομερών της 2-τρι-βούτυλο-4- μεθυλοφαινόλης και της 3-τρι-βούτυλο-4- μεθοξυφαινόλης
- 2) Το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT): 2,6-δι-τρι-βούτυλο-παρακρεσόλη
- 3) Εστέρες του γαλλικού οξέος, όπως ο προπυλικός, οοκτυλικός και ο δωδεκυλικός
- 4) Η δι-τρι-βούτυλο-υδροκίνη (TBHQ) (Μπόσκου και συν., 1986).

1.3.2 Αντιοξειδωτική δράση

Στις μέρες μας η έρευνα σχετικά με την αντιοξειδωτική δράση των δευτερογενών μεταβολιτών έχει επικεντρωθεί, τόσο σε βιολογικό επίπεδο, όσο και στον τομέα των τροφίμων. Ως αντιοξειδωτικά ορίζονται οι ουσίες που έχουν την ικανότητα να επιβραδύνουν ή να αποτρέπουν την οξείδωση άλλων ουσιών. Ως οξείδωση ορίζεται η χημική αντίδραση κατά την οποία παρατηρείται μεταφορά ηλεκτρονίων από μια ουσία σε ένα οξειδωτικό σώμα. Οι οξειδωτικές αντιδράσεις παράγουν ελεύθερες ρίζες, οι οποίες έχουν την ικανότητα να καταστρέψουν τα κύτταρα. Τα αντιοξειδωτικά σταματούν αυτές τις αλυσιδωτές αντιδράσεις απομακρύνοντας τις ενδιάμεσες ελεύθερες ρίζες, και αναστέλλοντας άλλες αντιδράσεις οξείδωσης με το να οξειδώνονται αυτά (Karvela et al., 2011). Τα αντιοξειδωτικά κατηγοριοποιούνται σε δύο βασικές ομάδες, πρωτογενή (αυτά που σταματούν την αντίδραση της οξείδωσης) και δευτερογενή (αυτά που την προλαμβάνουν).

Τα φαινολικά αντιοξειδωτικά δρουν μέσω του μηχανισμού των ελευθέρων ριζών. Αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες και σχηματίζουν ενώσεις που δεν έχουν την τάση να δίνουν νέες ελεύθερες ρίζες, όπως φαίνεται παρακάτω:



Η δράση των φαινολικών αντιοξειδωτικών αυξάνεται όταν χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται συνέργεια ή συνεργισμός (synergism-synergistic) (Μπόσκου, 1986).

1.3.3 Αντιοξειδωτική δράση φαινολικών ουσιών

Η αντιοξειδωτική δράση των φαινολικών ουσιών στους διάφορους οίνους είναι ανάλογη με την περιεκτικότητά τους όπως φαίνεται και στον παρακάτω πίνακα 3.

Πίνακας 3. Ολικές φαινόλες και η αντιοξειδωτική τους δράση σε διάφορους οίνους. Οι τιμές του πίνακα σε mg/L εκφρασμένες ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος (Minussi et al., 2003).

Οίνος	Ολικές φαινόλες	Αντιοξειδωτική δράση (mg/L)
Chardonnay (λευκός)	216	103
Carbenet Blanc (λευκός)	256	121
Blended (λευκός)	347	172
Riesling (λευκός)	353	165
Verdicchio (λευκός)	610	152
Greco di Tub (λευκός)	854	178
Blended (ροζέ)	1304	284
Blended (ερυθρός)	1947	808
Pinot (ερυθρός)	1984	807
Cabernet Sauvignon (ερυθρός)	2133	859
Barbera (ερυθρός)	3314	625
Montepuliciano (ερυθρός)	4177	868

1.3.4 Αντιοξειδωτική δράση φαινολών του φλοιού και των σπόρων σταφυλιών

Οι φαινολικές ουσίες που συναντάμε στα σταφύλια όπως ήδη έχει αναφερθεί σε μεγάλο ποσοστό τις συναντάμε στον φλοιό τους και στα σπόρια τους. Η αντιοξειδωτική τους δράση προσδιορίζεται με τις μεθόδους DPPH ή και ABTS και χαρακτηριστικά αποτελέσματα για διάφορες ποικιλίες σταφυλιών παρουσιάζονται στον πίνακα 4 (Xu et al., 2010).

Πίνακας 4. Αντιοξειδωτική δράση φαινολών του φλοιού και του σπόρου του σταφυλιού, τα αποτελέσματα είναι σε μονάδες μέτρησης mg/L. (Xu et al., 2010).

Ποικιλία	Φλοιός (DPPH)	Φλοιός (ABTS)	Σπόροι (DPPH)	Σπόροι (ABTS)
Black pearl	187	368	65	78
Sangye	275	507	107	164
Purple grape	136	168	52	76
Zuosanyi	152	192	97	120
Shuangyou	96	97	95	154
Kyoho	138	170	244	349
Cabrnet	132	206	422	649
Noble	310	438	310	438
Fry	156	252	408	620

Μέθοδος DPPH (1,1 ΔΙΦΑΙΝΥΛΟ-2-ΠΙΚΡΟΛΟΥΔΡΑΖΥΛΟ)

Αρχή της μεθόδου: Οι φαινολικές ουσίες δεσμευτούν την ελεύθερη ρίζα DPPH και η μείωση της ελέγχεται με την μείωση απορρόφησης στα 157 nm. Το χρώμα από μωβ στο αρχικό διάλυμα μετατρέπεται σε κίτρινο, όταν όλο το ποσό της ελεύθερης ρίζας DPPH έχει δεσμευτεί από τις αντιοξειδωτικές ουσίες.

Μέθοδος ABTS (2,2 –αιθυλοβενζοθειαζολινο) -6-σουλφονικο οξύ.

Αρχή της μεθόδου: Η μέθοδος στηρίζεται στον αποχρωματισμό του ριζικού κατιόντος ABTS⁺, ο οποίος προκαλείται με την προσθήκη ενός δείγματος που περιέχει φαινολικό παράγοντα, λόγω της απομάκρυνσης των ελεύθερων ριζών.

1.4. Παραπροϊόντα Γιγάρτων

1.4.1 Γίγαρτα σταφυλιού, έλαιο γιγάρτων σταφυλιού

Το έλαιο από τα γίγαρτα του σταφυλιού (ονομάζεται και έλαιο σταφυλιού), προκύπτει από τη ψυχρή σύνθλιψη τους και όπως είναι αντιληπτό πρόκειται για ένα παραπροϊόν της οινοποίησης που είναι σε αφθονία. Τα γίγαρτα περιέχουν φλαβονοειδή (κατεχίνη, επικατεχίνη, προκυανίνες και ανθοκυανίνες), φαινολικά οξέα (γαλλικό οξύ και το ελλαγικό οξύ) και στιλβένια (ρεσβερατρόλη και piceid). Η αντιοξειδωτική τους δράση μπορεί να είναι τόσο σημαντική όσο και αυτή της βιταμίνης E, μειώνοντας την οξείδωση των λιπιδίων ή και αναστέλλοντας την παραγωγή των ελευθέρων ριζών.

1.4.2 Έλαιο γιγάρτων (Μαγειρική)

Λόγω του ότι το λάδι των γιγάρτων του σταφυλιού είναι φυτικό έλαιο, έχει σχετικώς υψηλό σημείο καπνού (θερμοκρασία στην οποία το λίπος ή έλαιο σπάει σε γλυκερόλη και ελεύθερα λιπαρά οξέα, περίπου 216 °C ή 421 °F). Ως εκ τούτου, είναι πολύ καλύτερο για μαγείρεμα σε υψηλή θερμοκρασία από ότι άλλα μαγειρικά έλαια και μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ασφάλεια για σοτάρισμα ή τηγάνισμα. Επιπλέον, έχει μια καθαρή, ελαφριά γεύση που αφήνει μια αίσθηση «καρυδιού», υψηλή περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως το συστατικό σε σάλτσες, σαλάτες, μαγιονέζα και ως βάση για εγχύσεις ελαίου σκόρδου, δεντρολίβανου ή άλλα αρωματικά φυτά και μπαχαρικά. Τέλος, χρησιμοποιείται ως ενισχυτικό γεύσης στις σταφίδες.

1.4.3 Έλαιο γιγάρτων (Κοσμετολογία)

Το έλαιο από γίγαρτα σταφυλιού είναι ένα ευρέως χρησιμοποιημένο συστατικό καλλυντικών προϊόντων, κυρίως αυτών που αφορούν την προστασία του δέρματος, καθώς οι αναγεννητικές του ιδιότητες συμβάλουν στην αναδόμηση των ιστών και την καλύτερη ενυδάτωση του. Περαιτέρω, είναι ελαφρύ και λεπτό στη υφή και αφήνει ένα γυαλιστερό φιλμ πάνω στο δέρμα, ενώ οι μεγάλες ποσότητες λινελαϊκού οξέος που περιέχει το καθιστούν ένα χρήσιμο κομιστή για αιθήρια έλαια στην αρωματοθεραπεία. Τελευταίες έρευνες μάλιστα, μιλούν για την ισχυρή επουλωτική του ικανότητα, για αυτό χρησιμοποιείται εκτός από τις αντιγηραντικές κρέμες και ως λιπαντικό σε προϊόντα ξυρίσματος (Khanna et al, 2002).

1.4.4 Αντιοξειδωτικά (Ιατρική)

Το έλαιο των γιγάρτων είναι γνωστό πως συγκρατεί μεγάλη ποσότητα αντιοξειδωτικών, καθώς και ουσιών που μειώνουν τα επίπεδα χοληστερόλης, όπως βιταμίνη E (0,8 έως 1,2 g / kg), βιταμίνη C και β-καροτένιο. Η περιεκτικότητά του σε λινολεϊκό είναι 76%, το οποίο συνδέεται με την αύξηση των επιπέδων της HDL (καλή χοληστερόλη) και μείωση αυτών της LDL (κακή χοληστερόλη). Το λινελαϊκό οξύ είναι ένα από τα δύο βασικά λιπαρά οξέα που οι άνθρωποι δεν μπορούν να παράγουν και ταυτόχρονα ένα από τα ωμέγα-6 λιπαρά οξέα (Nerantzis & Tataridis 2006).

1.4.5 Βιοκαύσιμα λιπαντικά

Η παγκόσμια ενεργειακή κρίση, οι ασταθείς τιμές των προϊόντων πετρελαίου και οι περιβαλλοντικές ανησυχίες που προκύπτουν από διαρροές πετρελαίου και επιβλαβών εκπομπών αερίων στην ατμόσφαιρα, αποτελούν τη μεγάλη απειλή των συμβατικών ορυκτών πηγών ενέργειας. Ως εκ τούτου, η αναζήτηση για εναλλακτικές πηγές νέων, βιώσιμων και ανανεώσιμων πηγών ενέργειας, όπως η βιομάζα, η ηλιακή, η

υδροηλεκτρική, η αιολική ενέργεια έχει καταστεί απαραίτητη. Το *Lannea microcarpa*, κοινώς γνωστό ως «Αφρικανικό Σταφύλι» ή «Άγριο Σταφύλι» ή "Faaru", ευδοκimeί στη Χάουσα της Νιγηρίας. Τα βιοκαύσιμα που προέκυψαν από την επεξεργασία του ελαίου των γιγάρτων του καρπού του, συγκρίνονται ποιοτικά με εκείνα του πετροντίζελ και του βιοντίζελ, σύμφωνα με τα πρότυπα ASTM για τα καύσιμα βαθμού βιοντίζελ και *Jatropha*. Αυτό που τα γενικότερα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν, είναι ότι το *L. microcarpa* ενδείκνυται ως πρώτη ύλη για τη βιομηχανία βιοντίζελ που θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν ως εναλλακτική πηγή καυσίμου (Yunus et al., 2013).

1.5 Μέθοδοι προσδιορισμού φαινολικών

1.5.1 Ανάκτηση φαινολικών με εκχύλιση

Η συνηθέστερη μέθοδος απελευθέρωσης φαινολικών από τα σταφύλια ή τα υποπροϊόντα αυτών (στέμφυλα) κατά την διαδικασία της οινοποίησης, είναι η εκχύλιση. Οι σημαντικότεροι παράγοντες που επηρεάζουν την εκχύλιση είναι η θερμοκρασία, ο διαλύτης, ο χρόνος εκχύλισης και το μέγεθος των σωματιδίων.

- Η θερμοκρασία είναι μια από τις πιο κρίσιμες μεταβλητές που επηρεάζουν την απελευθέρωση των φαινολικών από τον φλοιό των σταφυλιών. Η αύξηση της θερμοκρασίας εκχύλισης ενισχύει πολύ την διαλυτότητα της διαλυτής ουσίας και τον συντελεστή διάχυσης. Η αύξηση της εκτυλιχθείσας φαινόλης παρατηρείται σε υψηλότερες τιμές θερμοκρασίας. Παρότι οι υψηλές θερμοκρασίες έχουν θετικές επιπτώσεις σχετικά με τις αποδόσεις εκχύλισης, η θερμοκρασία δεν μπορεί να αυξηθεί επ' αόριστον, λόγω αστάθειας των φαινολικών ενώσεων αλλά και την μετουσίωση των μεμβρανών πάνω από τους 50°C.
- Ο διαλύτης επηρεάζει την διαδικασία εκχύλισης. Η μεθανόλη, η αιθανόλη και το νερό είναι οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι διαλύτες για την εκχύλιση των φαινολών από φλοιούς σταφυλιών και από τον πυρήνα των σπόρων. Μεταξύ αυτών των διαλυτών η μεθανόλη επιδρά αποτελεσματικότερα για την απομάκρυνση των φαινολικών, στη συνέχεια η αιθανόλη και μετά το νερό. Όταν χρησιμοποιούνται οι αλκοόλες ως διαλύτες εκχύλισης γίνεται αύξηση του διαλύτη σε σχέση με τα στερεά, επίσης επηρεάζει θετικά την απόδοση της εκχύλισης.
- Αύξηση του λόγου διαλύτη προς τα στερεά, επίσης δείχνει ότι έχει θετική επίδραση στην απόδοση ανάκτησης φαινολικών, αλλά θα πρέπει να υπάρξει μια ισορροπία στην χρήση λόγω του κόστους αλλά και των αποβλήτων.
- Ο χρόνος εκχύλισης δεν είναι σημαντικός όταν χρησιμοποιούμε το νερό ως διαλύτη, αλλά επηρεάζει σημαντικά την απόδοση της εκχύλισης όταν χρησιμοποιούνται άλλοι διαλύτες ή γενικότερα άλλοι μέθοδοι εκχύλισης.

- Το μικρότερο μέγεθος των σωματιδίων σε συνδυασμό με την μεγάλη ποσότητα δείγματος ευνοούν την απελευθέρωση των φαινολικών, ιδιαίτερα σε συνεχή εξαγωγή. Σωματίδια και φλούδες που μπορεί να εμφανίζονται κατά την διαδικασία εκχύλισης μειώνουν την επιφανειακή επαφή των στερεών και των υγρών με αποτέλεσμα την μείωση της αποτελεσματικότητας της εκχύλισης.

Άλλες μεταβλητές και τεχνικές που επηρεάζουν τις φαινολικές συγκεντρώσεις είναι το σκάσιμο των κυττάρων, η θερμοκρασία ζύμωσης, το διοξειδίου του θείου, η κατάψυξη, η θερμική προεργασία, τα πηκτινολυτικά ένζυμα και ο χρόνος διαβροχής (Pinelo et al., 2006).

1.5.2 Μέθοδος Folin-Ciocalteu

Αρχή της μεθόδου

Οι φαινολικές ενώσεις οξειδώνονται απ' το αντιδραστήριο FolinCiocalteu, που είναι μίγμα των οξέων φωσφοροβολφραμικό ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) και φωσφορομολυβδενικό ($\text{H}_3\text{PM}_{012}\text{O}_{40}$). Κατά την οξείδωση των φαινολικών ενώσεων τα οξέα αυτά ανάγονται σε ένα μίγμα, κυανών οξειδίων, του βολφραμίου (W_8O_{23}) και του μολυβδαίνιου ($\text{M}_{08}\text{O}_{23}$).

Ο παραγόμενος κυανός χρωματισμός παρουσιάζει το μέγιστο της απορρόφησης στα 700-760 nm. Η αντίδραση αυτή γίνεται σε αλκαλικό περιβάλλον και η ένταση του σχηματιζόμενου κυανού χρώματος είναι ανάλογη της ποσότητας των φαινολικών. Ωστόσο το χρώμα αυτό δεν είναι σταθερό και εξελίσσεται σύμφωνα με τον χρόνο: Στα πρώτα 30min γίνεται κυανούν, ενώ στη συνέχεια περνάει στο βαθύ κυανούν. Όπως προκύπτει από το παραπάνω, για να είναι τα αποτελέσματα μας συγκρίσιμα, οι μετρήσεις της απορρόφησης πρέπει να γίνονται σε σταθερό χρόνο για όλα τα δείγματα.

Η μέθοδος Folin Ciocalteu έχει μεγάλη πιστότητα αλλά απαιτεί υλικά και συσκευές που στοιχίζουν (Σουφλερός, 1995).

ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Ο πειραματικός αμπελώνας

Αμπελώνας ομαλών

Στους αμπελώνες ομαλών έλαβε χώρα ένα πείραμα για αξιολογηθούν τα αμπελουργικά χαρακτηριστικά της ρομπόλας σε συνάρτηση με τις εδαφοκλιματικές συνθήκες της περιοχής και μέσα από την μελέτη των αμπελογραφικών χαρακτήρων των διαφορετικών συνδυασμών υποκειμένων (σε δύο επίπεδα: R1 και R2) και βιοτύπων εμβολίου (σε τέσσερα επίπεδα: V1, V2, V3 και V4). Με καινοτόμο στοιχείο το ότι για πρώτη φορά επιδιώκεται η πειραματική αξιολόγηση και τεκμηρίωση της καταλληλότητας συνδυασμών βιοτύπων και υποκειμένων Ρομπόλας, η αξιολόγηση αναμένεται να συμβάλλει: (i) στο να μελετηθεί και να αναδειχθεί το αμπελοοινικό δυναμικό των διαφορετικών βιοτύπων Ρομπόλας σε συνδυασμό με το κατάλληλο υποκείμενο, (ii) στο να γίνουν προτάσεις για την εξορθολογισμένη αναμείγλωση αυτόρριζων αμπελώνων και (iii) μακροπρόθεσμα να βελτιωθεί η ποιότητα των παραγόμενων οίνων. Ειδικός στόχος της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της επίδρασης διαφορετικών συνδυασμών υποκείμενο-κλώνου ρομπόλας στην περιεκτικότητα ολικών φαινολών των φλοιών των σταφυλιών της σε διαφορετικές χρονικές στιγμές της καρπικής περιόδου για δύο διαδοχικά έτη.

2.1.1 Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων

Τα γίγαρτα προέκυψαν από σταφύλια που συλλέχτηκαν από τον πειραματικό αμπελώνα ρομπόλας στην περιοχή των Ομαλών. Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε σε διαφορετικές χρονικές στιγμές της περιόδου ωρίμανσης δυο διαδοχικές χρονιές (2018 και 2019). Από κάθε πειραματική μονάδα (20 πρέμνα) συλλέγονταν 100 ράγες, τοποθετούνται σε συγκεκριμένο σακουλάκι. Κατά τη συλλογή τους τα δείγματα φυλάσσονταν σε φορητό ψυγείο. Μετά την ολοκλήρωση της συλλογής τους μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο, φωτογραφήθηκαν και φυλάσσονταν στην κατάψυξη ως την ανάλυση τους για τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών του γλεύκους. Όπως προαναφέρθηκε, το πειραματικό σχέδιο ήταν παραγοντικό σε τυχαιοποιημένες πλήρης ομάδες. Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά τρεις ομάδες με αρίθμηση 3,4 και 5. Το πείραμα εξέταζε την επίδραση δύο παραγόντων:

Υποκείμενο σε δυο επίπεδα [R1(P1103) και R₂(110R)] και βιότυπος εμβολίου, σε τέσσερα επίπεδα (V₁, V₂, V₃ και V₄). Για πρακτικούς λόγους το κάθε δείγμα έχει τον δικό του κωδικό που αποτελείται από τρία ψηφία, καθένα από αυτά συμβολίζει:

- Πρώτο ψηφίο: Αριθμός ομάδας (3-5)
- Δεύτερο ψηφίο: Αριθμός υποκειμένου (1-2)
- Τρίτο ψηφίο: Αριθμός βιότυπου εμβολίου (1-4)

2.1.2 Διαλύματα

- Αιθανόλη 70% (500ml)
350ml αιθανόλης + 150 ml H₂O
- Na₂CO₃ 2% Sodium Carbonate (Σκόνη)
5γανθρακικό νάτριο + 250 ml H₂O
- Παρασκευή Na₂CO₃ 35% Sodium Carbonate (Σκόνη)
Na₂CO₃ 35% - 7gr ανθρακικό Νάτριο + 20 ml H₂O
- Γαλλικού οξέος (G.A) 1000 ppm
Διάλυση 1g γαλλικού οξέος σε 1000 mL απιονισμένο H₂O
- Γαλλικό οξύ 10ppm (G.A)
1ml πυκνού διαλύματος (1000ppm) γαλλικού οξέος σε 100ml απιονισμένο H₂O

2.1.3 Όργανα

- Πυραντήριο ξήρανσης, όπου ξηράθηκαν τα δείγματα για 24h.
- Επιτραπέζια συσκευή ανάδευσης, στην οποία τοποθετήθηκαν σε οριζόντια θέση οι σωλήνες με τα προς εκχύλιση δείγματα και ρυθμίστηκε για 6h με ταχύτητα 100 επαναλήψεις/ λεπτό.
- Φυγόκεντρος, όπου τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 12min με ταχύτητα 1000g
- Φασματοφωτόμετρο, για τις μετρήσεις της απορρόφησης κατά την μέτρηση των ολικών φαινολών.

2.2 Προετοιμασία δειγμάτων

Αρχικά τα δείγματα αποψύχθηκαν και διαχωρίστηκαν σε χυμό, γίγαρτα και φλοιούς. Τα γίγαρτα αρχικά ξηράθηκαν στους 65°C για 24h. Στη συνέχεια λειοτριβήθηκαν με μύλο άλεσης ώστε να γίνουν σκόνη. Ακολούθησε εκχύλιση με διάλυμα αιθανόλης (70%) και στο εκχύλισμα που προέκυψε προσδιορίστηκαν οι ολικές φαινόλες με τη μέθοδο Folin Ciocalteu.

2.3 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών στα γίγαρτα

Εκχύλιση

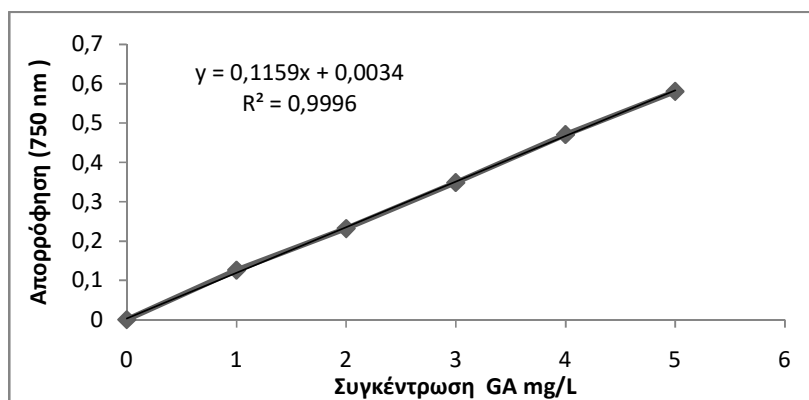
Ζυγιστήκαν 0,05 g από κάθε δείγμα σε νέα φιαλίδια falcon των 50 mL, προστέθηκαν σε αυτά 5 mL αιθανόλη 70% και τοποθετήθηκαν σε παλινδρομικό αναδευτήρα για 6ωρες με ταχύτητα 100 rpm. Ακολούθησε φυγοκέντρωση για 12min με ταχύτητα 1000g. Συλλέχθηκε το υπερκείμενο διαυγές εκχύλισμα κάθε δείγματος και φυλάχθηκε στο σκοτάδι στο ψυγείο ως τον αναλυτικό προσδιορισμό των ολικών φαινολών.

Αναλυτικός προσδιορισμός

Αρχικά το δείγμα αραιώθηκε 5 φορές (1ml εκχυλίσματος αναμείχθηκε με 4ml αιθανόλης 70%).

Στη συνέχεια σε νέα φιαλίδια 2ml αραιωμένου εκχυλίσματος αναμείχθηκαν με 0,2ml διαλύματος Folin Ciocalteu και συμπληρώθηκαν με 0,8ml απιονισμένου H₂O. Μετά από 3min προστέθηκαν 2ml NaCO₃ 2%. Τα δείγματα ανακινήθηκαν και αφέθηκαν για 30min σε ηρεμία για να αναπτυχθεί το χρώμα. Ακολούθησε φυγοκέντρηση για την απομάκρυνση του ιζήματος, αραιώση 10 φορές και μέτρηση στο φασματοφωτόμετρο στα 750 nm.

Παράλληλα, για την μετατροπή των απορροφήσεων των δειγμάτων σε συγκεντρώσεις κατασκευάσαμε η καμπύλη αναφοράς (Διαγρ. 1), με διαλύματα γαλλικού οξέος γνωστών συγκεντρώσεων.



Διάγραμμα 1: Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος για τον προσδιορισμό ολικών φαινολών.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 Δεδομένα του έτους 2018

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από την στατιστική επεξεργασία, όπως αυτά παρουσιάζονται παρακάτω, ανάμεσα στα δείγματα δεν παρατηρείται στατιστικά διαφορά μέσων όρων ($p < 0,05$). Αυτό σημαίνει ότι οι μέσοι όροι είναι όλοι ίσοι μεταξύ τους, όπως ήταν αναμενόμενο δεν υπάρχει στατιστική διαφορά στους μέσους όρους.

Πίνακας 6. Στατιστικά αποτελέσματα των αριθμών και το βάρος των γιγάρτων για τους παράγοντες διαφοροποίησης του έτους 2018. Μέσοι όροι που συνοδεύονται με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους.

Παράγοντας διαφοροποίησης	LSMeans Differences Tukey test	Αριθμός γιγάρτων Μέσος όρος	Βάρος γιγάρτων Μέσος όρος
Block-3	A	140	2,67
Block-4	A	143	2,56
Block-5	A	137	2,55
R1	A	135	2,50
R2	A	145	2,69
V1	A	154	2,81
V2	A	152	2,73
V3	A	132	2,38
V4	A	122	2,45
R1V1	A	155	2,82
R1V2	A	158	2,88
R1V3	A	105	1,86
R1V4	A	121	2,43
R2V1	A	154	2,80
R2V2	A	146	2,58
R2V3	A	159	2,91
R2V4	A	122	2,46

Πίνακας 7. Συγκεντρώσεις ολικών φαινολών στα γίγαρτα (mg GA/g) για την περίοδο του τρύγου 2018 & Ιουλίου 2018. Μέσοι όροι που συνοδεύονται με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους.

Παράγοντας διαφοροποίησης	LSMeans Differences Tukey test	Τρύγος 2018 Μέσος όρος	Ιούλιος 2018 Μέσος όρος
Block-3	A	7,40	8,86
Block-4	A	7,32	8,34
Block-5	A	7,31	8,71
R1	A	7,39	8,69
R2	A	7,29	8,61
V1	A	7,22	8,62
V2	A	7,21	8,38
V3	A	7,41	8,79
V4	A	7,55	8,81
R1V1	A	7,27	8,57
R1V2	A	7,25	8,40
R1V3	A	7,34	8,70
R1V4	A	7,71	9,13
R2V1	A	7,16	8,53
R2V2	A	7,16	9,11
R2V3	A	7,49	9,00
R2V4	A	7,38	8,92

3.2 Αποτελέσματα στατιστικών δεδομένων του έτους 2019

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από την στατιστική επεξεργασία, της αυτά παρουσιάζονται παρακάτω, ανάμεσα στα δείγματα παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μέσων όρων, ($p < 0,05$). Αυτό σημαίνει ότι οι μέσοι όροι δεν είναι όλοι ίσοι μεταξύ της, της ήταν αναμενόμενο υπάρχει στατιστική διαφορά της μέσους όρους.

Πίνακας 8. Στατιστικά αποτελέσματα των αριθμών και το βάρος των γιγάρτων με βάση της παράγοντες διαφοροποίησης. Μέσοι όροι που συνοδεύονται με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ της.

Παράγοντας διαφοροποίησης	LSMeans Differences Tukey test	Αριθμός γιγάρτων Μέσοι όροι	Βάρος γιγάρτων Μέσοι όροι	LSMeans Differences Tukey test
Block-3	A	183	3,89	A
Block-4	AB	159	3,47	AB
Block-5	B	128	2,58	B
R1	A	165	3,42	A
R2	A	148	3,21	A
V1	A	175	3,74	A
V2	A	174	3,57	A
V3	B	121	2,49	A
V4	AB	157	3,45	A
R1V1	AB	180	3,72	AB
R1V2	A	228	4,73	A
R1V3	B	94	1,77	B
R1V4	AB	159	3,46	AB
R2V1	AB	169	3,42	AB
R2V2	B	120	2,76	AB
R2V3	AB	148	3,22	AB
R2V4	AB	155	3,43	AB

Πίνακας 9. Συγκεντρώσεις ολικών φαινολών στα γίγαρτα (mg GA/g) για διαφορετικές περιόδους του έτους 2019. Μέσοι όροι που συνοδεύονται με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ της.

Παράγοντας διαφοροποίησης	LSMeans Differences Tukey test	Τρύγος 2019 Μέσος όρος	Ιούλιος 2019 Μέσος όρος	14/8/2019 Μέσος όρος	25/8/2019 Μέσος όρος
Block-3	A	7,66	8,52	8,44	6,71
Block-4	A	7,87	8,61	7,53	7,61
Block-5	A	8,12	8,92	8,60	7,33
R1	A	8,00	8,5	7,91	7,00
R2	A	7,77	8,86	8,48	6,56
V1	A	7,93	8,89	8,65	6,74
V2	A	8,29	8,81	7,91	7,14
V3	A	7,93	8,73	8,14	7,03
V4	A	7,38	8,30	8,08	6,74
R1V1	A	7,60	8,84	8,54	7,24
R1V2	A	8,61	8,43	7,08	7,41
R1V3	A	7,88	8,04	7,47	6,85
R1V4	A	7,90	8,71	8,53	6,52
R2V1	A	8,27	8,94	8,76	6,23
R2V2	A	7,97	9,19	8,74	6,87
R2V3	A	7,97	8,57	8,80	7,20
R2V4	A	6,87	8,75	7,62	5,93

Οι παράγοντες διαφοροποίησης στη συγκεκριμένη μελέτη ήταν εμβολιασμός τεσσάρων διαφορετικών βιοτύπων (κλώνων) ρομπόλας, δύο διαφορετικά υποκείμενα:

- **R₁ (Paulsen 1103):** Το υποκείμενο αυτό συνδυάζει πολύ καλές ιδιότητες. Ανθεκτικό στα χλωριούχα άλατα, συνιστάται σε εδάφη αργιλώδη, ξερά, ρηχά πτωχά με περιεκτικότητα σε ανθρακικό ασβέστιο μέχρι 40-50 % σε ολικό και 20% σε δραστικό. Είναι πολύ ζωνρό υποκείμενο, γρήγορης ανάπτυξης με καλές αποδόσεις σε ξύλο της μητρικής φυτείας.
- **R₂ (110 Richter):** Το υποκείμενο αυτό χρησιμοποιείται ευρύτατα στη χώρα της γιατί είναι κατάλληλο για εδάφη ξηρά, αργιλοασβεστώδη, συνεκτικά με αντοχή στο ανθρακικό ασβέστιο 40-45 % σε ολικό 17-22 % σε ενεργό. Υποκείμενο ζωνρό κατάλληλο για ποικιλίες μέσης πρωιμότητας ή και όψιμες επιτραπέζιες, με υψηλή αντοχή στη ριζόβια μορφή φυλλοξήρας, ευαίσθητο της της νηματώδεις.

Η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων εντός των φυτικών ιστών διαφέρει ανάλογα με την επίδραση συγκεκριμένων παραγόντων. Μελέτες έχουν δείξει ότι η έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία αυξάνει τα επίπεδα των φλαβονολών στα σταφύλια, ενώ η θερμοκρασία δεν τα επηρεάζει (Makris et al., 2006). Άλλοι περιβαλλοντικοί παράγοντες, της το είδος του εδάφους, οι κλιματικές συνθήκες (βροχοπτώσεις, υγρασία κτλ), καθώς και οι καλλιεργητικές τεχνικές φαίνεται ότι καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό τα επίπεδα των φαινολικών στα φυτά. Της, ο βαθμός ωριμότητας κάποιων σταφυλιών επηρεάζει τη συγκέντρωση σε φαινολικά συστατικά. Για παράδειγμα, η συγκέντρωση των φαινολικών οξέων μειώνεται κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, ενώ η συγκέντρωση των ανθοκυανινών αυξάνεται. Επίδραση εξωτερικών παραγόντων στα φυτά, της η καταστροφή του φυτικού ιστού από έντομα συνδέεται με την αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών στην περιοχή αυτή, ώστε να δημιουργηθεί ένα είδος άμυνας έναντι στο οξειδωτικό stress.

3.3 Συμπεράσματα

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση διαφορετικών συνδυασμών υποκειμένων-κλώνων στο φαινολικό φορτίο γιγάρτων. Οι παραπάνω πίνακες απεικονίζουν την στατιστική διαφορά μεταξύ των παραγόντων διαφοροποίησης που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα όπου ήταν η παραλακτικότητα του εδάφους, η επίδραση διαφορετικού υποκειμένου, ανεξαρτήτως βιοτύπου, όπως και η επίδραση διαφορετικού βιοτύπου, ανεξαρτήτως υποκειμένου, και τέλος η αλληλεπίδραση συνδυασμού υποκειμένου-βιοτύπου.

Με βάση τα αποτελέσματα του έτους 2018 προκύπτει πως δεν υπάρχουν στατιστικές διαφορές στον αριθμό γιγάρτων, στο βάρος των γιγάρτων αλλά κυρίως ανεπηρέαστη παραμένει η περιεκτικότητα των ολικών φαινολών. Αυτό μας υποδηλώνει πως τα φαινολικά συστατικά των γιγάρτων δεν επηρεάστηκαν ούτε από το είδος του υποκειμένου, ούτε και από τον κλώνο ρομπόλας που φιλοξενούν.

Αντίστοιχα στο έτος 2019 προκύπτει ότι υπάρχουν στατιστικές διαφορές στον αριθμό και στο βάρος των γιγάρτων. Ο συνδυασμός R1V2 είχε σημαντικά μεγαλύτερο αριθμό και βάρος γιγάρτων ενώ ο συνδυασμός R1V3 το μικρότερο. Η περιεκτικότητα των διαφορετικών συνδυασμών σε ολικές φαινόλες όμως παραμένει ανεπηρέαστη μεταξύ των διαφορετικών συνδυασμών υποκειμένων-βιοτύπων.

Συμπερασματικά προκύπτει ότι η περιεκτικότητα των γιγάρτων σε ολικές φαινόλες δεν επηρεάζεται από τα διαφορετικά υποκείμενα, ούτε από τους διαφορετικούς κλώνους, ούτε όμως και από τους διαφορετικούς συνδυασμούς τους. Το υποκείμενο μας δείχνει τον χαρακτήρα και την ανθεκτικότητα του φυτού όμως η περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά επηρεάζεται κυρίως από την ποικιλία. Ίσως αν συγκρίναμε διαφορετικές ποικιλίες να είχαμε διαφορετικά αποτελέσματα.

Κατάλογος βιβλιογραφίας

- Arnous, A., & Meyar, A. (2009). Discriminated Release of Phenolic Substances from Red Wine Grape Skins (*Vitis vini fera L*) by Multicomponent Enzymes. *Treatment Biochemical Engineering Journal*.
- Khanna S., M. Venojarni, S. Roy, N. Sharma, P. Trihka, D. Bagchi, M. Bagchi, Chandan, 2002. Dermal wound healing properties of redox-active grape seed proanthocyanidins. *Free Radical Biology & Medicine*, 33(8), pp.1089–1096. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12374620> [Accessed October 11, 2013]
- Karvela, E., Makris, D. P., Kalogeropoulos, N., Karathanos, V. T. (2011). The Effect of PH on the Efficiency of Vini Fication By-Product Extracts to Inhibit Lipid Peroxidation in a Lecithin Liposome Model Matrix, *Journal of Food Quality*, 34, 299-305.
- Μπόσκου, Δ. (1986) *Χημεία Τροφίμων με Στοιχεία Τεχνολογίας Τροφίμων*. Θεσσαλονίκη: Γαρταγάνη.
- Makris, D., Psarra E., Kallithraka, S., Kefalas, P. (2003). The Effect of Polyphenolic Composition as Related to Antioxidant Composition Capacity in White Wines. *Food Research International*, 36, 805-814.
- Minussi, R.C., Possi, M., Bologna, L., Cordi, L., Rotilio, D., Pastire, G.M., & Daran, N. (2003). Phenolic Compounds and Total Antioxidant Potential of Commercial Wines. *Food chemistry*, 82, 409-416.
- Nerantzis E., P. Tataridis, 2006. Integrated enology–utilization of winery by-products into high added value products. *J. Sci. Tech*, pp.1–12. Available at: http://ejst.teiath.gr/issue_3_2006/Nerantzis_3.pdf [Accessed October 9, 2013].

- Pinelo, M., Arnous, A., & Meyer, A. (2006). Upgrading of Grape Skins: Significance of Planet Cell-wall Structural Components and Extraction Techniques for Phenol Release. *Trends in Food Science and Technology*, 17, 579-590.
- Pinelo, M., Sineiro, J., & Nunez, M.J. (2006) Mass Transfer During Continuous Solid-liquid Extraction of Antioxidants from Grape by Products. *Journal of Food Engineering*, 77, 57-63.
- Σουφλερός, Ε. (1995) *Οίνος και Αποστάγματα: Μέθοδοι Ανάλυσης*. Θεσσαλονίκη: Ιδιωτική.
- Yunus M. M., U. Z. Faruq, Aliero A. A., 2013. Assessment of Physicochemical Properties of Biodiesel from African Grapes (*Lannea microcarpa* Engl & K. Krause), 21(2), pp.127–130. Available at: <http://www.ajol.info/index.php/njbas/index>
- Xu, C., Zhang, Y., Cao, L., & Lu, J. (2010). Phenolic and Antioxidant Properties of Different Grape Cultivars Grown in China. *Food chemistry*, 119, 1557-1565.