



ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΕ ΛΕΥΚΑ ΚΡΑΣΙΑ ΚΑΙ ΡΕΤΣΙΝΕΣ



ΒΑΒΟΥΡΑ ΜΑΓΔΑΛΗΝΗ
ΒΕΣΚΟΥ ΜΑΡΙΑ

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:
ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2014

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εκπονήθηκε από τις φοιτήτριες Βαβούρα Μαγδαληνή και Βέσκου Μαρία του τμήματος Διατροφής & Διαιτολογίας του Αλεξάνδρειου Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Θεσσαλονίκης. Το εργαστηριακό κομμάτι της μελέτης πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του τμήματος Διατροφής και Διαιτολογίας κατά το ακαδημαϊκό έτος 2013-2014.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα θέλαμε να απευθύνουμε στον επιβλέποντα καθηγητή μας κ. Παπαδόπουλο Αθανάσιο για την καθοδήγηση και υποστήριξή του καθ' όλη της διάρκειας της παρούσας πτυχιακής εργασίας, καθώς επίσης και τον κ. Κοντογιώργη Χρήστο για την πολύτιμη βοήθειά του στην επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Επίσης, αξίζουν πολλά ευχαριστώ στην φίλη μας Δεληγιαννίδου Ειρήνη, απόφοιτο του τμήματος Διατροφής & Διαιτολογίας, η οποία ήταν δίπλα μας σε όλη την διάρκεια της εργασίας μας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στις αρχές της δεκαετίας του '60 ξεκίνησε μια έρευνα ⁽⁴²⁾ του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, η οποία έδειξε ότι οι άνθρωποι που ζούσαν στις μεσογειακές χώρες και κυρίως στην Ελλάδα, εμφάνιζαν τα μικρότερα ποσοστά θνησιμότητας από καρκίνο και στεφανιαία νόσο, εξαιτίας της Μεσογειακής Διατροφής, η οποία περιλαμβάνει δυο βασικά συστατικά: το ελαιόλαδο, που είναι η κύρια πηγή λίπους και το κρασί, το οποίο μειώνει τον κίνδυνο αρτηριοσκλήρυνσης, ελαττώνει την συγκέντρωση γλυκόζης και της κακής χοληστερόλης στο αίμα, μειώνει την αρτηριακή πίεση, προστατεύει από την καταστροφή των εγκεφαλικών λειτουργιών, την απώλεια μνήμης και ασθένειες που σχετίζονται με το γήρας. Τέλος, οι κάτοικοι αυτοί είχαν το μεγαλύτερο μέσο όρο ζωής σε σχέση με τους κατοίκους των άλλων χωρών.

Οι σύγχρονες έρευνες ⁽⁴³⁾ διαπίστωσαν ότι οι ελεύθερες ρίζες είναι η αιτία όλων των παραπάνω παθήσεων. Το κρασί περιέχει αντιοξειδωτικές ουσίες, οι οποίες είναι η κύρια πηγή εξουδετέρωσης των ελευθέρων ριζών.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης του λευκού κρασιού με τις μεθόδους ABTS & DPPH και των φαινολικών ενώσεων με την μέθοδο Folin-Ciocalteu καθώς επίσης και ο προσδιορισμός των ελευθέρων ριζών. Κατά τη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 12 δείγματα λευκού κρασιού αλλά και ρετσίνας τα οποία προμηθευτήκαμε από το εμπόριο και μετρήθηκαν τόσο αυτούσια (πυκνό δείγμα) όσο και αραιωμένα με απεσταγμένο νερό (αραιό δείγμα).

ABSTRACT

At early 60s the World Health Organization (WHO) did a research which shown that people who lived in Mediterranean countries and mostly in Greece, had the less percentage in mortality rates from cancer and Coronary heart disease, because of Mediterranean diet which included 2 basic ingredients: olive oil, which is the main source of fatty acids, and wine, which lowers the concentration of glucose and bad cholesterol (LDL) in blood, lowers blood pressure, protects brain cells from degenerating thus protecting brain function, shields against memory loss and aging-associated diseases. Residents of Greece also had the longest life span in comparison to residents of other Mediterranean countries.

Recent studies determined that Free Radicals are the main cause of all the diseases that are mentioned before. Wine contains antioxidants that are the main source of neutralizing Free Radicals.

The goal of this study is the specification of antioxidant action of white wine with the ABTS & DPPH methods and phenolic compounds with the Folin-Ciocaltue method and also the determination of Free Radicals. During the research there were used 12 samples of white wine and Retsina (Greek white wine) which we supplying from the market and measured as they were and after putting small quantities of distilled water.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	3
ABSTRACT	4
ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ	7
ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ	7
Η ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΡΑΣΙΟΥ ΣΤΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ	11
ΟΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ ΛΕΥΚΟΥ ΚΡΑΣΙΟΥ	12
Ο ΟΙΝΟΣ ΣΤΗΝ ΑΡΧΑΙΑ ΕΛΛΑΔΑ.....	12
ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΚΡΑΣΙΟΥ.....	14
ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ	16
ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ & ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ.....	18
ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΚΡΑΣΙΩΝ	19
ΟΞΕΙΔΩΣΗ	21
ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ.....	23
ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ	25
ΒΛΑΒΕΣ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝΤΑΙ ΑΠΟ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ.....	26
ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ	27
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ	27
ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	29
ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ.....	31
ΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΤΟΥ ΟΙΝΟΥ	33
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ.....	36
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	37
ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ	40
ΜΕΘΟΔΟΣ FOLIN – CIOCALTEU (FC).....	40
ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΒΑΣΙΖΟΜΕΝΗ ΣΤΗ ΔΕΣΜΕΥΣΗ ΤΗΣ 1,1-ΔΙΦΑΙΝΥΛΟ-2-ΠΙΚΡΥΛΟ-ΥΔΡΑΖΥΛΟ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ (DPPH)	44
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ ABTS.....	48
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΟΗ ⁻	53
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	56
ΜΕΘΟΔΟΣ FOLIN – CIOCALTEU (FC).....	56
ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΒΑΣΙΖΟΜΕΝΗ ΣΤΗ ΔΕΣΜΕΥΣΗ ΤΗΣ 1,1-ΔΙΦΑΙΝΥΛΟ-2-ΠΙΚΡΥΛΟ-ΥΔΡΑΖΥΛΟ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ (DPPH)	60
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ ABTS.....	65
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΟΗ ⁻	70

ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	72
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	80
ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ :	82
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	83
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	86

Α. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Μολονότι η μεσογειακή διατροφή πρωτοδημοσιεύθηκε από τον Αμερικανό γιατρό *Ansel Keys*, στη μελέτη των 7 χωρών, κατάφερε να γίνει ευρέως γνωστή και να παρουσιαστεί με κατανοητό και επιστημονικό τρόπο το 1995 από τον *Dr. Walter Willet* της σχολής δημόσιας υγείας του Πανεπιστημίου του Harvard .⁽¹⁾⁽²⁾

Ως μεσογειακή διατροφή χαρακτηρίζεται η διατροφή των χωρών από την Ισπανία μέχρι την Αίγυπτο και από τη νότια Γαλλία μέχρι το Μαρόκο, για το λόγο αυτό δεν υπάρχει μία μεσογειακή κουζίνα αλλά πολλές και διαφορετικές εθνικές κουζίνες, οι οποίες μοιράζονται ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά. Η μεσογειακή διατροφή τροποποιείται στην κάθε χώρα ανάλογα με τις πρώτες ύλες, την κουλτούρα και την παραγωγή της. Εξέχουσα θέση ανάμεσά τους κατέχει η ελληνική κουζίνα με ιδιαίτερη την κρητική.⁽³⁾ Μάλιστα ο *Ansel Keys* κατά την έρευνά του το 1950–1960 ανακάλυψε ότι το νησί της Κρήτης σχετίζεται με ένα πάρα πολύ καλό επίπεδο υγείας. Η κύρια πηγή λίπους των κρητικών ήταν κατά κύριο λόγο το ελαιόλαδο. Κατά αυτόν τον τρόπο ο όρος μεσογειακή διατροφή χρησιμοποιείται για να περιγράψει τις διαιτητικές συνήθειες της Κρήτης και άλλων περιοχών στη Μεσόγειο που καταναλώνουν ως κύρια πηγή λίπους ελαιόλαδο.⁽⁴⁾

Επομένως αν και οι διάφορες περιοχές της Μεσογειακής λεκάνης έχουν τις δικές τους τοπικές διατροφικές συνήθειες, υπάρχουν αρκετά κοινά χαρακτηριστικά, τα περισσότερα από τα οποία απορρέουν από το γεγονός ότι το ελαιόλαδο καταλαμβάνει κεντρική θέση στη διατροφή των περιοχών αυτών.⁽⁵⁾

Η Ελληνική εκδοχή της Μεσογειακής Διατροφής αποτελείται από προϊόντα που παράγονται στην Ελλάδα και διαμόρφωσαν τις διατροφικές συνήθειες των

Ελλήνων από την αρχαιότητα μέχρι σήμερα. Τα γεύματα περιλαμβάνουν μεγάλες ποσότητες ψωμιού ολικής άλεσης, πλούσια σε ελαιόλαδο μαγειρεμένα φαγητά και σαλάτες. Τα όσπρια, τα λαχανικά και το ψάρι κατέχουν κυρίαρχη θέση στην Ελληνική διατροφή, ενώ το κρέας και τα γαλακτοκομικά προϊόντα καταναλώνονται σε μικρότερη κλίμακα. Επίσης μια μετρία ποσότητα κρασιού συνοδεύει συχνά τα Ελληνικά γεύματα.

Στην παραδοσιακή μεσογειακή διατροφή τα φυτικά τρόφιμα αποτελούν τον κορμό της ημερήσιας πρόσληψης, ενώ τα ζωικά καταναλώνονται λιγότερο συχνά.

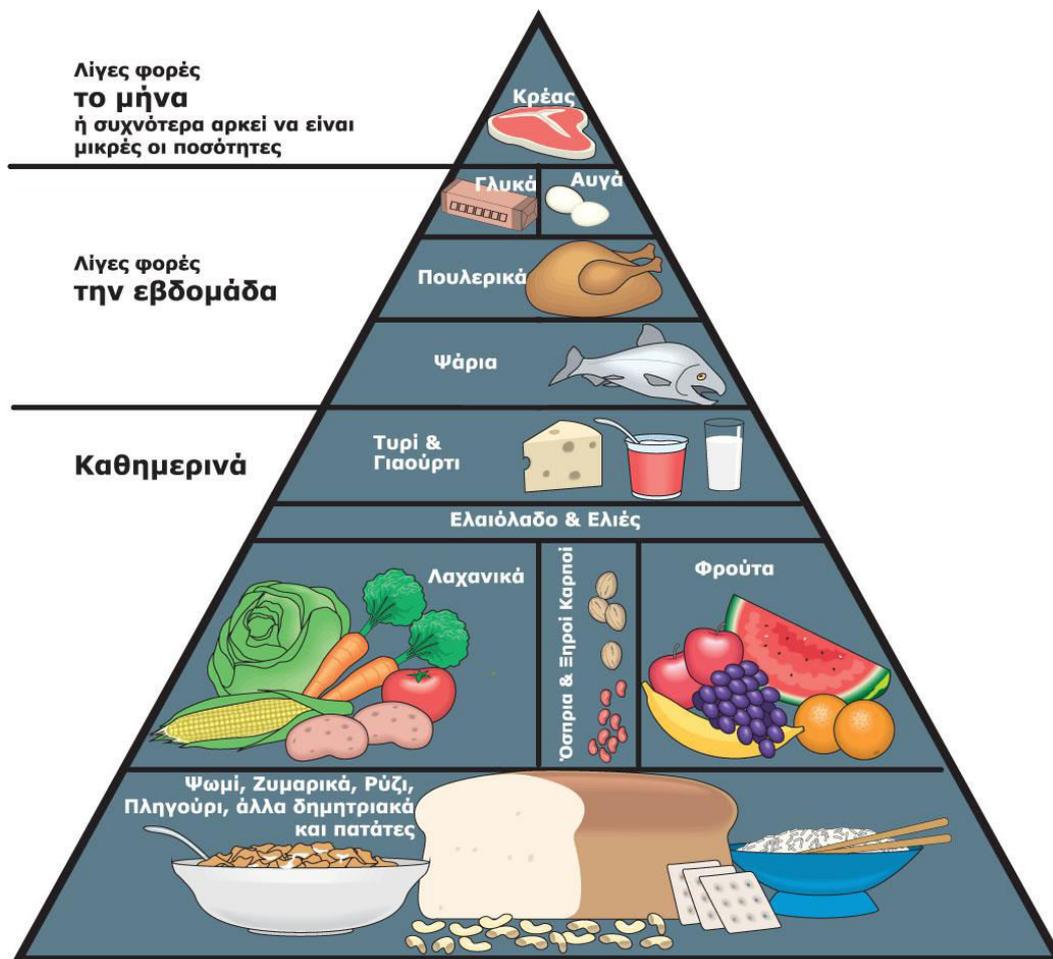
Πιο συγκεκριμένα η μεσογειακή διατροφή περιλαμβάνει: ^{(1), (6)}

- Καθημερινή κατανάλωση: φρέσκων φρούτων και λαχανικών (διάφορων ειδών αγριόχορτα) ελάχιστα επεξεργασμένων δημητριακών, ξηρών καρπών, γαλακτοκομικών προϊόντων, ελαιολάδου, ως κύρια πηγή λιπαρών και ελιές.
- Εβδομαδιαία κατανάλωση: ψαριών, πουλερικών, αυγών και οσπρίων.
- Μηνιαία κατανάλωση: κόκκινου κρέατος και των προϊόντων του.
- Μέτρια κατανάλωση: κρασιού, συνήθως μαζί με το γεύμα.

Η πυραμίδα της μεσογειακής διατροφής χωρίζεται σε τρία επίπεδα βάση της συχνότητας κατανάλωσης των τροφίμων που απεικονίζει (σε μηνιαία, εβδομαδιαία και καθημερινή βάση).



Εικόνα: Βασικά συστατικά μεσογειακής διατροφής



Εικόνα: Διατροφική πυραμίδα⁽⁴³⁾

Η διατροφή αυτή έχει την ακόλουθη σύσταση:

- 50-55% υδατάνθρακες, 10-15% πρωτεΐνες και 30-35% λιπίδια.
- Τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα αποτελούν το 15-20% των συνολικών ημερήσιων θερμίδων, το 10-15% είναι πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, ενώ λιγότερο από 10% των λιπαρών είναι κορεσμένα.⁽⁷⁾
- Επίσης περιέχει μεγάλες ποσότητες αντιοξειδωτικών βιταμινών (βιταμίνες C, A, E και β-καροτένιο) και ω-3 λιπαρών οξέων.⁽²⁾

Τα παραδοσιακά αυτά τρόφιμα της μεσογειακής διατροφής ενσωματώνουν τη γνώση και τη σοφία των γενεών του παρελθόντος οι οποίες, ζώντας κάτω από

δύσκολες συνθήκες, έμαθαν πώς να αξιοποιούν τα τοπικά διαθέσιμα προϊόντα με σκοπό την παραγωγή εύγευστων εδεσμάτων και συνταγών συμβατών με τις επιταγές της σωστής διατροφής. Φαίνεται ότι ο συνδυασμός των τροφίμων και οι βιολογικές αλληλεπιδράσεις των διαφορετικών συστατικών της μεσογειακής διατροφής αποτελούν σημαντικά οφέλη για την υγεία. ⁽⁵⁾

Η μεσογειακή διατροφή ασκεί ευεργετική επίδραση στην αντιμετώπιση νοσημάτων του καρδιαγγειακού συστήματος, στο διαβήτη τύπου 2, στον καρκίνο και στην παχυσαρκία. Συμβάλλει επίσης στη μακροζωία. Συγκεκριμένα, μελέτη έδειξε ότι άτομα που ακολουθούσαν τη μεσογειακή διατροφή εμφάνιζαν 14% χαμηλότερη θνησιμότητα. Μπορεί ακόμη να μειώσει τον κίνδυνο των νόσων Αλτσχάιμερ και Πάρκινσον. ⁽⁸⁾

Τα παραδοσιακά μεσογειακά τρόφιμα αποτελούν μια διαχρονική έκφραση της πολιτισμικής μας κληρονομιάς. Παρά το γεγονός λοιπόν ότι ζούμε σε μια εποχή παγκοσμιοποίησης, πολλά παραδοσιακά μεσογειακά τρόφιμα έχουν ιστορία αιώνων και έχουν αφήσει τη σφραγίδα τους στο σημερινό μεσογειακό τρόπο διατροφής. ⁽⁵⁾

Η ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΡΑΣΙΟΥ ΣΤΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Το κρασί ήταν και είναι απαραίτητο συνοδευτικό της Μεσογειακής Δίαιτας, με πρωτεύοντα ρόλο σε οποιαδήποτε κοινωνική εκδήλωση και οικογενειακή γιορτή και εξέχουσα θέση στον Χριστιανισμό (μέσω της Θείας Κοινωνίας), διαθέτει ποικίλους συμβολικούς χαρακτήρες. Το δημοφιλές αυτό αλκοολικό ποτό, προϊόν ζύμωσης των σταφυλιών, έχει καταφέρει να περάσει ανέπαφο μέσα από πολιτιστικά, θρησκευτικά και εμπορικά σύνορα ξεδιπλώνοντας το μεθυστικό άρωμα και την πλούσια γεύση που κρύβει μέσα του.

Η ευεργετική δράση του κρασιού στην υγεία αναδεικνύεται μόνο όταν πίνεται με μέτρο σε καθημερινή βάση συνοδεύοντας το φαγητό. Το Μεσογειακό πρότυπο διατροφής συστήνει μέτρια πρόσληψη κρασιού. Αυτό σημαίνει κατά μέσο όρο ένα έως δύο ποτηράκια κρασί ημερησίως για τους άντρες και ένα ποτηράκι για τις γυναίκες. Ένα ποτήρι κρασί ισοδυναμεί με 118ml κρασί.

Ένας από τους λόγους που οι επιστήμονες έστρεψαν το ενδιαφέρον τους στο κρασί και τις επιδράσεις του στην υγεία του ανθρώπου ήταν το «Γαλλικό παράδοξο». Ενώ οι Γάλλοι καταναλώνουν αρκετά λιπαρά τρόφιμα και η διατροφή τους είναι υψηλή σε χοληστερόλη, έχουν χαμηλά επίπεδα καρδιακών νοσημάτων. Διάφορες μελέτες που έγιναν για το παράδοξο αυτό συμπέραναν ότι η μέτρια κατανάλωση κρασιού με ένα ή δύο ποτηράκια την ημέρα, που είναι διαδεδομένη συνήθεια στη Γαλλία, είναι ο κύριος λόγος για το φαινόμενο αυτό. Μεταγενέστερες έρευνες έδειξαν ότι αυτοί που έχουν μια μέτρια κατανάλωση κρασιού είναι υγιέστεροι από αυτούς που πίνουν άλλα αλκοολούχα ποτά ή δεν πίνουν καθόλου. Επίσης φάνηκε ότι η μέτρια κατανάλωση οίνου συσχετίστηκε με λιγότερο κίνδυνο για ορισμένες ασθένειες όπως τα εγκεφαλικά επεισόδια, καρκίνο του πνεύμονα, καρκίνο του άνω πεπτικού συστήματος και μικρότερη συχνότητα θανάτου.⁽⁹⁾

ΟΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ ΛΕΥΚΟΥ ΚΡΑΣΙΟΥ

Ο ΟΙΝΟΣ ΣΤΗΝ ΑΡΧΑΙΑ ΕΛΛΑΔΑ

Η διαδικασία της αμπελουργίας εικάζεται πως έχει τις ρίζες την στην αγροτική επανάσταση και τη μόνιμη εγκατάσταση πληθυσμών με σκοπό την καλλιέργεια, χρονολογείται δηλαδή γύρω στο 5000π.Χ. από τους πρώτους γνωστούς αμπελοκαλλιεργητές θεωρούνται οι αρχαίοι Πέρσες, οι Σημιτικοί λαοί και οι Ασσύριοι.⁽⁴⁴⁾ Μεταγενέστερα οι γνώσεις αμπελουργίας και οινοποιίας μεταφέρθηκαν στους Αιγύπτιους, τους λαούς της Φοινίκης και τους πληθυσμούς της Μικρασίας και του Ελλαδικού χώρου.

Οι Αρχαίοι Έλληνες έπιναν το κρασί αναμειγνύοντάς το με νερό, σε αναλογία συνήθων 1:3 (ένα μέρος οίνου προς τρία μέρη νερού). Διέθεταν ειδικά σκευή τόσο για την ανάμειξη (κρατήρες) όσο και για την ψύξη του.⁽⁴⁴⁾ Η πόση κρασιού που δεν είχε αναμειχθεί με νερό (‘‘άκρατος οίνος’’) θεωρείτο βαρβαρότητα και συνηθιζόταν μόνο από αρρώστους ή κατά τη διάρκεια ταξιδιών ως τονωτικό. Διαδεδομένη ήταν ακόμα η κατανάλωση κρασιού με μέλι καθώς και η χρήση μυρωδικών. Η προσθήκη αμνιθίου στο κρασί ήταν επίσης γνωστή μέθοδος (αποδίδεται στον Ιπποκράτη και αναφέρεται ως ‘‘Ιπποκράτειος Οίνος’’) όπως και η προσθήκη ρητίνης.

Ο τρόπος παραγωγής του κρασιού σε παλαιότερες εποχές δεν διέφερε ουσιαστικά από τις σύγχρονες πρακτικές. Είναι αξιοσημείωτο πως 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 ρετσίνα. Το κρασί εμφιαλωνόταν σε ασκούς ή σε σφραγισμένους πήλινους αμφορείς αλειμμένους με πίσσα για να μένουν στεγανοί.

Το εμπόριο των ελληνικών κρασιών απλωνόταν σε ολόκληρη τη Μεσόγειο μέχρι την ιβηρική χερσόνησο και τον Εύξεινο πόντο και αποτελούσε μία από τις σημαντικότερες οικονομικές δραστηριότητες της εποχής. Σε αρκετές πόλεις υπήρχαν ειδικοί νόμοι ώστε να εξασφαλίζεται η ποιότητα του κρασιού, αλλά και ενάντια στον ανταγωνισμό και τις εισαγωγές. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η νομοθεσία της Θάσου, σύμφωνα με την οποία πλοία με ξένο κρασί που πλησίαζαν το νησί θα έπρεπε να δημεύονται. Χαρακτηριστικό ήταν το κρασί Δέθνης (ίσως το αρχαιότερο

κρασί με ονομασία προέλευσης) που παραγόταν στη Δενθαλιάτιδα Χώρα (σημερινή περιοχή Αλαγονίας).⁽⁴⁴⁾

Οι Ρωμαίοι ήρθαν σε επαφή με το κρασί από τους Έλληνες αποίκους και τους γηγενείς Ετρούσκους και επιδόθηκαν επίσης στην αμπελοκαλλιέργεια. Μετά την κατάρρευση της Ρώμης και τις μεταναστεύσεις των λαών η αμπελουργία γνώρισε περίοδο ύφεσης. Σε κάποιες περιοχές η αμπελουργία εγκαταλείφθηκε για αιώνες. Σημαντικό ρόλο στην διάσωση της οινοποιίας είχαν οι κληρικοί και μοναχοί, που χρειάζονταν το κρασί για τελετουργικούς σκοπούς. Την εποχή του Καρλομάγνου και του μεσαίωνα, η τέχνη του κρασιού γνώρισε ξανά άνθιση.

Στη Βυζαντινή αυτοκρατορία, οι μεγαλύτερες εκτάσεις γης ανήκαν στην εκκλησιαστική περιουσία και οι μοναχοί επωμίστηκαν την καλλιέργεια των αμπελιών καθώς και την παραγωγή του κρασιού. Αυτή την περίοδο μάλιστα πρέπει να εγκαταλείφθηκε και η πρακτική της ανάμειξης του κρασιού με νερό.

Στην Δύση, την ίδια περίοδο, η τέχνη του κρασιού γνώρισε μεγάλη ανάπτυξη. Το 16^ο αιώνα είχε εξαπλωθεί στην Ισπανία αλλά και στη Γαλλία. Την εποχή αυτή προωθούνται και αρκετές τεχνικές καινοτομίες, όπως η χρήση γυάλινης φιάλης και φελλού. Επιπλέον γίνεται γνωστή η παρασκευή αφρώδους οίνου (όπως για παράδειγμα η σαμπάνια που αποδίδεται στον Γάλλο Βενεδικτίνο μοναχό Περινιόν.)
(44)



ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΚΡΑΣΙΟΥ

Το κρασί είναι ένα αλκοολούχο ποτό, προϊόν ζύμωσης των σταφυλιών ή του χυμού τους (μούστος). Το κρασί αποτελείται από πολλές χημικές ενώσεις, κάποιες από αυτές είναι συστατικά της ρώγας του σταφυλιού ενώ άλλες είναι αποτέλεσμα της αλκοολικής ζύμωσης.⁽¹⁰⁾

Νερό⁽⁴⁵⁾

Το νερό είναι ποσοτικά το πιο σημαντικό συστατικό του κρασιού αφού περιέχεται σε ποσοστό 80-85%. Συμμετέχει σε διάφορες αντιδράσεις τόσο κατά την παραγωγή όσο και κατά την ωρίμανση του κρασιού επηρεάζοντας έτσι τα χαρακτηριστικά του. Είναι καθοριστικό της πυκνότητάς του ενώ έχουν βρεθεί κάποια υδατοδιαλυτά συστατικά τα οποία όμως δεν έχουν σημαντικό ρόλο.

Αλκοόλες⁽⁴⁵⁾

Αιθανόλη

Η αλκοόλη που περιέχεται κατά κύριο λόγο στο κρασί είναι η αιθανόλη η οποία είναι προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης των σταφυλιών. Στα περισσότερα κρασιά το ποσοστό της κυμαίνεται μεταξύ 9% και 15%. Η αιθανόλη επηρεάζει τη διαδικασία παραγωγής και ωρίμανσης του κρασιού καθώς και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του.

Μεθανόλη

Η μεθανόλη παράγεται από την απομεθυλίωση των πηκτινών οι οποίες προέρχονται από τα στερεά συστατικά του κρασιού. Βρίσκεται σε συγκέντρωση 0,1-0,2 g/L. Τα ερυθρά κρασιά έχουν υψηλότερη συγκέντρωση μεθανόλης από τα λευκά. Η μεθανόλη μετά τα μεταβολισμό της στο σώμα παράγει φορμαλδεΐδη και μυρμηγκικό οξύ, προϊόντα που είναι τοξικά για το κεντρικό νευρικό σύστημα. Το κρασί έχει την χαμηλότερη περιεκτικότητα σε μεθανόλη από όλα τα αλκοολούχα ποτά.

Άλλες αλκοόλες που περιέχονται στο κρασί είναι η 3-μέθυλο-βουτανόλη, η 2-μέθυλο-βουτανόλη, η 2-μέθυλο-προπανόλη και η 1-προπανόλη. Επίσης περιέχονται και

διάφορες πολυαλκοόλες όπως η μαννιτόλη, η γλυκερόλη, η αραβιτόλη, η ερυθριτόλη, η σορβιτόλη και η ινοσιτόλη.

Λοιπά συστατικά ⁽⁴⁵⁾

Τα λοιπά συστατικά αποτελούν μόλις το 3% της σύστασης του κρασιού είναι εκατοντάδες έως και χιλιάδες χημικές ενώσεις που καθορίζουν την γεύση αλλά και την υφή του. Από αυτές οι σημαντικότερες είναι:

Ανόργανα συστατικά

Τα ανόργανα συστατικά προέρχονται από τα στερεά μέρη του σταφυλιού. Για το λόγο αυτό τα κόκκινα κρασιά είναι πιο πλούσια σε αυτά από τα λευκά. ⁽⁴⁵⁾ Τα κυριότερα ανόργανα συστατικά είναι:

- Ανιόντα: SO_4^{2-} , Cl^- , PO_4^{2-} , Si, B, F^- , Br^- , I
- Κατιόντα: K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Cu^+ , Cu^{2+} , Al^{3+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , As^{3+} , Pb^{2+}

Οργανικά συστατικά ⁽⁴⁵⁾

Οργανικά οξέα

Τα κυριότερα οργανικά οξέα που περιέχονται στο κρασί είναι το τρυγικό οξύ (2-5g/L), μηλικό οξύ (0-4g/L), το κιτρικό οξύ (0-1g/L). Τα οργανικά οξέα είναι υπεύθυνα για την ξινή γεύση των κρασιών, για την διατήρηση του χρώματος και ταυτόχρονα προστατεύουν τα κρασιά από μικροβιολογικές ή χημικές προσβολές.

Άλλα οργανικά συστατικά που υπάρχουν στο κρασί είναι οι εστέρες (κυριότερος ο οξικός αιθυλεστέρας), τα σάκχαρα (κύρια σάκχαρα είναι η γλυκόζη και η φρουκτόζη), αζωτούχες ενώσεις, βιταμίνες (κυρίως αυτές του συμπλέγματος B και η βιταμίνη C), καρβονυλικές ενώσεις, λιποειδή και φαινολικές ενώσεις.

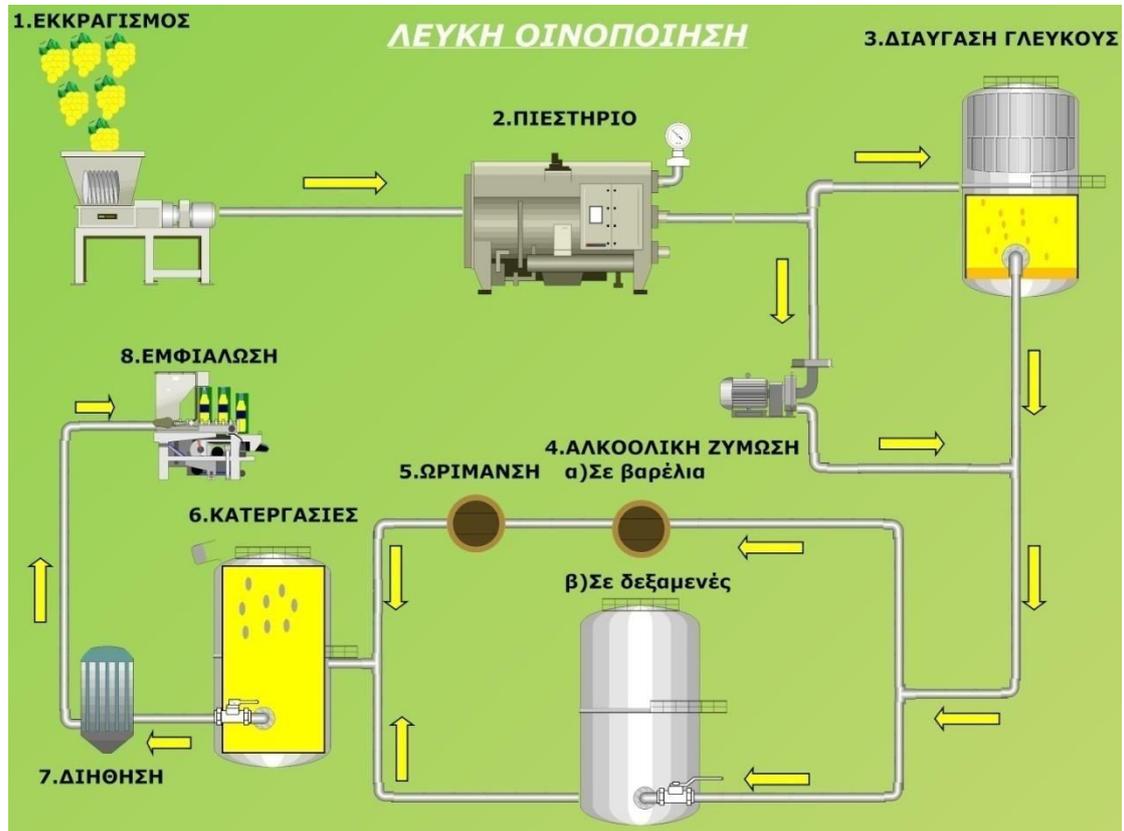
ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

Οι ρώγες του σταφυλιού, που αποτελεί και την πρώτη ύλη του κρασιού, περιέχουν σάκχαρα, οργανικά οξέα και νερό (πάνω από 70%). Η περιεκτικότητα σε αυτές τις ουσίες εξαρτάται κάθε φορά από την ποικιλία, το υπέδαφος, τις κλιματικές συνθήκες, αλλά και την χρονική στιγμή ωρίμανσης του σταφυλιού. Μετά την διαδικασία του τρύγου (συγκομιδή), ακολουθεί η γλυκοποίηση, η διαδικασία δηλαδή κατά την οποία εξάγεται το γλεύκος (ή συνήθως μούστος) από το σταφύλι. Για την έκθλιψη του μούστου χρησιμοποιούνται διάφορες μέθοδοι, συνηθέστερα με χρήση ειδικών μηχανημάτων που λειτουργούν συνθλίβοντας το σταφύλι ανάμεσα σε περιστρεφόμενους κυλίνδρους. Κατά τη γλυκοποίηση, επιβάλλεται η αφαίρεση των κοτσανιών (αποβοστρύχωση) του σταφυλιού, καθώς είναι επιζήμια τόσο για την γεύση του τελικού κρασιού όσο και για την υγεία του καταναλωτή.⁽⁴⁶⁾

Στη συνέχεια ακολουθεί η τελική διαδικασία της ζύμωσης. Το οινόπνευμα που περιέχει το τελικό προϊόν παράγεται από τα σάκχαρα του μούστου με την αντίδραση της αλκοολικής ζύμωσης, που επιτελείται από ειδικά ένζυμα, τις ζυμάσες των ζυμομυκήτων. Οι ζυμομύκητες υπάρχουν αδρανοποιημένοι στο φλοιό των σταφυλιών και καθώς έρχονται σε επαφή με τον μούστο, πολλαπλασιάζονται και επιτελούν την ζύμωση. Εκτός από την αιθυλική αλκοόλη παράγεται και διοξείδιο του άνθρακα, αλλά και μια σειρά δευτερευόντων προϊόντων και ενώσεων με καθοριστική σημασία πολλές φορές για την ποιότητα του οίνου. Η διαδικασία της ζύμωσης διαρκεί συνήθως 8-25 ημέρες. Είναι σύνηθες να παρατείνεται ή να διακόπτεται η ζύμωση με τεχνητά μέσα, κυρίως μέσω της διατήρησης της θερμοκρασίας σε χαμηλά ή υψηλά επίπεδα αντίστοιχα. Ο χρόνος της ζύμωσης είναι καθοριστικός για το κρασί που θα παραχθεί τελικά. Επιπλέον γίνεται συνήθως λόγος για λευκή και ερυθρή οινοποίηση, ανάλογα με το χρώμα του παραγόμενου κρασιού.

Ιδιαίτερη αξία έχει τέλος και η διαδικασία ωρίμανσης του κρασιού. Θεωρείται γενικά πως ένα κρασί γίνεται καλύτερο όσο παλαιώνει, ωστόσο διαφορετικά είδη κρασιού χαρακτηρίζονται και από διαφορετική διάρκεια ζωής. Επιπλέον ένα κρασί μπορεί να υποστεί και γήρανση, οπότε και δεν πρέπει να καταναλώνεται. Κύρια επιδίωξη αποτελεί στην πράξη η αργή και ελεγχόμενη οξείδωση του κρασιού. Η διάρκεια της ωρίμανσης του ποικίλλει και συνήθως κυμαίνεται από μερικούς μήνες έως λίγα χρόνια. Γενικά, ελάχιστα κρασιά έχουν διάρκεια ζωής άνω των 50 ή 100

ετών, ενώ τα περισσότερα φτάνουν στην ποιοτική τους κορύφωση εντός μερικών χρόνων.



Εικόνα: Στάδια λευκής οινοποίησης ⁽⁴⁷⁾

ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ & ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Τα κρασιά είτε ονομάζονται από την ποικιλία σταφυλιών τους είτε από τον τόπο παραγωγής τους. Ιστορικά, τα κρασιά από την Αυστραλία, τις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής και τη Γερμανία ονομάστηκαν αποκλειστικά από την ποικιλία σταφυλιών τους, ενώ κρασιά από την Γαλλία, την Ισπανία, την Ιταλία και την Ελλάδα προσδιορίστηκαν κυρίως από το γεωγραφικό τόπο παραγωγής τους.⁽⁴⁶⁾

Σημαντικό διακριτικό κάθε κρασιού είναι και το χρώμα του. Τα κρασιά διακρίνονται σε λευκά, κόκκινα και ροζέ. Είναι λανθασμένη η άποψη πως το χρώμα του σταφυλιού καθορίζει και το χρώμα του κρασιού. Στην πραγματικότητα, οι χρωστικές ουσίες του σταφυλιού περιέχονται στα στερεά μέρη του (στέμφυλα) και επομένως το χρώμα του σταφυλιού παρέχει το χρώμα του κρασιού μόνο αν και τα στερεά του μέρη συμμετέχουν στην διαδικασία ζύμωσης. Ο μούστος τόσο των κόκκινων όσο και των ανοιχτόχρωμων ποικιλιών διαθέτει το ίδιο ανοιχτό χρώμα. Έτσι, κόκκινο κρασί παράγεται από ποικιλίες κόκκινων (ή μαύρων) σταφυλιών με την προϋπόθεση ότι τα στερεά τους μέρη συμμετέχουν στη ζύμωση, ενώ λευκά κρασιά μπορούν να παραχθούν από οποιαδήποτε ποικιλία εφόσον τα στερεά μέρη των σταφυλιών διαχωριστούν στη διαδικασία της ζύμωσης. Τα ροζέ κρασιά παράγονται όπως και τα κόκκινα, με τη διαφορά ότι τα στερεά μέρη των σταφυλιών παραμένουν στη ζύμωση για ένα πολύ σύντομο χρονικό διάστημα, συνήθως μικρότερο από μία μέρα.

Τα κρασιά ταξινομούνται ακόμα με το έτος συγκομιδής σταφυλιών (τρύγος), συνήθως παράγονται από σταφύλια της συγκομιδής ενός έτους και χρονολογούνται με βάση το έτος αυτό. Επιπλέον υπάρχουν κάποιες ειδικές κατηγορίες κρασιών όπως είναι ο αφρώδης οίνος, ο οποίος περιέχει και το διοξείδιο του άνθρακα που παράγεται κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Το διοξείδιο αυτό δεν εισάγεται επιπρόσθετα στο μπουκάλι εμφιάλωσης, όπως γίνεται στα αναψυκτικά, καθώς αυτή η μέθοδος απαγορεύεται. Για τον εγκλωβισμό του διοξειδίου στη φιάλη χρησιμοποιούνται διάφορες μέθοδοι, είτε μέσω της εμφιάλωσης του κρασιού πριν ολοκληρωθεί η ζύμωση, είτε μέσω της ολοκλήρωσης της ζύμωσης σε αεροστεγείς δεξαμενές. Εκλεκτότερο παράδειγμα αφρώδους οίνου είναι η γαλλική σαμπάνια. Τα κρασιά μπορούν να ταξινομηθούν επίσης ως ξηρά, γλυκά ή ημίγλυκα. Η γλυκύτητα των κρασιών μπορεί να μετρηθεί κατά τη διαδικασία της συγκομιδής αν και στην πράξη

καθορίζεται από το ποσό της ζάχαρης που παραμένει στο κρασί μετά από τη ζύμωση. Έτσι, το ξηρό κρασί δεν περιέχει υπόλοιπο ζάχαρης.

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΚΡΑΣΙΩΝ

Ποικιλίες που καλλιεργούνται διεθνώς : ⁽⁴⁶⁾

Κόκκινα κρασιά

- Barolo – Ιταλία
- Beaujolais – Γαλλία
- Bordeaux – Γαλλία
- Burgundy – Γαλλία
- Cabernet Sauvignon – Γαλλία, Καλιφόρνια, Αυστραλία, Μολδαβία, Ελλάδα
- Carmen ere – Χιλή
- Chianti – Ιταλία
- Merlot – Γαλλία, Καλιφόρνια, Ουάσινγκτον, Χιλή, Ελλάδα
- Pinot Noir – Γαλλία, Καλιφόρνια
- Rioja – Ισπανία
- Valpolicella – Ιταλία
- Zinfandel - Καλιφόρνια

Λευκά κρασιά

- Chardonnay – Γαλλία, Καλιφόρνια, Αυστραλία, Ελλάδα
- Chablis – Γαλλία
- Frascati – Γαλλία
- Gewurztraminer – Γαλλία, Γερμανία, Σλοβακία
- Liebfraumilch – Γερμανία
- Pinot Gris / Pinot Grigio – Γαλλία, Ιταλία
- Pouilly Fuisse – Γαλλία
- Riesling – Γαλλία, Γερμανία

- Sauvignon Blanc – Γαλλία, Καλιφόρνια, Νέα Ζηλανδία, Ελλάδα
- Soave - Ιταλία

Αφρώδης Οίνος

- Champagne – Γαλλία
- Cava – Ισπανία
- Prosecco – Ιταλία
- Sekt – Γερμανία, Σλοβακία

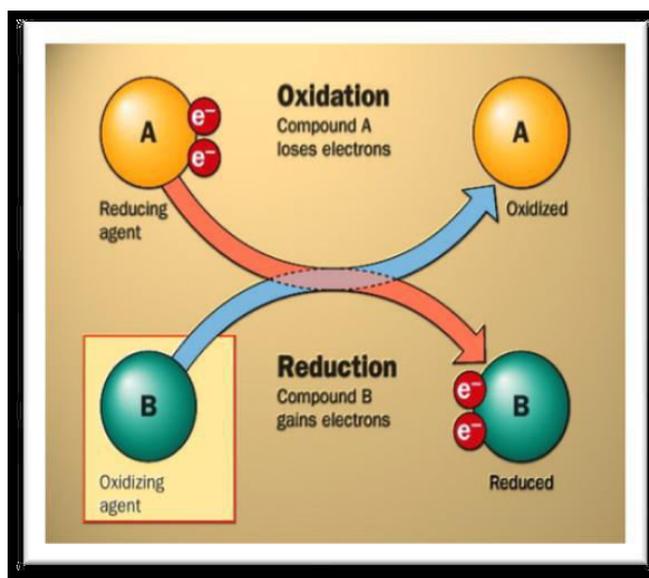
Στην Ελλάδα, κύριες αμπελουργικές περιοχές είναι η Πελοπόννησος, η Κρήτη, η Στερεά Ελλάδα και Εύβοια, η Μακεδονία και η Θράκη. Σημαντικές αμπελουργικές εκτάσεις υπάρχουν επίσης στα νησιά του Αιγαίου και του Ιονίου και στα Δωδεκάνησα.⁽¹¹⁾



Εικόνα: Λευκό, ροζέ & κόκκινο κρασί

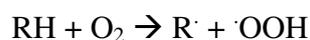
ΟΞΕΙΔΩΣΗ

Οξείδωση ενός στοιχείου είναι το φαινόμενο κατά το οποίο έχουμε αλγεβρική αύξηση του αριθμού οξείδωσης λόγω αποβολής ηλεκτρονίων ενώ στην αναγωγή συμβαίνει αλγεβρική μείωση του αριθμού οξείδωσης λόγω πρόσληψης ηλεκτρονίων. Τα δύο αυτά φαινόμενα είναι αλληλένδετα καθώς μιλάμε για αξειδωαναγωγικές αντιδράσεις. ⁽¹²⁾

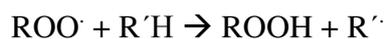
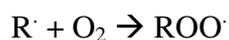


Η οξείδωση αφορά τον κορεσμό των διπλών δεσμών των ακόρεστων λιπαρών οξέων με οξυγόνο. Τα προϊόντα που σχηματίζονται, τουλάχιστον αρχικά, είναι τα υπεροξείδια. Όλη η διεργασία της οξείδωσης είναι περίπλοκη και θεωρείται ότι ακολουθεί την πορεία τριών σταδίων.

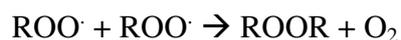
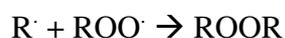
Το πρώτο στάδιο είναι το στάδιο της επώασης (*initiation*), είναι αρκετά βραδύ και επιταχύνεται παρουσία καταλυτών έναρξης της αντίδρασης. Τέτοιοι καταλύτες είναι το υπεριώδες φως, η θερμότητα, και τα βαρέα μέταλλα (ιδιαίτερα του χαλκού). Τα παράγωγα αυτού του σταδίου είναι οι ελεύθερες ρίζες των λιπαρών οξέων, λόγω απόσπασης ενός ατόμου υδρογόνου από τη γειτονική στο διπλό δεσμό μεθυλομάδα (-CH₂-) ⁽¹³⁾



Το δεύτερο στάδιο είναι αυτό της προαγωγής (*propagation*), στο οποίο το υπό μορφή ρίζας λιπαρό οξύ αντιδρά με ένα μόριο οξυγόνου, δίνοντας ως προϊόν μια ελεύθερη υπεροξειδική ρίζα. Ωστόσο παράλληλα σχηματίζεται και ένα νέο λιπαρό οξύ με μορφή ρίζας, ενώ η υπεροξειδική ρίζα μετατρέπεται σε υδροϋπεροξειδίο. ⁽¹³⁾



Στο τελικό στάδιο (*termination*) οι υπεροξειδικές ρίζες έχουν τη δυνατότητα πολυμερισμού, είτε με νέα υπεροξειδική ρίζα, είτε με ρίζα λιπαρού οξέος. Επίσης τα υδροϋπεροξειδία που σχηματίζονται μπορούν στη συνέχεια να οξειδωθούν δευτερογενώς και να διασπαστούν σε αλδεΐδες, αλδεϋδεοξέα και οξέα. ⁽¹³⁾



ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

Στο σημείο αυτό είναι καλό να υπενθυμίσουμε ότι οι πρώτοι οργανισμοί που εμφανίστηκαν στον πλανήτη μας ήταν αναερόβιοι, δηλαδή δεν χρησιμοποιούσαν ως οξειδωτικό μέσο το οξυγόνο της ατμόσφαιρας, που έτσι και αλλιώς δεν υπήρχε. Το οξυγόνο συγκεντρώθηκε σε μεγάλες ποσότητες μετά την εμφάνιση των φωτοσυνθετικών οργανισμών (κυρίως πράσινα φυτά), σαν παραπροϊόν της φωτοσυνθετικής λειτουργίας. Η εμφάνιση του ατμοσφαιρικού οξυγόνου πρόσφερε στους εξελισσόμενους οργανισμούς την ευκαιρία να χρησιμοποιήσουν το μοριακό οξυγόνο ως τελικό αποδέκτη των ηλεκτρονίων στην αλυσίδα των αντιδράσεων της αναπνοής και αποκτώντας, έτσι, τεράστια ενεργειακά πλεονεκτήματα σε σχέση με τους οργανισμούς που εξακολουθούσαν να στηρίζονται στις διαδικασίες της ζύμωσης για την εκπλήρωση των αναπνευστικών τους απαιτήσεων. Ωστόσο, η παρουσία του ενδοκυτταρικού οξυγόνου δεν ήταν απαλλαγμένη από αρνητικές επιδράσεις για τα μεγαλομόρια του κυττάρου. Πιο συγκεκριμένα, επέτρεψε το σχηματισμό ελευθέρων ριζών.⁽¹⁴⁾

Οι ελεύθερες ρίζες αποτελούν προϊόντα του φυσιολογικού κυτταρικού μεταβολισμού και είναι γνωστές ως προοξειδωτικά.⁽¹⁵⁾

Ως ελεύθερη ρίζα ορίζεται ένα άτομο ή μόριο με δυνατότητα αυτοδύναμης ύπαρξης, το οποίο περιέχει ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Η έννοια του ασύζευκτου ηλεκτρονίου υποδηλώνει ότι ένα ηλεκτρόνιο κινείται μόνο του σε μια τροχιά, γύρω από τον πυρήνα του ατόμου, σε αντίθεση με το σύνηθες φαινόμενο της ύπαρξης δύο ηλεκτρονίων σε κάθε τροχιά, τα οποία παρουσιάζουν αντίθετη στροφορμή ή spin (μαγνητική ροπή που δημιουργείται από τη περιστροφή του ηλεκτρονίου γύρω από τον άξονά του).^{(16), (17)}

Η παρουσία ασύζευκτου ηλεκτρονίου προσδίδει στις ελεύθερες ρίζες ιδιαίτερη δραστηριότητα και μπορούν είτε να δώσουν είτε να λάβουν ένα ηλεκτρόνιο, συμπεριφερόμενες έτσι ως οξειδωτικές ή αναγωγικές ουσίες αντίστοιχα.

Οι ελεύθερες ρίζες που περιέχουν οξυγόνο αναφέρονται ως δραστικές μορφές οξυγόνου (reactive oxygen species – ROS) ενώ αυτές που περιέχουν άζωτο ως δραστικές μορφές αζώτου (reactive nitrogen species – RNS).⁽¹⁸⁾

Όμως, οι όροι αυτοί δεν συμπεριλαμβάνουν μόνο ελεύθερες ρίζες που περιέχουν οξυγόνο και άζωτο αντίστοιχα, αλλά και μόρια που ενώ δεν είναι ρίζες συμπεριφέρονται όπως αυτές. Έτσι έχουμε το υπεροξείδιο του υδρογόνου και το μοριακό οξυγόνο τα οποία είναι χημικά πολύ δραστικά και μπορούν να οδηγήσουν στο σχηματισμό ελευθέρων ριζών.

Όπως είναι γνωστό η ενέργεια που χρησιμοποιεί το σώμα προέρχεται από την πέψη και το μεταβολισμό των υδατανθράκων, των πρωτεϊνών και των λιπών. Οι υδατάνθρακες μεταβολίζονται σε γλυκόζη, οι πρωτεΐνες σε αμινοξέα και τα λίπη σε γλυκερόλη και ελεύθερα λιπαρά οξέα. Κατά τη διάσπαση αυτών των ουσιών παράγεται ενέργεια η οποία και αποθηκεύεται στο μόριο της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP). Κατά το μεταβολισμό τους, λοιπόν, οι ουσίες αυτές αντιδρούν με οξυγόνο, γεγονός που οδηγεί στο σχηματισμό ελευθέρων ριζών.⁽¹⁹⁾ Η παραγωγή ελευθέρων ριζών οφείλεται και σε άλλους παράγοντες, όπως στην υπεριώδη και ιονίζουσα ακτινοβολία, στο όζον, σε φάρμακα, στην περιβαλλοντική μόλυνση, σε αρωματικούς πολυκυκλικούς υδρογονάνθρακες κτλ.

Η παραγωγή των ελευθέρων ριζών είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την ανθρώπινη ζωή. Οι ελεύθερες ρίζες έχουν διττό ρόλο, άλλοτε είναι ευεργετικές και άλλοτε επιβλαβείς για τα κύτταρα και τους οργανισμούς. Οι ευεργετικές δράσεις των ελευθέρων ριζών παρατηρούνται σε χαμηλές/μέτριες συγκεντρώσεις και αφορούν τον εφοδιασμό του οργανισμού με ενέργεια, την αποτοξίνωση, τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, την κυτταρική απόκριση στο στρες, τη μεταγωγή σήματος, την κυτταρική διαφοροποίηση, τη μεταγραφή γονιδίων, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη φλεγμονή και την απόπτωση. Οι επιβλαβείς δράσεις τους παρατηρούνται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις και ασκούνται στα βιομόρια, στις πρωτεΐνες, στα νουκλεϊκά οξέα, στα λιπίδια και μπορεί να προκαλέσουν κυτταρική και ιστική βλάβη, καθώς και το λεγόμενο οξειδωτικό στρες.⁽¹⁵⁾

ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ

Η πρόσφατη ανάπτυξη των γνώσεων στη βιολογία σχετικά με τις ελεύθερες ρίζες και τα δραστικά είδη οξυγόνου έστρεψε το ενδιαφέρον των ερευνητών σε νέες μελέτες προκειμένου να διευκρινιστούν τα συστήματα που εμπλέκονται στη δημιουργία των ελευθέρων ριζών καθώς και για τα τρόφιμα και τις ουσίες που τις προκαλούν ή τις αναστέλλουν.

Τα μόρια αποτελούνται από έναν ή περισσότερους ατομικούς πυρήνες οι οποίοι περιβάλλονται από ηλεκτρόνια τα οποία περιστρέφονται γύρω από τον πυρήνα. Τα ηλεκτρόνια είναι διευθετημένα σε τροχιακά, τα οποία βρίσκονται σε διαφορετικές αποστάσεις από τον πυρήνα. Τα ηλεκτρόνια που καταλαμβάνουν ένα τροχιακό, μπορεί να είναι είτε σε ζεύγη είτε ασύζευκτα (μονήρη ηλεκτρόνια). Τα ηλεκτρόνια κάθε ζεύγους έχουν αντίρροπο spin. Η ύπαρξη συζευγμένων ηλεκτρονίων συμβάλλει στη σταθερότητα του μορίου – μικρότερη ενεργειακή κατάσταση – και ως εκ τούτου λιγότερο δραστικό. Όταν ένα ή περισσότερα ηλεκτρόνια, ιδιαίτερα αυτά που βρίσκονται στα εξωτερικά τροχιακά του ατόμου, είναι ασύζευκτα, τότε το μόριο γίνεται ασταθές-σε μεγαλύτερη ενεργειακή κατάσταση-και συνεπώς πιο δραστικό από άλλα μόρια. Ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο ασκεί έλξη στα ηλεκτρόνια γειτονικών ατόμων με αποτέλεσμα την πρόκληση χημικών αντιδράσεων μεταξύ ατόμων ή μορίων, κατά τις οποίες έχουμε μεταφορά ηλεκτρονίων.

Ένα άτομο ή μόριο με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια λέγεται ελεύθερη ρίζα και συμμετέχει πολύ εύκολα σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής με γειτονικά μόρια.⁽²⁰⁾ Κατά τις αντιδράσεις αυτές όχι μόνο μεταβάλλονται σημαντικά τα γειτονικά μόρια-στόχοι, αλλά μερικές φορές μεταβιβάζονται τα ασύζευκτα ηλεκτρόνια από στόχο σε στόχο, δημιουργώντας έτσι μια δεύτερη, Τρίτη, κ.ο.κ. ελεύθερη ρίζα υπό μορφή αλυσιδωτής αντίδρασης. Η πολύ μεγάλη βλαπτική επίδραση των ελευθέρων ριζών οφείλεται ακριβώς στον πολλαπλασιασμό των μεταβολών που προκαλούνται από παρόμοιες αλυσιδωτές αντιδράσεις.⁽²¹⁾ Μια ποικιλία ελευθέρων ριζών σχηματίζεται καθημερινά στον οργανισμό μας, από αιτίες όπως υψηλή συγκέντρωση οξυγόνου, έκθεση σε ουσίες όπως το όζον, η αιθαλομίχλη, χημικά φάρμακα καθώς και κατά τη διάρκεια φυσιολογικών λειτουργιών.⁽²²⁾ Οι πλέον σημαντικές ελεύθερες ρίζες είναι μοριακά είδη με κέντρο το οξυγόνο που αναπνέουμε και μερικές φορές το άζωτο ή τον άνθρακα. Το ίδιο το οξυγόνο που αναπνέουμε αποτελεί μια ελεύθερη ρίζα, αφού περιέχει δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια

που βρίσκονται σε δύο διαφορετικά τροχιακά. Συνολικά όλα τα μοριακά είδη που περιλαμβάνουν οξυγόνο, είτε είναι ελεύθερες ρίζες είτε όχι, ονομάζονται δραστικά είδη οξυγόνου (ΔΕΟ).⁽²³⁾

Οι ελεύθερες ρίζες αναπτύσσονται ενδογενώς στον οργανισμό σε ένα σύνολο μεταβολικών διαδικασιών και αυξάνονται από εξωτερικούς παράγοντες επιβαρυντικούς για την υγεία, όπως η ατμοσφαιρική ρύπανση, το κάπνισμα, το άγχος, η σωματική κόπωση, η κακή διατροφή, τα χημικά πρόσθετα των τροφών, η έκθεση στην έντονη ηλιακή ακτινοβολία καθώς και η λήψη φαρμάκων.

ΒΛΑΒΕΣ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝΤΑΙ ΑΠΟ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

Οι ελεύθερες ρίζες είναι υψηλής δραστικότητας μόρια, που μπορούν να αντιδράσουν με όλα τα βασικά συστατικά του κυττάρου και εύκολα να οξειδώσουν και να τροποποιήσουν ζωτικά βιολογικά μόρια όπως υδατάνθρακες, λίπη, πρωτεΐνες και DNA, όπως και τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα που είναι ενσωματωμένα στις κυτταρικές μεμβράνες και είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στην οξείδωση.

Η αυξημένη συγκέντρωση ελευθέρων ριζών σχετίζεται με την ανάπτυξη και ταχύτερη εξέλιξη διαφόρων ασθενειών. Σε φυσιολογικές συνθήκες υπάρχει στον οργανισμό μια προστασία από τις ελεύθερες ρίζες, όπως αυτή που προσφέρουν ορισμένα ένζυμα και διάφορα αντιοξειδωτικά μόρια. Όταν η ισορροπία ανάμεσα στις ελεύθερες ρίζες και την αντιοξειδωτική άμυνα διαταραχτεί, τότε οι ελεύθερες ρίζες μπορεί να συμβάλλουν στην ανάπτυξη διαφόρων ασθενειών, όπως:

- Υπεροξείδωση λιπιδίων
- Μετουσίωση πρωτεϊνών
- Μεταλλάξεις στο DNA
- Τροποποιήσεις στους υδατάνθρακες

Η μεγάλη συσσώρευση ελευθέρων ριζών, από οποιαδήποτε αιτία και αν προέρχεται, προκαλεί αυτό που ονομάζουμε οξειδωτικό στρες.

ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Ως οξειδωτικό στρες ορίζεται το χημικό στρες που δημιουργείται από την υπερβολική παρουσία ελεύθερων ριζών, η οποία οφείλεται στην υπερβολική παραγωγή ή και την αδυναμία του ζωντανού οργανισμού να εξουδετερώσει τις ελεύθερες ρίζες, που έχουν παραχθεί με οποιονδήποτε τρόπο. Υπάρχει ουσιαστικά ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών ουσιών, με τα οξειδωτικά να υπερέχουν. ⁽²⁴⁾

Η άνιση αυτή σχέση μεταξύ οξειδωτικού και αμυντικού συστήματος είναι υπεύθυνη για την πρόωρη γήρανση και διάφορα νοσήματα όπως, καρδιαγγειακά, εγκεφαλικά επεισόδια, εμφράγματα, σακχαρώδη διαβήτη, παχυσαρκία, ρευματοειδή αρθρίτιδα, νόσο του Chron, νόσο του Parkinson κ.α. Συνεπώς καταλήγει σε μια σειρά λειτουργικών και δομικών κυτταρικών αλλαγών, οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν το κύτταρο σε απόπτωση ή νέκρωση. Οι ελεύθερες ρίζες ευθύνονται επίσης για περίπου 10.000 μετατροπές βάσεων DNA ανά κύτταρο ανά ημέρα. ⁽²⁵⁾

Το οξειδωτικό στρες εκτιμάται μετρώντας είτε την καταστροφή είτε την παρουσία αυξημένων επιπέδων ελεύθερων ριζών.

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ

Ελεύθερη ρίζα με την νεότερη έννοια είναι ένα άτομο ή ομάδα ατόμων που φέρει ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο. Υπάρχουν και οι διρίζες που τα δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια βρίσκονται σε μια απόσταση μεταξύ τους αλλά στο ίδιο μόριο. Με την έννοια αυτή τα άτομα του χλωρίου (Cl) και του νατρίου (Na), το άτομο του μονοξειδίου του αζώτου (NO) και η μεθυλική ρίζα (CH₃) είναι ελεύθερες ρίζες.

Μια γνωστή ελεύθερη ρίζα που χρησιμοποιείται στις μετρήσεις σταθερών του ηλεκτρονικού παραμαγνητικού συντονισμού (ΗΠΣ) είναι το διγαινυλοπικρυλυδραζύλιο (DPPH), άλλες σταθερές ρίζες στην Οργανική χημεία είναι η ελεύθερη ρίζα Calvinoxyl και τα νιτροξειδία.

Τα νιτροξειδία είναι ενώσεις με την ομάδα που φέρει τριών ηλεκτρονίων δεσμό N-O. οι ενώσεις αυτές χρησιμοποιούνται στην δέσμευση δραστικών

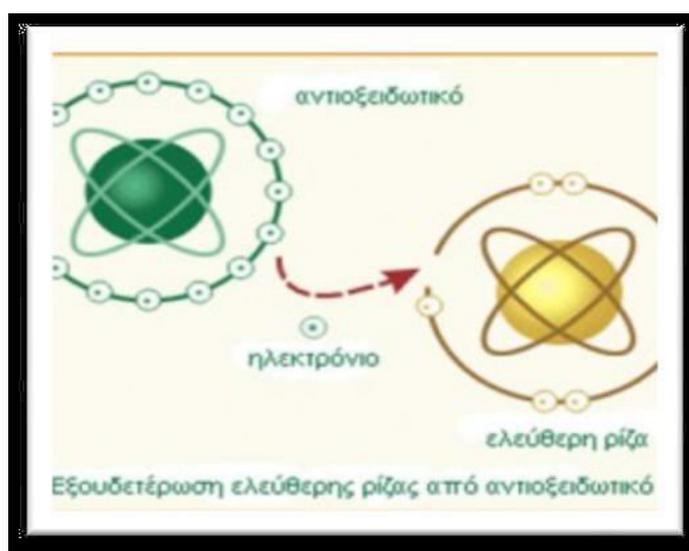
ελευθέρων ριζών, όπως τις ρίζες του υδροξυλίου (OH), το υπεροξειδικό ανιόν (O_2^-) και άλλες οργανικές ρίζες. (R)

Οι ελεύθερες ρίζες και η δομή τους μπορούν να μελετηθούν κυρίως με την φασματοσκοπία ηλεκτρονικού παραμαγνητικού συντονισμού (ΗΠΣ). Επίσης οι ελεύθερες ρίζες ανάλογα με την σταθερότητα και την ιδιαίτερη δομή τους μπορούν να μελετηθούν και με υπεριώδη ορατή ακτινοβολία, καθώς και με μια παραλλαγή του πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού που λέγεται χημικώς επαγόμενη δυναμική πυρηνική πόλωση και με φασματομετρία μάζας.⁽²⁶⁾

ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

Τα αντιοξειδωτικά είναι ουσίες που εμποδίζουν ή επιβραδύνουν την οξείδωση των συστατικών των τροφίμων η οποία προκαλείται από το ατμοσφαιρικό οξυγόνο. Τα περισσότερα αντιοξειδωτικά είναι αρωματικές ενώσεις, που διαθέτουν μια τουλάχιστον ελεύθερη υδροξυλική ομάδα ή αμινική ομάδα. Οι σημαντικότερες ενώσεις που προστίθενται στα τρόφιμα ανήκουν στις πολυκυκλικές φαινόλες, με μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες.

Τα αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται κυρίως σε συνδυασμό με τους λεγόμενους συνεργούς σταθεροποιητές και συμπλοκοποιητές. Τα μίγματα αυτά συντελούν στην ενεργοποίηση και την βελτίωση της αντιοξειδωτικής δράσης, στη διεύρυνση της εφαρμογής των αντιοξειδωτικών σε περισσότερες κατηγορίες τροφίμων, καθώς και στην ευκολότερη χρησιμοποίησή τους. Στην κατηγορία των συνεργών ουσιών ανήκουν διάφορες χημικές ενώσεις, όπως τα οξέα και τα άλατα. ⁽²⁷⁾



ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ

Τα αντιοξειδωτικά με βάση την προέλευση τους διακρίνονται στις παρακάτω κατηγορίες:

- ❖ **Συνθετικά αντιοξειδωτικά:** τα αντιοξειδωτικά αυτά συντίθενται βιομηχανικά/πολλά από αυτά, αν και παρουσιάζουν ακόμη και έντονη αντιοξειδωτική δράση, δεν χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα τροφίμων, λόγω των αρνητικών

επιπτώσεων τους στον ανθρώπινο οργανισμό. Συνθετικά αντιοξειδωτικά που επιτρέπονται ως πρόσθετα τροφίμων είναι το BHT, το BHA, το Trolox, το PG, το TBHQ κ.ά.

- ❖ Φυσικά αντιοξειδωτικά: η πλειοψηφία των φυσικών αντιοξειδωτικών είναι φαινολικές ενώσεις οι οποίες χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: τις τοκοφερόλες, τα φλαβονοειδή και τα φαινολικά οξέα.

Ιδιαίτερα σημαντική είναι η γλουταθειόνη, ένα τριπεπτίδιο που απαντάται σε υψηλές συγκεντρώσεις σε όλα σχεδόν τα κύτταρα. Η γλουταθειόνη περιέχει έναν άτυπο γ-πεπτιδικό δεσμό ανάμεσα στο γλουταμινικό οξύ (Glu) και την κυστεΐνη (Cys). Η ομάδαθειόλης του κατάλοιπου κυστεΐνης είναι οξειδωαναγωγικά ενεργή. Κατά την διάρκεια της οξείδωσης ενώνονται δυο μόρια της αναχθείσας μορφής στο δισουλφίδιο. ⁽²⁸⁾

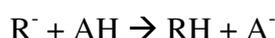
Ένα αντιοξειδωτικό πρέπει να συνδυάζει τις εξής ιδιότητες:

- Να είναι αποτελεσματικό σε όσο το δυνατόν μικρότερη ποσότητα.
- Να μην έχει καμία βλαβερή επίδραση στην υγεία του ανθρώπου.
- Να μην προσδίδει στο τρόφιμο δυσάρεστη οσμή και γεύση.
- Να είναι έστω και ελάχιστα λιποδιαλυτό.
- Να είναι όσο γίνεται σταθερό στα διάφορα στάδια επεξεργασίας του τροφίμου.

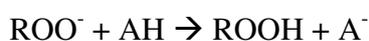
ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ

Η δράση των αντιοξειδωτικών στηρίζεται στην απομάκρυνση ή την εξουδετέρωση των ROO^- και R^- ελευθέρων ριζών και σε ορισμένες περιπτώσεις στην πλήρη αναστολή της οξείδωσης (στα σουλφονικά, στη διάσπαση από τα υπεροξειδία). Επειδή τα περισσότερα αντιοξειδωτικά δημιουργούν αλυσιδωτές αντιδράσεις, επιβραδύνουν την παραγωγή ελευθέρων ριζών ROO^- και R^- με τη δημιουργία μιας ανενεργού και αντιοξειδωτικής ελεύθερης ρίζας.

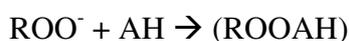
Η απενεργοποίηση και η αναστολή της δράσης της ελεύθερης ρίζας συντελεί στην άρση της αλυσιδωτής αντίδρασης και στην παραγωγή σταθερών προϊόντων, μέσω διμερισμού. Η άμεση αντίδραση του αντιοξειδωτικού (AH) με ένα υπόστρωμα ελεύθερης ρίζας R, δίνεται από την αντίδραση:



Φαίνεται να μην έχει την παραμικρή σχέση με την αντίδραση του αντιοξειδωτικού με την ελεύθερη ρίζα ενός υπεροξειδίου ROO^{\cdot} :



Με τον ίδιο μηχανισμό δημιουργείται και ένα σύμπλοκο μεταξύ του μορίου του αντιοξειδωτικού και της ελεύθερης ρίζας του υπεροξειδίου :



Το σύμπλοκο αυτό μπορεί να δράσει με άλλες ελεύθερες ρίζες και να οδηγήσει στην αναστολή της οξειδωσης. Σε ορισμένες περιπτώσεις (μερική πίεση ατμοσφαιρικού οξυγόνου, θερμοκρασία δωματίου) διασπάται η αλυσίδα της ελεύθερης ρίζας και έχουμε σύγκρουση δυο ελευθέρων υπεροξειδίων ριζών. ⁽²⁹⁾



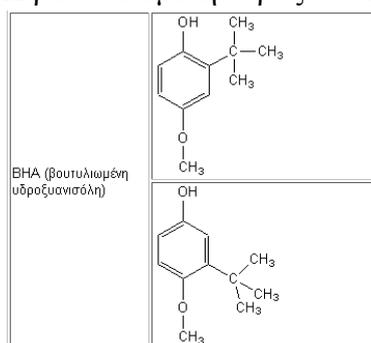
Επιγραμματικά αποδεικνύεται πως όλοι οι αναστολείς της οξειδωσης πρέπει αφενός να είναι ενεργοί ώστε να αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες και να διασπασουν την αλυσίδα και αφετέρου μεταφορικά ενεργά για να αποφευχθεί η άμεση αντίδραση του οξυγόνου με την ανταλλασσόμενη ελεύθερη ρίζα. Η μεγάλη δραστηριότητα των

αντιοξειδωτικών, σε συνδυασμό με τις υψηλές συγκεντρώσεις κατά τη φάση της διάδοσης, μπορεί για παράδειγμα να οδηγήσει στη λειτουργία των αντιοξειδωτικών ως μεταφορέων και κατά συνέπεια στη δράση τους ως προοξειδωτικά.

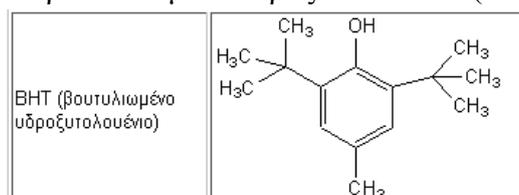
Όλοι αυτοί οι παράγοντες καθιστούν ολοφάνερο πως η προσθήκη των αντιοξειδωτικών πρέπει να γίνεται πολύ πριν από το στάδιο της προαγωγής. Αν όμως στο υπόστρωμα αυξηθεί η συγκέντρωση των ελευθέρων ριζών, τότε το προστιθέμενο αντιοξειδωτικό ανταποκρίνεται γρήγορα και θα καταναλωθεί, οπότε είναι πλέον αδύνατον να επιβραδυνθεί με παρεμβολή η πρόοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης.⁽²⁹⁾

Τα πιο γνωστά αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται στην τεχνολογία τροφίμων είναι^{(30), (31)}:

1. Η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA)



2. Το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT)



3. Εστέρες του γαλλικού οξέος, όπως ο προπυλικός (PG), ο οκτυλικός και δωδεκυλικός.
4. Η δι-τρι-βουτυλο-υδροκινόνη (TBHQ)

Επίσης στα αντιοξειδωτικά ανήκουν οι τοκοφερόλες, τα φαινολικά, αναγωγικές ενώσεις όπως τοθειώδες οξύ και τα άλατά του, το κιτρικό οξύ και το EDTA.⁽³²⁾

ΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΤΟΥ ΟΙΝΟΥ

Τα συστατικά του οίνου είναι δυνατόν να διακριθούν σε τρεις μεγάλες κατηγορίες: α) το νερό, β) τα οργανικά συστατικά γ) τα ανόργανα συστατικά.

Στα οργανικά συστατικά του συγκαταλέγονται τα φαινολικά συστατικά του οίνου, τα οποία αποτελούν και τις αντιοξειδωτικές του ουσίες. Οι ουσίες αυτές επηρεάζουν το χρώμα των οίνων, συμμετέχουν στη διαμόρφωση ορισμένων χαρακτηριστικών τους (στυφάδα, τραχύτητα), προσφέρουν στους οίνους αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή προστασία και παίζουν αποφασιστικό ρόλο στην παλαίωση και στις διάφορες τεχνολογικές επεξεργασίες (π.χ. κολλάρισμα). Προέρχονται από τον φλοιό και τα κουκούτσια των σταφυλιών και τους βλαστούς του κλήματος.

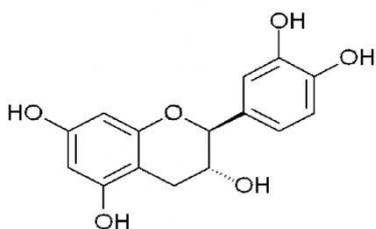
Το σύνολο των φαινολικών οξέων, ελεύθερων ή με μορφή ενώσεων, φτάνει τα 100-150 mg/L στους ερυθρούς οίνους, ενώ στους λευκούς περιορίζονται στα 10-15 mg/L.⁽³³⁾

Φαινόλες

Τα φαινολικά είναι σημαντικά για τον οίνο, γιατί έχουν αντιβιοτικές και αντισηπτικές ιδιότητες (βενζοϊκό οξύ, σαλικυλικό οξύ) και χρησιμοποιούνται για την συντήρηση τροφίμων. Ενδέχεται τα οξέα αυτά να παίζουν κάποιο ρόλο στη μικροβιολογική κατάσταση του οίνου, έναντι κυρίως των βακτηρίων.⁽³³⁾

Τα ερυθρά κρασιά περιέχουν φαινόλες σε σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις από τα λευκά κρασιά. Εξαίρεση αποτελούν το γεντισικό και το φερουλικό οξύ. Σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις της τελευταίας ένωσης είναι χαρακτηριστικό του κρασιού Riesling.⁽³³⁾

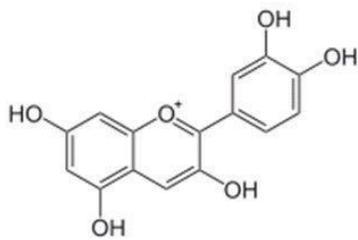
Φλαβονόλες



Στις φλαβονοειδής φαινόλες περιλαμβάνονται οι φλαβονόλες που έχουν ανοικτό κίτρινο χρώμα και αφθονούν στα κουκούτσια, οι φλαβονόλες-3 (κατεχίνες) που υπάρχουν κυρίως στη φλούδα και στα κουκούτσια και οι φλαβονοδιόλες 3,4 που υπάρχουν στη φλούδα και κυρίως στα κουκούτσια.

Επειδή οι φλαβονοειδείς φαινόλες βρίσκονται στο εσωτερικό του φλοιού και στα κουκούτσια, σε κανονικές συνθήκες δεν υπάρχουν στους λευκούς οίνους.⁽³³⁾

Οι ανθοκυάνες



Οι ανθοκυάνες είναι ερυθρές χρωστικές του σταφυλιού, οι οποίες-εκτός από ελάχιστες περιπτώσεις-βρίσκονται μόνο στο φλοιό των ρογών. Από χημική άποψη είναι παράγωγα του φαίνυλο-2 βενζοπυριλίου, το μόριο του οποίου παρουσιάζει κάποια ιδιαιτερότητα. Η ιδιαιτερότητα αυτή είναι ότι περιέχει σε μορφή θετικού ιόντος έναν οξυγονούχο ετεροκυκλικό δακτύλιο (το πυρόλιο) που επιτρέπει το σχηματισμό αλάτων με τα ανιόντα. Από το μόριο του φαίνυλο-2 βενζοπυριλίου προκύπτουν οι διάφορες ανθοκυανίδες του σταφυλιού.

Οι χρωστικές που συναντιούνται στη φύση δεν είναι ανθοκυανιδίνες, αλλά ενώσεις αυτών με ένα ή δύο μόρια κάποιου σακχάρου και ονομάζονται ανθοκυανίνες (ή ανθοκυάνες). Στις ανθοκυάνες τω σταφυλιών το σάκχαρο που συμμετέχει στο σχηματισμό του μορίου τους είναι η γλυκόζη. Έτσι, ανάλογα με τη θέση στην οποία

προσκολλάται η γλυκόζη στο μόριο της ανθοκυανιδίνης σχηματίζονται οι μονογλυκοζίτες και οι διγλυκοζίτες. ⁽³³⁾

Ταννίνες ⁽³³⁾

Οι ταννίνες είναι προϊόντα πολυμερισμού των απλών φαινολών. Το μοριακό τους βάρος κυμαίνεται μεταξύ 500 και 3000. Αν τα μόρια των ταννινών είναι πολύ μικρά δεν υπάρχουν αρκετές ενεργές θέσεις και έτσι οι ενώσεις που σχηματίζονται με τις πρωτεΐνες είναι ασταθείς. Αλλά και στην περίπτωση που τα μόρια των ταννινών είναι υπερβολικά μεγάλα, τότε αυτά δεν μπορούν να πλησιάσουν αρκετά τις πρωτεΐνες και παρεμποδίζεται έτσι ο σχηματισμός ενώσεων.

Οι συμπυκνωμένες ταννίνες είναι οι φυσικές ταννίνες των σταφυλιών και των οίνων και προέρχονται από τον πολυμερισμό της φλαβονόλης – 3 (κατεχίνη) και κυρίως της φλαβονοδιόλης –3,4 (λευκοκυανιδίνη) . Οι τελευταίες δεν είναι ταννίνες, αλλά μόρια που θα συμπυκνωθούν για να δώσουν ταννίνες. Οι συνηθισμένες φυσικές ταννίνες του σταφυλιού απαρτίζονται από τις φλαβονάλες οι οποίες είναι ολιγομερή, που περιλαμβάνουν 2 μέχρι 10 ή 12 στοιχειώδη μόρια.

Οι ταννίνες των σταφυλιών βρίσκονται στα στερεά μέρη τους και παραλαμβάνονται είτε με εκχύλιση είτε με συμπίεση. Από την ποσότητα των ταννινών που περιέχεται στο σταφύλι ένα ελάχιστο ποσοστό μεταφέρεται στον οίνο. Το ποσοστό αυτό από μετά από τις μειώσεις που παθαίνει από τα διάφορα φαινόμενα στους ερυθρούς οίνους κυμαίνεται μεταξύ 1,5 και 4 g/L, ενώ στους λευκούς οίνους μεταξύ 40 και 200 mg/L.

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ

Μια προσέγγιση της αντιοξειδωτικής δράσης συστατικών των τροφίμων είναι η μείωση του υπεροξειδικού ανιόντος (O_2^-) που παράγεται από διάφορα συστήματα σε υδατικά διαλύματα ή σε DMSO. ⁽³⁴⁾

Η αρχή των μεθόδων που εφαρμόστηκαν για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας βασίζεται στην παρακάτω γενική αντίδραση:

Οξειδωτικό + e(αντιοξειδωτικό) → Ανηγγμένη μορφή αντιοξειδωτικού + Οξειδωμένη μορφή αντιοξειδωτικού

Το οξειδωτικό παραλαμβάνει ένα ηλεκτρόνιο από το αντιοξειδωτικό οδηγώντας σε αλλαγή του χρώματος του πρώτου. Ο βαθμός αλλαγής του χρώματος είναι ανάλογος με την συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού. Το τελικό σημείο της αντίδρασης, που προσδιορίζεται φωτομετρικά, είναι το σημείο όπου το χρώμα παύει να αλλάζει. ⁽³⁵⁾

Η μεταβολή της απορρόφησης σε συνάρτηση με την συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού δίνει μια γραμμική καμπύλη, η κλίση της οποίας αντανακλά την αναγωγική ικανότητα του αντιοξειδωτικού, η οποία εκφράζεται ως ισοδύναμη αυτής του αντιοξειδωτικού Trolox ή του γαλλικού οξέος.

Β. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΛΕΥΚΟΥ ΚΡΑΣΙΟΥ ΚΑΙ ΡΕΤΣΙΝΑΣ

Όλα τα κρασιά και οι ρετσίνες που χρησιμοποιήθηκαν για την πειραματική διαδικασία ήταν εμπορικά διαθέσιμα.

Για το πειραματικό μέρος χρησιμοποιήθηκαν τα εξής προϊόντα:

- **P1:** Ρετσίνα «Οίνος κατά παράδοση», εμφιαλώνεται από την Γ.Α. Κουτσοδήμος για την Grand Masoutis
- **P2:** Ρετσίνα «Αγροτικός οινοποιητικός συνεταιρισμός Τυρνάβου», περιοχή εμφιάλωσης Λάρισα
- **P3:** Ρετσίνα «Κουρτάκη», ποικιλία Σαββατιανό, εμφιάλωση Δ.Κουρτάκης Α.Ε. περιοχή Μαρκόπουλο Αττική
- **P4:** Ρετσίνα «Μυρτώ Μαλαματίνα», οίνος λευκός ξηρός, ποικιλία Σαββατιανό, περιοχή εμφιάλωσης Πανόραμα Θεσσαλονίκης
- **P5:** Ρετσίνα «Μαλαματίνα», οίνος λευκός ξηρός, ποικιλία Σαββατιανό & Ροδίτης, περιοχή εμφιάλωσης Καλοχώρι Θεσσαλονίκης
- **P6:** Χρυσή Ρετσίνα «Γιώργου Γεωργιάδη», ποικιλία Σαββατιανό, περιοχή εμφιάλωσης Σχολάρι Θεσσαλονίκης
- **P7:** Λευκός Ξηρός οίνος «Γιώργου Γεωργιάδη», ποικιλία Σαββατιανό, περιοχή εμφιάλωσης Σχολάρι Θεσσαλονίκης
- **P8:** Λευκός ξηρός οίνος επιτραπέζιος «Μιχάλη Γεωργιάδη», ποικιλία Σαββατιανό & Ροδίτης, Περιοχή εμφιάλωσης Σχολάρι Θεσσαλονίκης και Λάκκωμα Χαλκιδικής
- **P9:** Ρετσίνα «Κεχριμπάρι», οίνος λευκός ξηρός, ποικιλία Σαββατιανό & Ροδίτης, περιοχή εμφιάλωσης Καλοχώρι Θεσσαλονίκης
- **P10:** Οίνος λευκός ξηρός «Κρασοσταλιά» Μιχάλη Γεωργιάδη, ποικιλία Ασύρτικο & Μοσχοφίλερο, περιοχή εμφιάλωσης Σχολάρι Θεσσαλονίκης και Λάκκωμα Χαλκιδικής

- **P11:** Ρετσίνα «Αμπελήσιους», αφοί Γεωργιάδη, οίνος λευκός ξηρός, ποικιλία Σαββατιανό, περιοχή εμφιάλωσης Σχολάρι Θεσσαλονίκης
- **P12:** Οίνος λευκός ξηρός «Αμπελήσιους», αφοί Γεωργιάδη, ποικιλία Σαββατιανό, περιοχή εμφιάλωσης Σχολάρι Θεσσαλονίκης

Ρετσίνα ονομάζεται το είδος ελληνικού κρασιού που παρασκευάζεται με την προσθήκη φυτικής ρητίνης πεύκου σε λευκό κρασί. Είναι ένα από τα δημοφιλέστερα ελληνικά ποτά.⁽⁴⁸⁾

Η παραγωγή ρετσίνας γίνεται από την αρχαιότητα ακόμα, όταν η προσθήκη ρητίνης (ρετσινιού) αποσκοπούσε στην καλύτερη συντήρηση του κρασιού, και όχι μόνο στην προσθήκη αρώματος.⁽⁴⁴⁾ Για την παρασκευή της χρησιμοποιούνται συνήθως κρασιά δεύτερης ποιότητας και γι αυτόν τον λόγο η τιμή της είναι συνήθως χαμηλότερη από αυτή του κρασιού.

Η μοναδική γεύσης της λέγεται ότι έχει προέλθει από την πρακτική της σφράγισης των αμφορέων με ρετσίνα από πεύκα κατά τους αρχαίους χρόνους. Πριν από την εφεύρεση των στεγανών μπουκαλιών γυαλιού, το οξυγόνο αλλοίωνε τα κρασιά πολύ γρήγορα. Για να στεγανοποιήσουν το στόμιο, οι αρχαίοι εφεύραν την χρήση της ρετσίνας πεύκου, η οποία συγχρόνως εμπλούτιζε με την πάροδο του χρόνου το κρασί με το χαρακτηριστικό της άρωμα. Αργότερα εφευρέθηκε και η πρακτική της προσθήκης της ρετσίνας στο μούστο για τον αρωματισμό του κρασιού και την καλύτερη συντήρησή του.

Τα περισσότερα από τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν περιέχουν ποικιλία σαββατιανού, ενώ τρία από αυτά περιέχουν συνδυασμό ποικιλίας σαββατιανού κ ροδίτη.

Η λευκή ποικιλία *σαββατιανό* συγκαταλέγεται ανάμεσα στις πλέον πολυφυτεμένες του ελληνικού αμπελώνα. Μόνο του ή συμμετέχοντας σε χαρμάνια, είναι υπεύθυνο για ένα μεγάλο όγκο λευκών ξηρών κρασιών. Κύριες περιοχές καλλιέργειας σαββατιανού είναι οι νομοί Αττικής, Βοιωτίας και Εύβοιας. Μικρές εκτάσεις

βρίσκονται επίσης στις Κυκλάδες, στη Θεσσαλία, στη Δυτική Κρήτη και στη Μακεδονία.⁽⁴⁹⁾

ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ

ΜΕΘΟΔΟΣ FOLIN – CIOCALTEU (FC)

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- Τρυγικό K-Na ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)
- Na_2CO_3
- NaOH
- Folin-Ciocalteu
- Γαλλικό οξύ (GA)
- Απιονισμένο νερό

ΣΚΕΥΗ

- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Ογκομετρική φιάλη όγκου 50ml, 100ml, 500ml
- Σπάτουλα
- Ποτήρια ζέσεως όγκου 50ml, 100ml
- Ογκομετρικός κύλινδρος
- Γυάλινη ράβδος ανάδευσης
- Κυψελίδες χαλαζία

ΟΡΓΑΝΑ

- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών
- Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης
- Συσκευή ανάδευσης vortex
- Πιπέτες των 100-1000μl
- Υδρόλουτρο

Το σύνολο των φαινολικών ενώσεων ενός διαλύματος προσδιορίζεται συνήθως με χρωματομετρικές μεθόδους. Αν και κανένα αντιδραστήριο δε δίνει με τις επιμέρους φαινολικές ενώσεις προϊόντα που να εμφανίζουν το ίδιο μέγιστο μήκος απορρόφησης, η μέθοδος που στηρίζεται στο αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu είναι η πλέον αποδεκτή.

Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu ή φαινολικό αντιδραστήριο Folin είναι ένα μείγμα μολυβδαινικού νατρίου, βολφραιμικού νατρίου και φωσφορικού οξέος που χρησιμοποιείται για τον χρωματομετρικό *in vitro* προσδιορισμό των φαινολικών και πολυφαινολικών αντιοξειδωτικών. Το αντιδραστήριο δεν μετρά μόνο φαινόλες, αλλά αντιδρά και με οποιαδήποτε αναγωγική ουσία, έτσι λοιπόν μετρά την συνολική αναγωγική ικανότητα του δείγματος και όχι μόνο το φαινολικό περιεχόμενο. Επίσης το αντιδραστήριο αυτό είναι μέρος του ποσοτικού προσδιορισμού πρωτεΐνης Lowry και έχει την ικανότητα να αντιδρά με ορισμένες ενώσεις που περιέχουν άζωτο, όπως η γουαδινίνη.⁽³⁶⁾

Δεδομένου ότι η μέθοδος αυτή μετράει το σύνολο των φαινολών, η επιλογή του Γαλλικού οξέος ως πρότυπο βασίζεται στη διαθεσιμότητα μιας καθαρής και σταθερής ουσίας, και το Γαλλικό οξύ τηρεί και τους δυο αυτούς παράγοντες και είναι σχετικά φθηνό.

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην οξειδωση του συνόλου των φαινολικών ενώσεων, σε αλκαλικό περιβάλλον από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Το αντιδραστήριο αυτό αποτελείται από ένα μίγμα φωσφοροβολφραιμικού οξέος ($H_3PW_{12}O_{40}$), το οποίο ανάγεται κατά την οξειδωση των φαινολών, σε μίγμα κυανών οξειδίων του βολφραιμίου (W_8O_{23}) και του μολυβδαινίου (M_8O_{23}). Το κυανό χρώμα που προκύπτει παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 750nm, και έτσι είναι ανάλογο της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών. Οι φαινόλες που προσδιορίζονται με τη μέθοδο αυτή εκφράζονται σε ισοδύναμα Trolox.⁽³³⁾

ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

Για την διαδικασία ανάλυσης των δειγμάτων με την μέθοδο Folin-Ciocalteu παρασκευάστηκαν τα διαλύματα Solution 1 και FC.

Για την παρασκευή του διαλύματος Solution 1, χρειαζόμαστε τα παρακάτω διαλύματα στις συγκεκριμένες ποσότητες:

- 1ml διαλύματος (A)
- 1 ml διαλύματος (B)
- 98 ml διαλύματος (C)

Αναλυτικά, για την παρασκευή του διαλύματος (A) :

Ζυγίζονται 0,5g στερεού CuSO_4 , προστίθενται σε ποτήρι ζέσεως και διαλύονται με μικρή ποσότητα αποσταγμένου νερού. Στη συνέχεια το διάλυμα που προκύπτει προστίθεται σε ογκομετρική φιάλη των 50ml και συμπληρώνεται αποσταγμένο νερό μέχρι την χαραγή της φιάλης.

Αναλυτικά, για την παρασκευή του διαλύματος (B) :

Ζυγίζεται 1,0g στερεού $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$, προστίθεται σε ποτήρι ζέσεως και διαλύεται με μικρή ποσότητα αποσταγμένου νερού. Στη συνέχεια το διάλυμα που προκύπτει προστίθεται σε ογκομετρική φιάλη των 50ml και συμπληρώνεται αποσταγμένο νερό μέχρι την χαραγή της φιάλης.

Αναλυτικά, για την Παρασκευή του διαλύματος (C) :

Ζυγίζονται 10,0g στερεού Na_2CO_3 και 2,0g στερεού NaOH , αναμιγνύονται και διαλύονται με μικρή ποσότητα αποσταγμένου νερού. Στη συνέχεια το διάλυμα που προκύπτει προστίθεται σε ογκομετρική φιάλη των 500ml και συμπληρώνεται αποσταγμένο νερό μέχρι την χαραγή της φιάλης.

Για την παρασκευή του διαλύματος FC , πυκνό αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu αραιώνεται με αποσταγμένο νερό σε αναλογία 1:1. Συγκεκριμένα, 50ml του διαλύματος Folin-Ciocalteu αναμιγνύονται με 50ml αποσταγμένο νερό σε ογκομετρικό κύλινδρο.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- ✓ Για κάθε δείγμα χρησιμοποιήθηκαν τρεις δοκιμαστικοί σωλήνες, έτσι ώστε να εξασφαλιστεί μεγαλύτερη ακρίβεια.
- ✓ Σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 0,5ml δείγματος και 2,5ml αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu.
- ✓ Μετά την παραμονή 10min, προστέθηκαν 2ml διαλύματος Solution 1 σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα, και ακολούθησε ανάδευση.
- ✓ Στη συνέχεια οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετήθηκαν στο υδρόλουτρο σε θερμοκρασία 50°C για 5min.
- ✓ Μετά την παραμονή των δειγμάτων σε θερμοκρασία δωματίου, ακολούθησε μέτρηση της απορρόφησης αυτών στα 760nm.

Ο μηδενισμός του οργάνου έγινε με λευκό δείγμα, το οποίο παρασκευάστηκε με τον ίδιο ακριβώς τρόπο και στις ίδιες ακριβώς συνθήκες που περιγράφηκαν παραπάνω, με τη μόνη διαφορά ότι στη θέση του δείγματος προστέθηκε ίδια ποσότητα αποσταγμένου νερού.

Η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιήθηκε δυο φορές, μία με πυκνό δείγμα αποτελούμενο από 100% κρασί ή ρετσίνα και μία με αραιωμένο δείγμα αποτελούμενο από 50% κρασί ή ρετσίνα και 50% αποσταγμένο νερό, για να επιλεγεί η κατάλληλη συγκέντρωση του δείγματος κρασιού ή ρετσίνας ώστε η απορρόφηση του δείγματος να εμπίπτει εντός των ορίων της καμπύλης.

Στα αποτελέσματα φαίνεται η συσχέτιση της συγκέντρωσης του λευκού κρασιού με την συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων.

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΒΑΣΙΖΟΜΕΝΗ ΣΤΗ ΔΕΣΜΕΥΣΗ ΤΗΣ 1,1-ΔΙΦΑΙΝΥΛΟ-2-ΠΙΚΡΥΛΟ-ΥΔΡΑΖΥΛΟ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ (DPPH)

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- DPPH
- Αιθανόλη

ΣΚΕΥΗ

- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Ογκομετρική φιάλη των 100ml
- Ποτήρι ζέσεως των 50 ml
- Κυψελίδες χαλαζία
- Γυάλινη ράβδος
- Σπάτουλα

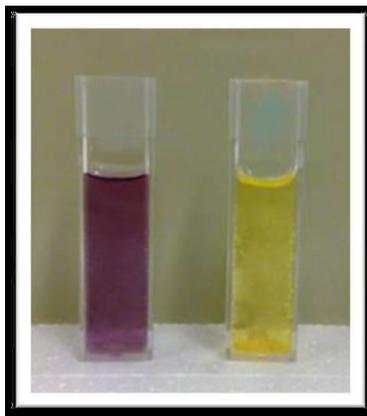
ΟΡΓΑΝΑ

- Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών
- Πιπέτες των 100-1000μl
- Συσκευή ανάδευσης vortex

Μια εύχρηστη μέθοδος που έχει αναπτυχθεί για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης των τροφών είναι η χρήση της σταθερής ρίζας DPPH.

Τα φαινολικά συστατικά του κρασιού δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH και η μείωση ελέγχεται με την μείωση της απορρόφησης στα 517nm. Το χρώμα από έντονο μώβ στο αρχικό διάλυμα μετατρέπεται σε κίτρινο,(γίνεται αποχρωματισμός όπως φαίνεται στην εικόνα 1) όταν όλο το ποσό της ελεύθερης ρίζας έχει δεσμευτεί από τα αντιοξειδωτικά του κρασιού. ⁽³⁷⁾

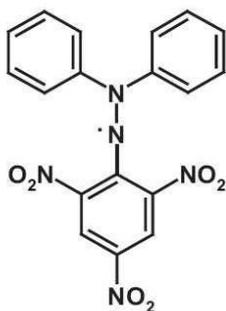
Αντιοξειδωτικές ενώσεις μπορούν να είναι υδατοδιαλυτές, λιποδιαλυτές, αδιάλυτες ή να δεσμεύονται σε κυτταρικά τοιχώματα. Ως εκ τούτου, η ικανότητα να απομονωθούν οι αντιοξειδωτικές ουσίες από το τρόφιμο είναι ένας σημαντικός παράγοντας στην ποσοτικοποίηση της αντιοξειδωτικής δράσης των τροφών.



Εικόνα 1: Αποχρωματισμός του DPPH

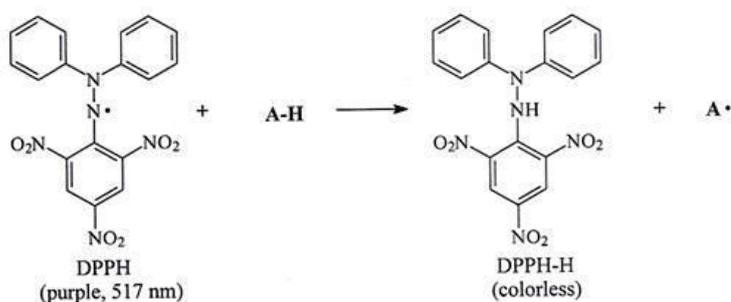
ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η μέθοδος στηρίζεται στην ικανότητα των αντιοξειδωτικών ουσιών να δεσμεύουν ελεύθερη ρίζα DPPH. Η δέσμευση αυτής της σταθερής ελεύθερης ρίζας έχει ως αποτέλεσμα το διάλυμα να αποχρωματίζεται. Η ελάττωση της απορρόφησης μετράται στα 517nm.



1,1-difenil -2-picril -hidrazil (DPPH)

Η αντίδραση που πραγματοποιείται μεταξύ του αντιοξειδωτικού και της ελεύθερης ρίζας φαίνεται στο παρακάτω σχήμα.



ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

Για την διαδικασία ανάλυσης των δειγμάτων με την μέθοδο DPPH παρασκευάστηκε διάλυμα DPPH με αιθανόλη. (πυκνό διάλυμα).

Για την παρασκευή του πυκνού διαλύματος ζυγίζονται 0,0197g στερεού DPPH τα οποία διαλύονται σε μικρή ποσότητα αιθανόλης και το διάλυμα που προκύπτει προστίθεται σε ογκομετρική φιάλη των 100ml και συμπληρώνεται με αιθανόλη μέχρι την χαραγή της φιάλης. Το διάλυμα τοποθετείται για 30min στο σκοτάδι.

Στη συνέχεια, από το παραπάνω διάλυμα (πυκνό) παρασκευάζουμε αραιό διάλυμα DPPH λαμβάνοντας 10ml πυκνού διαλύματος DPPH και προσθέτοντας σε αυτό 90ml αιθανόλης έτσι ώστε να αποκτήσει μια απορρόφηση 0.500 στα 517nm.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- ✓ Για κάθε δείγμα χρησιμοποιήθηκαν τρεις δοκιμαστικοί σωλήνες, έτσι ώστε να εξασφαλιστεί μεγαλύτερη ακρίβεια.
- ✓ Σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 100μl δείγματος και 3,9ml αντιδραστήριου DPPH και ακολούθησε ανάδευση.
- ✓ Στη συνέχεια τα δείγματα τοποθετήθηκαν για 30min στο σκοτάδι.
- ✓ Μετά την πάροδο 30min, ακολούθησε μέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων στα 517nm.

Ο μηδενισμός του οργάνου έγινε με λευκό δείγμα, το οποίο παρασκευάστηκε με τον ίδιο ακριβώς τρόπο και στις ίδιες ακριβώς συνθήκες που περιγράφηκαν παραπάνω, με τη μόνη διαφορά ότι στη θέση του δείγματος προστέθηκε ίδια ποσότητα αιθανόλης.

Η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιήθηκε δυο φορές, μία με πυκνό δείγμα αποτελούμενο από 100% κρασί ή ρετσίνα και μία με αραιωμένο δείγμα αποτελούμενο από 50% κρασί ή ρετσίνα και 50% αποσταγμένο νερό, για να επιλεγεί η κατάλληλη συγκέντρωση του δείγματος κρασιού ή ρετσίνας ώστε η απορρόφηση του δείγματος να εμπίπτει εντός των ορίων της καμπύλης.

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ ABTS

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- Μεθανόλη
- ABTS
- $K_2S_2O_8$
- Trolox

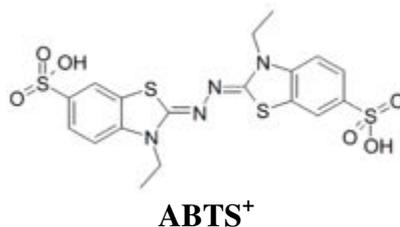
ΣΚΕΥΗ

- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Ογκομετρική φιάλη των 50ml
- Ποτήρι ζέσεως των 50ml
- Κυψελίδες χαλαζία
- Γυάλινη ράβδος ανάδευσης
- Σπάτουλα

ΟΡΓΑΝΑ

- Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών
- Συσκευή ανάδευσης vortex
- Πιπέτες των 100-1000μl

Το αντιδραστήριο οξείδωσης του ABTS είναι το 2,2-αζινοδι (3-αιθυλβενζιδιαζολινο-6-σουλφονικό οξύ. Με οξείδωση αυτού του αντιδραστηρίου παράγεται κατιόν $ABTS^+$, το οποίο έχει έντονο γαλαζοπράσινο χρώμα. (38), (39)

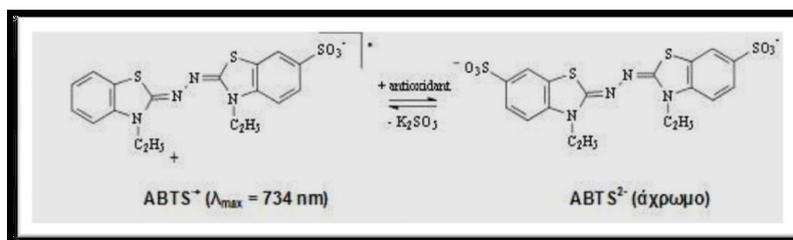


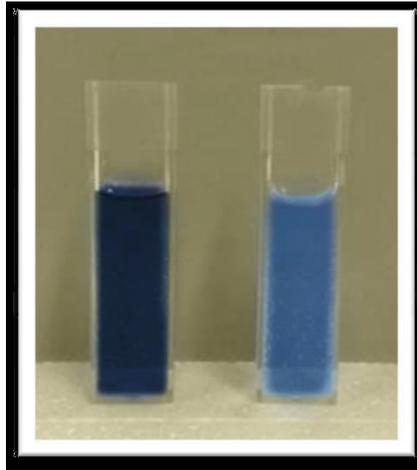
ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στον αποχρωματισμό του παραπάνω σχηματιζόμενου ριζικού κατιόντος $ABTS^+$, ο οποίος προκαλείται με την προσθήκη ενός δείγματος που περιέχει φαινολικό παράγοντα, λόγω της απομάκρυνσης των ελευθέρων ριζών. Ουσιαστικά, είναι η δημιουργία ενός χρωμοφόρου $ABTS^+$ και η σχετική ικανότητα των αντιοξειδωτικών να μειώσουν την ένταση της ρίζας σε σχέση με αυτή του Trolox.

Όταν η ρίζα αλληλεπιδρά με τα αντιοξειδωτικά μειώνεται, εμποδίζοντας την απορρόφηση σε μια μεγάλη και ακριβή κλίμακα που εξαρτάται από την αντιοξειδωτική ικανότητα της εξεταζόμενης ουσίας.

Τα αντιοξειδωτικά καταναλώνουν το έγχρωμο κατιόν σε βαθμό ανάλογο με την συγκέντρωσή τους σύμφωνα με την αντίδραση:





Εικόνα 2: Αποχρωματισμός του ABTS

ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

Σε ποτήρι ζέσεως ζυγίζονται 0,1801g στερεού ABTS και 0,033g στερεού $K_2S_2O_8$ και διαλύονται με μικρή ποσότητα μεθανόλης. Στη συνέχεια το διάλυμα που προκύπτει προστίθεται σε ογκομετρική φιάλη των 50ml και συμπληρώνεται με μεθανόλη μέχρι τη χαραγή της φιάλης. Το διάλυμα αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου και στο σκοτάδι για 12-16h.

Η απορρόφηση του διαλύματος μετράται πριν την χρήση στα 734nm και η επιθυμητή απορρόφηση είναι 0.700.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- ✓ Για κάθε δείγμα χρησιμοποιήθηκαν τρεις δοκιμαστικοί σωλήνες, έτσι ώστε να εξασφαλιστεί μεγαλύτερη ακρίβεια.
- ✓ Σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 100μl δείγματος και 3,9ml αντιδραστηρίου ABTS και ακολούθησε ανάδευση.
- ✓ Στη συνέχεια τα δείγματα αφέθηκαν για 15min σε θερμοκρασία δωματίου.
- ✓ Μετά την πάροδο 15min, ακολούθησε μέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων στα 734nm.

Ο μηδενισμός του οργάνου έγινε με λευκό δείγμα, το οποίο παρασκευάστηκε με τον ίδιο ακριβώς τρόπο και στις ίδιες ακριβώς συνθήκες που περιγράφηκαν παραπάνω, με τη μόνη διαφορά ότι στη θέση του δείγματος προστέθηκε ίδια ποσότητα μεθανόλης.

Η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιήθηκε δυο φορές, μία με πυκνό δείγμα αποτελούμενο από 100% κρασί ή ρετσίνα και μία με αραιωμένο δείγμα αποτελούμενο από 50% κρασί ή ρετσίνα και 50% αποσταγμένο νερό, για να επιλεγεί η κατάλληλη συγκέντρωση του δείγματος κρασιού ή ρετσίνας ώστε η απορρόφηση του δείγματος να εμπίπτει εντός των ορίων της καμπύλης.

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΟΗ· ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- Na_2HPO_4
- NaH_2PO_4
- Οξικό αμμώνιο $\text{CH}_3\text{COONH}_4$
- Οξικό οξύ CH_3COOH
- Ακετυλοακετόνη
- Ασκορβικό οξύ
- EDTA
- Τριχλωριούχος σίδηρος FeCl_3
- DMSO
- CCl_3COOH

ΣΚΕΥΗ

- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Ογκομετρική φιάλη των 50ml, 100ml, 500ml, 1000ml
- Σπάτουλα
- Ποτήρι ζέσεως των 500ml, 100ml
- Γυάλινη ράβδος ανάδευσης
- Κυψελίδες χαλαζία

ΟΡΓΑΝΑ

- Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας 4 δεκαδικών
- Πιπέτες των 100-1000μl
- Συσκευή ανάδευσης vortex
- Υδατόλουτρο

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η ρίζα υδροξυλίου είναι η δραστικότερη μορφή ρίζας που απαντάται στα βιολογικά συστήματα. Αντιδρά ταχύτατα με πλειάδα βιολογικών μακρομορίων προκαλώντας σοβαρές βλάβες. Οι ρίζες υδροξυλίου παράγονται κυρίως μέσω της αντίδρασης Haber – Weiss με την παρουσία ιόντων σιδήρου ή χαλκού.

Ως σύστημα δημιουργίας ριζών υδροξυλίου χρησιμοποιήθηκε σίδηρος συμπλοκοποιημένος με EDTA, που καταλύει την αυτό-οξειδωση του ασκορβικού οξέος. Οι ρίζες του υδροξυλίου που σχηματίζονται οξειδώνουν το DMSO προς σχηματισμό φορμαλδεΐδης, η αντίδραση περιλαμβάνει αρχική αλληλεπίδραση του DMSO με τις ρίζες υδροξυλίου, δίνοντας ρίζες μεθυλίου με τελικό προϊόν τη φορμαλδεΐδη, που προσδιορίζεται χρωματομετρικά με τη μέθοδο Nash.^{(40), (41)}

Η μέτρηση γίνεται στα 412nm, όπου απορροφά η φορμαλδεΐδη.

Το DMSO είναι πολύ καλός σαρωτής ριζών και στις πειραματικές συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν, η αντιοξειδωτική ικανότητα των ενώσεων ουσιαστικά εκφράζεται ως η ικανότητα τους να ανταγωνίζονται το DMSO στη σάρωση των παραγόμενων ριζών υδροξυλίου.

ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

Για την διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας χρειάστηκε να παρασκευαστεί ρυθμιστικό διάλυμα (buffer) Na_2HPO_4 και NaH_2PO_4 (pH 7,4) . Επίσης χρειάστηκε να παρασκευαστεί διάλυμα Nash που προκύπτει από την προσθήκη οξικού αμμωνίου, οξικού οξέος και ακέτυλο ακετόνης.

Σε 4 δοκιμαστικούς σωλήνες αναμιγνύονται 10μL διαλύματος κρασιού αναδιαλυόμενου σε DMSO, κατάλληλα αραιωμένο με διάλυμα FeCl_3 , Buffer (pH 7.4), διάλυμα EDTA, διάλυμα ασκορβικού οξέος και αραιό διάλυμα DMSO.

Ακολουθεί επώαση των δειγμάτων σε υδατόλουτρο στους 37° C για 30 λεπτά και στη συνέχεια προστίθεται κατάλληλη ποσότητα διαλύματος Nash το οποίο αποτελείται από 45g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, 0.9ml CH_3COOH και 0.6ml

$\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{COCH}_3$, σε 100ml H_2O και κατάλληλη ποσότητα από το διάλυμα CCl_3COOH 17% w/v.

Μετά από επώαση 10 λεπτών στους 60°C μετριέται η απορρόφηση στα 412nm. Στα αποτελέσματα φαίνεται η % ικανότητα δέσμευσης OH^- σε συσχέτιση με τους διαλύτες που επιλέχθηκαν για τα πυκνά δείγματα.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις πειραματικές διαδικασίες που πραγματοποιήθηκαν, στην σειρά με την οποία αυτές αναφέρθηκαν στις προηγούμενες ενότητες, τόσο με την μορφή αριθμητικών δεδομένων όσο και με την μορφή διαγραμμάτων.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται αφορούν τα αραιωμένα δείγματα (αραίωση 50%)

ΜΕΘΟΔΟΣ FOLIN - CIOCALTEU (FC)

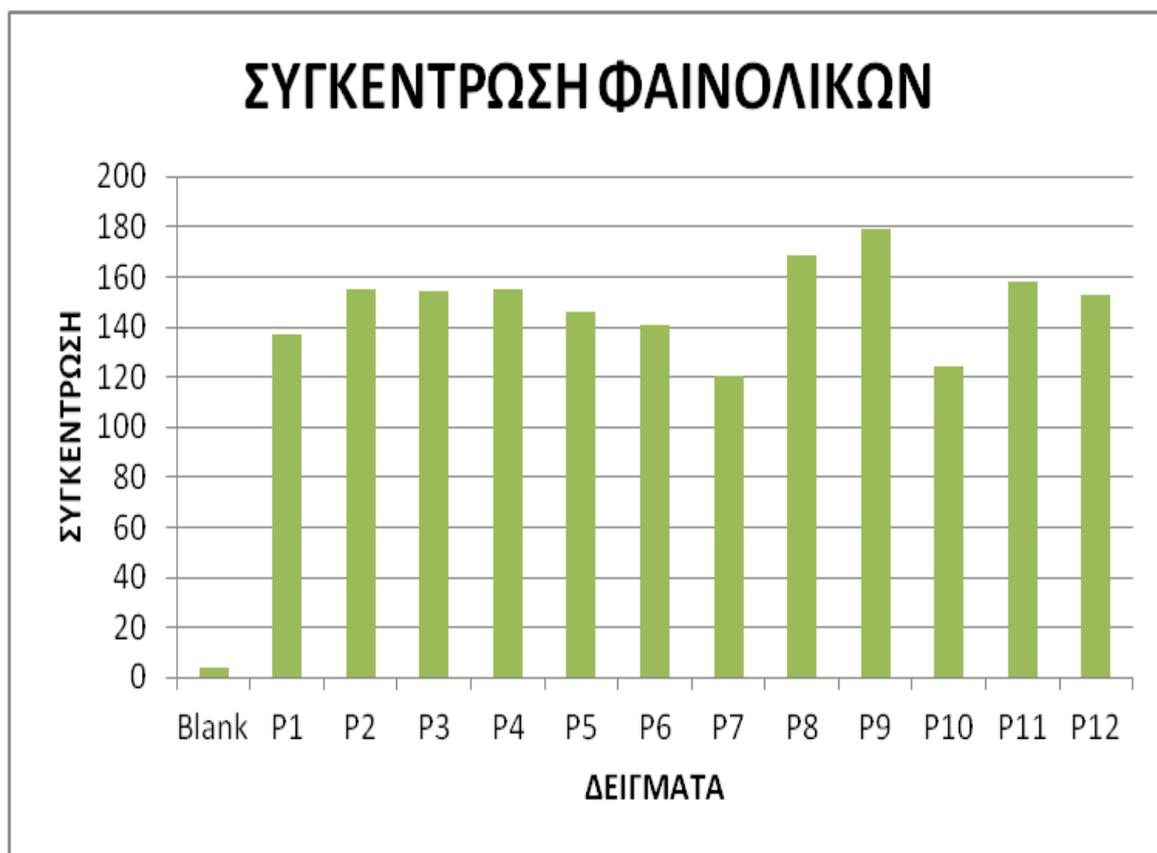
Αριθμητικά Αποτελέσματα

Πίνακας 1: Αποτελέσματα συγκέντρωσης φαινολικών σε δείγματα κρασιού

SAMPLE	Conc. (mg/L)	M.O.
blank	4,307	
blank	4,258	
blank	3,175	3,91
P1	143,640	
P1	127,439	
P1	140,500	137,19
P2	152,694	
P2	157,641	
P2	154,118	154,82
P3	154,138	
P3	155,430	
P3	154,026	154,53
P4	155,918	
P4	155,953	
P4	154,538	155,47
P5	145,238	
P5	150,037	
P5	142,940	146,07
P6	141,514	
P6	143,262	
P6	137,683	140,82
P7	120,505	
P7	122,215	
P7	118,218	120,31
P8	169,993	
P8	174,028	
P8	162,456	168,83

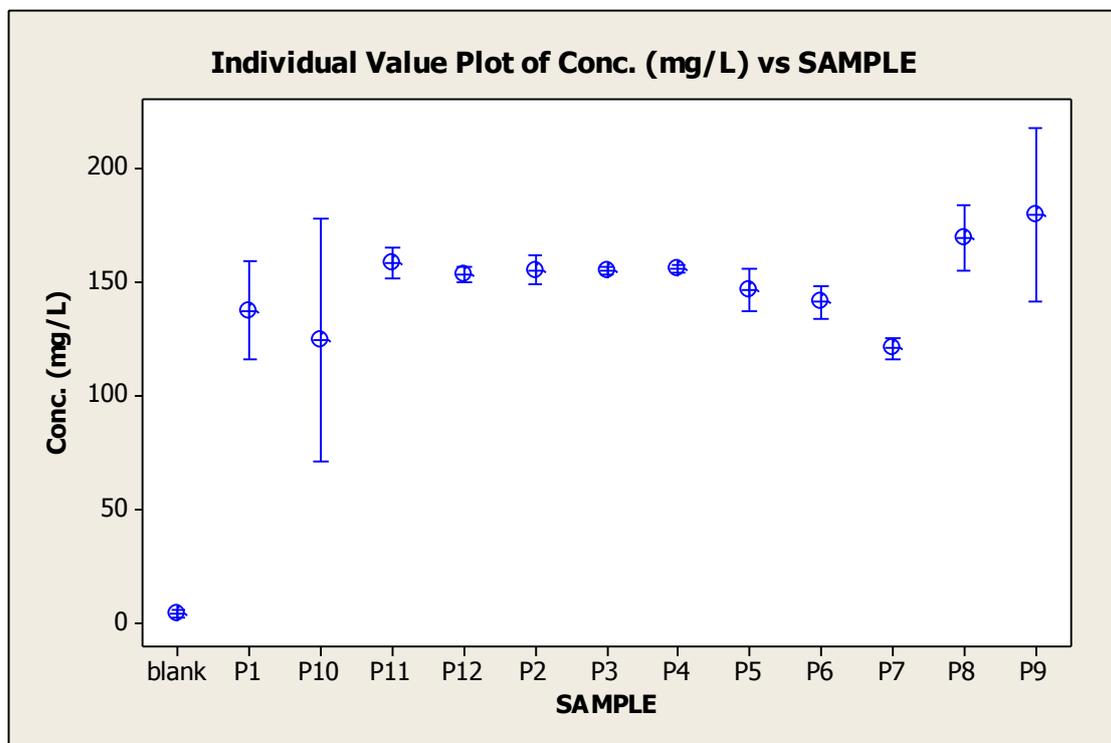
P9	161,772	
P9	189,899	
P9	186,010	179,23
P10	99,107	
P10	136,795	
P10	135,851	123,92
P11	160,924	
P11	157,345	
P11	155,471	157,91
P12	151,966	
P12	152,550	
P12	154,389	152,97

Σχετικά διαγράμματα



Γράφημα 1 : Συνολική συγκέντρωση φαινολικών (mg/L) στα δείγματα λευκού κρασιού

Όπως παρατηρούμε από το παραπάνω ιστόγραμμα, το δείγμα P9 παρουσιάζει την υψηλότερη συγκέντρωση συνολικών φαινολικών σε σχέση με όλα τα υπόλοιπα δείγματα λευκού κρασιού.



Γράφημα 2: Γράφημα ορίων εμπιστοσύνης 95% των δειγμάτων για την μέθοδο Folin - Ciocalteu

One-way ANOVA: Conc. (mg/L) versus SAMPLE

Source	DF	SS	MS	F	P
SAMPLE	12	68087,0	5673,9	87,27	0,000
Error	26	1690,4	65,0		
Total	38	69777,4			

S = 8,063 R-Sq = 97,58% R-Sq(adj) = 96,46%

Grouping Information Using Tukey Method

SAMPLE	N	Mean	Grouping
P9	3	179,23	A
P8	3	168,83	A B
P11	3	157,91	A B C
P4	3	155,47	A B C
P2	3	154,82	B C
P3	3	154,53	B C

P12	3	152,97	B C
P5	3	146,07	B C D
P6	3	140,82	C D E
P1	3	137,19	C D E
P10	3	123,92	D E
P7	3	120,31	E
blank	3	3,91	F

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of SAMPLE

Individual confidence level = 99,88%

Συμπεράσματα

Η συνολική περιεκτικότητα των φαινολικών των δειγμάτων προσδιορίστηκε σύμφωνα με την μέθοδο Folin – Ciocalteu και τα αποτελέσματα της μεθόδου εκφράζονται ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος.

Με την δοκιμή one-way της ANOVA προσδιορίστηκε ότι υπάρχει μια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων. Πιο συγκεκριμένα, είναι φανερό ότι οι υψηλότερες τιμές συνολικών φαινολικών παρουσιάζονται στα δείγματα P8 και P9, ενώ χαμηλότερες τιμές φαινολικών φαίνεται να παρουσιάζουν τα δείγματα P7 και P10. Για τα υπόλοιπα δείγματα δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά, συνεπώς μπορούν να θεωρηθούν ως ίσα.

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΒΑΣΙΖΟΜΕΝΗ ΣΤΗ ΔΕΣΜΕΥΣΗ ΤΗΣ 1,1-ΔΙΦΑΙΝΥΛΟ-2-ΠΙΚΡΥΛΟ-ΥΔΡΑΖΥΛΟ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ (DPPH)

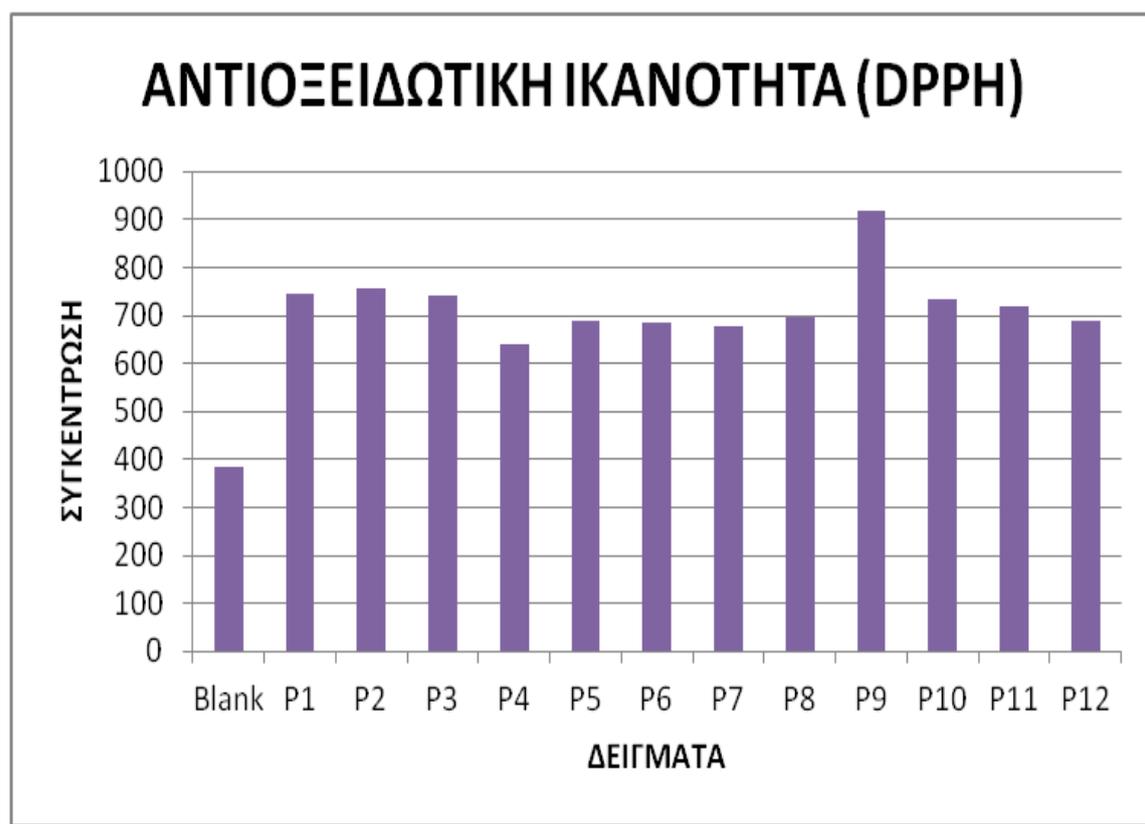
Αριθμητικά Αποτελέσματα

Πίνακας 2: Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο DPPH σε δείγματα κρασιού.

SAMPLE	CONC. (IL TROLOX)	M.O.
blank	391,453	
blank	383,534	
blank	382,641	385,88
P1	748,927	
P1	747,958	
P1	735,608	744,16
P2	760,004	
P2	768,691	
P2	743,192	757,30
P3	742,241	
P3	745,972	
P3	741,799	743,34
P4	650,654	
P4	634,820	
P4	630,484	638,65
P5	699,462	
P5	681,778	
P5	685,861	689,03
P6	678,778	
P6	686,076	
P6	694,384	686,41
P7	676,314	
P7	681,430	
P7	680,537	679,43
P8	691,267	
P8	687,315	
P8	715,522	698,03
P9	905,053	
P9	924,184	
P9	926,846	918,69
P10	746,267	
P10	766,691	
P10	765,789	733,47
P11	715,852	
P11	718,766	
P11	722,846	719,15

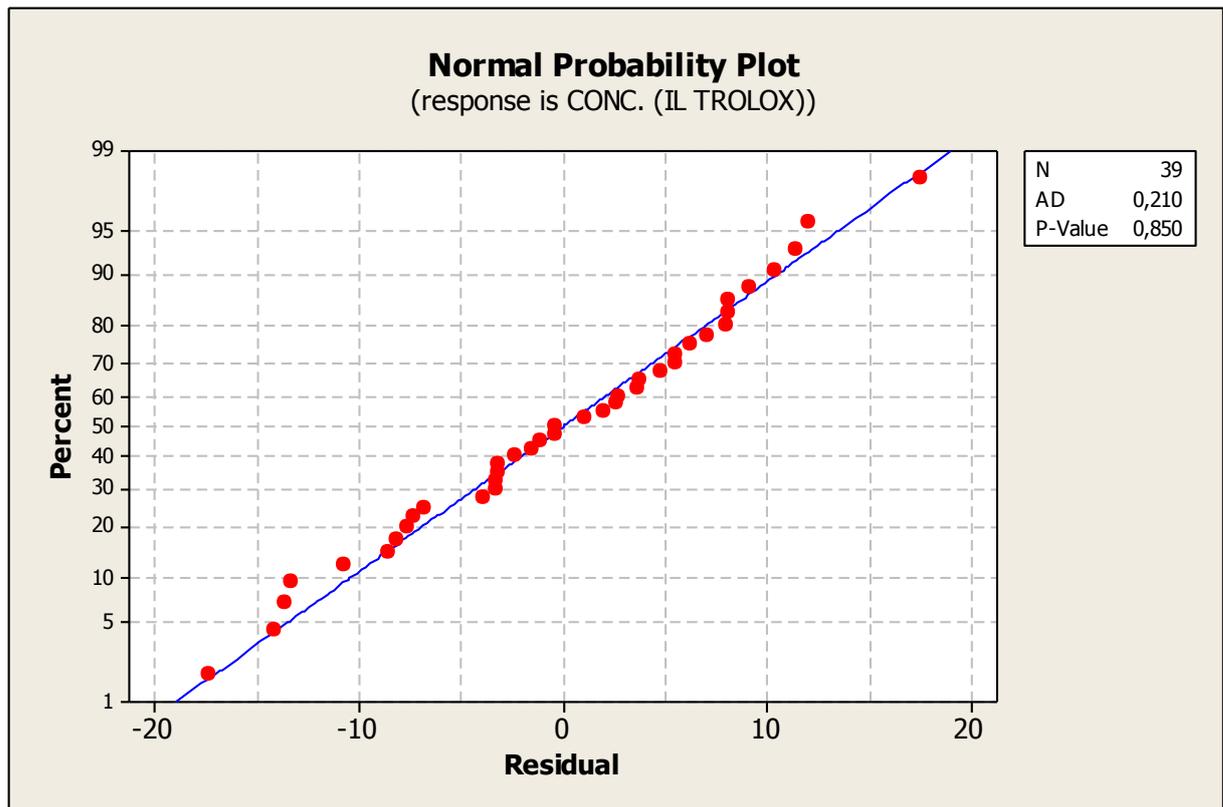
P12	669,949	
P12	696,462	
P12	695,433	687,28

Σχετικά διαγράμματα



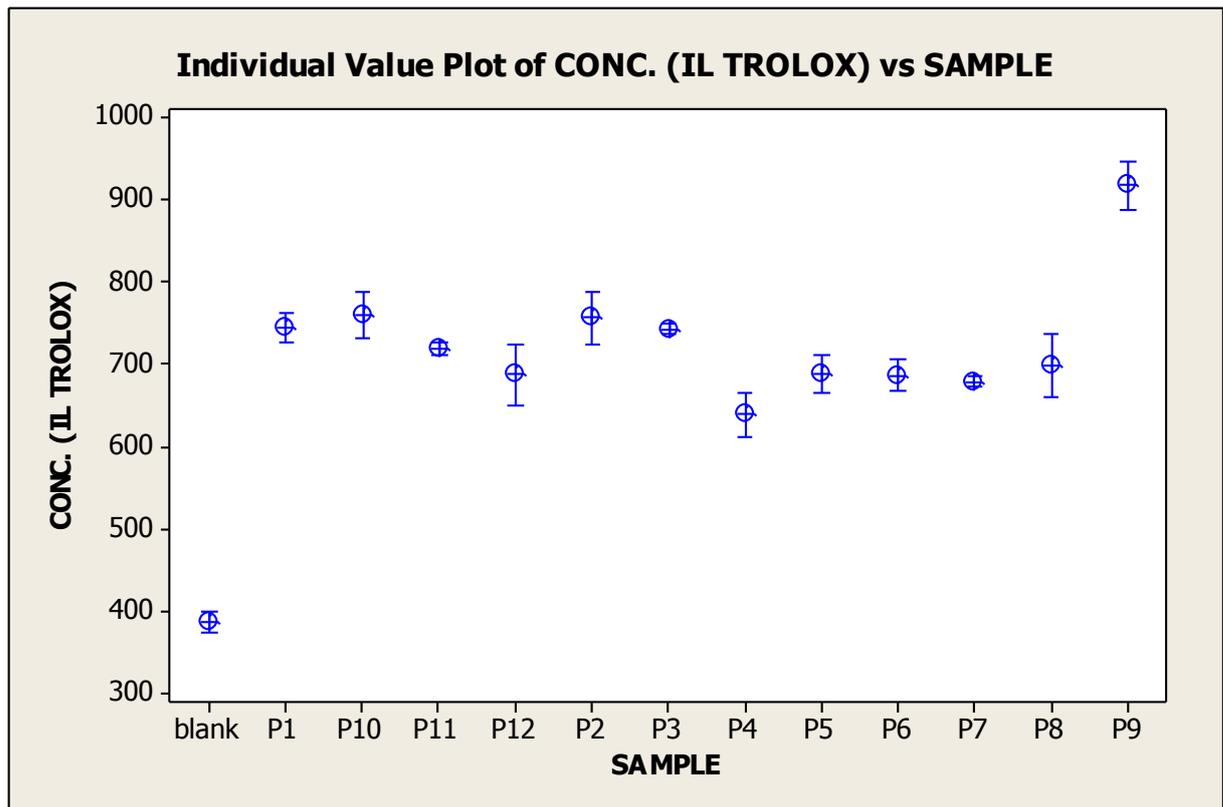
Γράφημα 3: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας στα δείγματα λευκού κρασιού

Όπως φαίνεται στο παραπάνω ιστόγραμμα, το δείγμα P9 παρουσιάζει την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα, ενώ τα υπόλοιπα δείγματα ακολουθούν μια παρόμοια μεταξύ τους τάση.



Γράφημα 4: Έλεγχος κανονικότητας των δειγμάτων λευκού κρασιού

Όπως φαίνεται από το παραπάνω διάγραμμα τα δείγματα λευκού κρασιού που χρησιμοποιήθηκαν ακολουθούν κανονική κατανομή.



Γράφημα 5: Γράφημα ορίων εμπιστοσύνης 95% των δειγμάτων για την μέθοδο DPPH

One-way ANOVA: CONC. (IL TROLOX) versus SAMPLE

Source	DF	SS	MS	F	P
SAMPLE	12	486548,3	40545,7	416,82	0,000
Error	26	2529,1	97,3		
Total	38	489077,4			

S = 9,863 R-Sq = 99,48% R-Sq(adj) = 99,24%

Grouping Information Using Tukey Method

SAMPLE	N	Mean	Grouping
P9	3	918,69	A
P10	3	759,58	B
P2	3	757,30	B
P1	3	744,16	B C
P3	3	743,34	B C
P11	3	719,15	C D
P8	3	698,03	D E
P5	3	689,03	E
P12	3	687,28	E
P6	3	686,41	E
P7	3	679,43	E
P4	3	638,65	F
blank	3	385,88	G

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of SAMPLE

Individual confidence level = 99,88%

Συμπεράσματα

Με την δοκιμή one-way της ANOVA προσδιορίστηκε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων. Πιο συγκεκριμένα, είναι φανερό ότι το δείγμα P9 παρουσιάζει μια υψηλότερη τιμή και διαφέρει από τα υπόλοιπα δείγματα λευκού κρασιού, κάτι το οποίο επιβεβαιώνεται και από τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey που ακολουθεί την one-way ANOVA. Επίσης είναι φανερό ότι το δείγμα P4 παρουσιάζει την χαμηλότερη τιμή και συνεπώς παρουσιάζει και αυτό στατιστικά σημαντική διαφορά. Τα υπόλοιπα δείγματα φαίνεται να ακολουθούν παρόμοια συμπεριφορά.

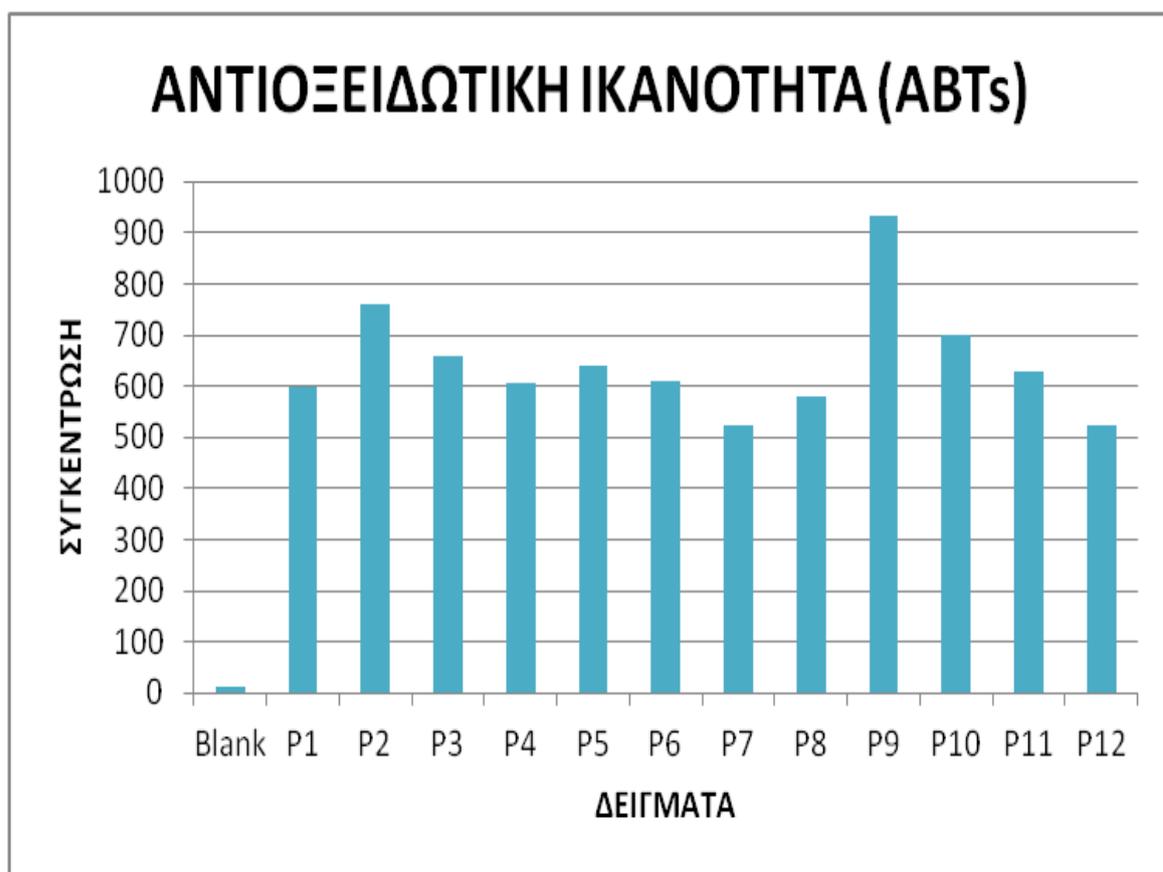
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ ABTS

Αριθμητικά Αποτελέσματα

Πίνακας 3: Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο ABTs σε δείγματα κρασιού

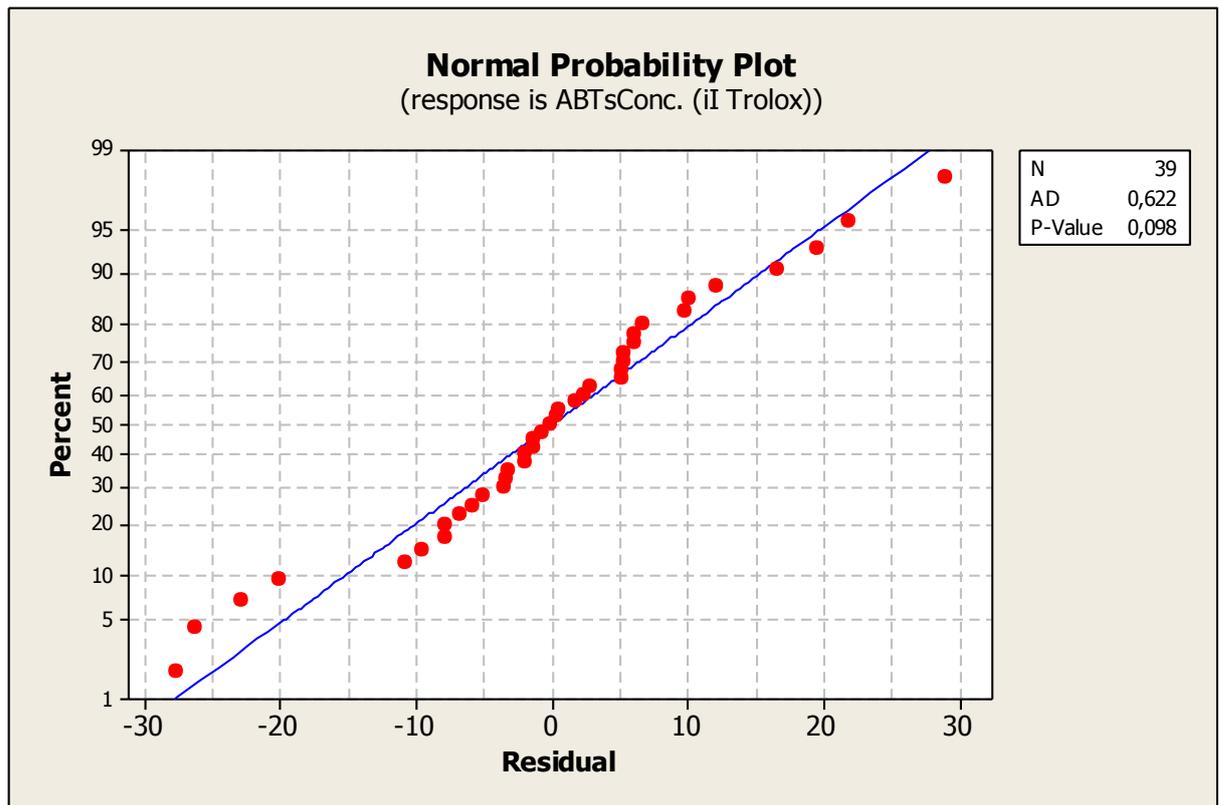
SAMPLE	ABTsConc. (μ l Trolox)	M.O.
blank	17,677	
blank	14,799	
blank	4,555	12,34
P1	592,467	
P1	608,886	
P1	596,029	599,13
P2	731,269	
P2	757,524	
P2	787,872	758,89
P3	655,543	
P3	661,641	
P3	659,273	658,82
P4	610,477	
P4	603,328	
P4	601,777	605,19
P5	634,311	
P5	640,616	
P5	645,260	640,06
P6	587,897	
P6	627,235	
P6	616,799	610,64
P7	544,073	
P7	502,166	
P7	520,268	522,17
P8	584,195	
P8	573,899	
P8	578,844	578,98
P9	906,949	
P9	939,892	
P9	952,673	933,17
P10	698,111	
P10	689,312	
P10	708,967	698,80
P11	630,978	
P11	635,323	
P11	621,464	629,26
P12	534,773	
P12	511,911	
P12	521,352	522,68

Σχετικά διαγράμματα



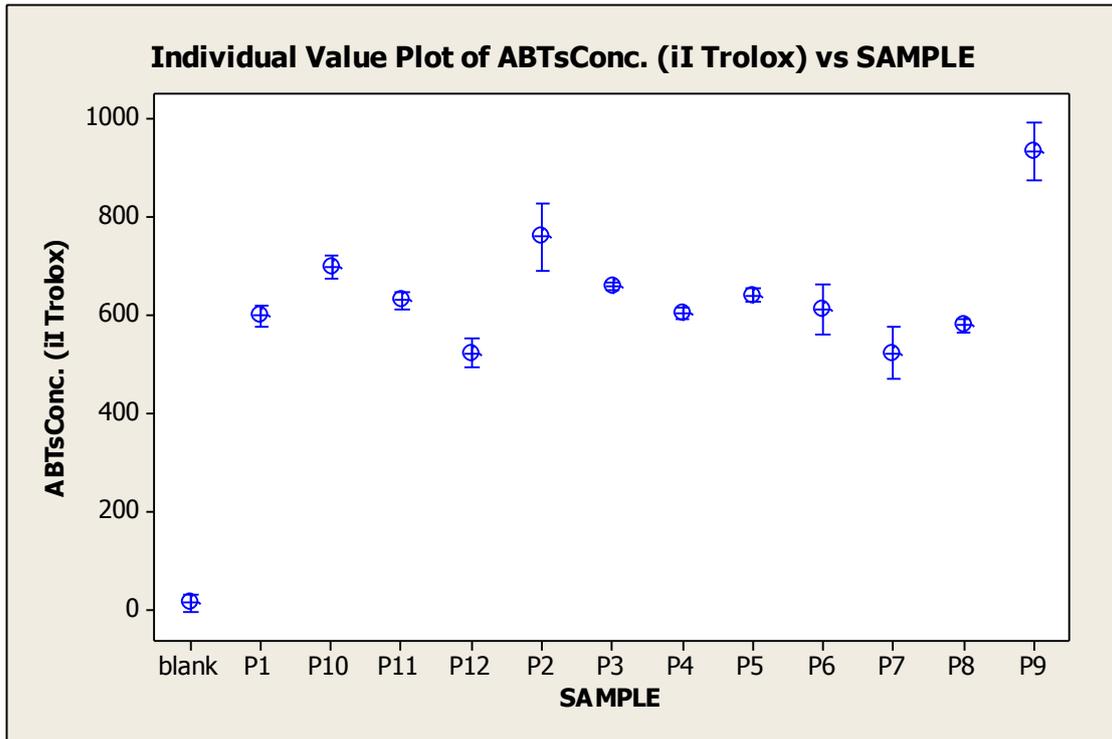
Γράφημα 6: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας στα δείγματα λευκού κρασιού

Όπως φαίνεται στο παραπάνω ιστόγραμμα, το δείγμα P9 παρουσιάζει την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Επίσης και το δείγμα P2 παρουσιάζει μια σχετικά καλή αντιοξειδωτική ικανότητα, ενώ τα υπόλοιπα δείγματα ακολουθούν μια παρόμοια μεταξύ τους τάση.



Γράφημα 7: Έλεγχος κανονικότητας των δειγμάτων λευκού κρασιού

Όπως φαίνεται από το παραπάνω διάγραμμα, τα δείγματα λευκού κρασιού που χρησιμοποιήθηκαν ακολουθούν κανονική κατανομή.



Γράφημα 8 : Γράφημα ορίων εμπιστοσύνης 95% των δειγμάτων για την μέθοδο ABTs

One-way ANOVA: ABTsConc. (il Trolox) versus SAMPLE

Source	DF	SS	MS	F	P
SAMPLE	12	1529461	127455	612,54	0,000
Error	26	5410	208		
Total	38	1534871			

S = 14,42 R-Sq = 99,65% R-Sq(adj) = 99,48%

Grouping Information Using Tukey Method

SAMPLE	N	Mean	Grouping
P9	3	933,17	A
P2	3	758,89	B
P10	3	698,80	C
P3	3	658,82	C D
P5	3	640,06	D E
P11	3	629,26	D E
P6	3	610,64	E F
P4	3	605,19	E F
P1	3	599,13	E F
P8	3	578,98	F
P12	3	522,68	G
P7	3	522,17	G
blank	3	12,34	H

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of SAMPLE

Individual confidence level = 99,88%

Συμπεράσματα

Με την δοκιμή one-way της ANOVA προσδιορίστηκε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων. Πιο συγκεκριμένα, είναι φανερό ότι τα δείγματα P9 και P2 παρουσιάζουν μια υψηλότερη τιμή και διαφέρουν από τα υπόλοιπα δείγματα λευκού κρασιού, κάτι το οποίο επιβεβαιώνεται και από τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey που ακολουθεί την one-way ANOVA. Για τα υπόλοιπα δείγματα παρατηρούμε ότι ισχύει μια σχετική ομαδοποίηση, γεγονός που φαίνεται και από τον έλεγχο του Tukey.

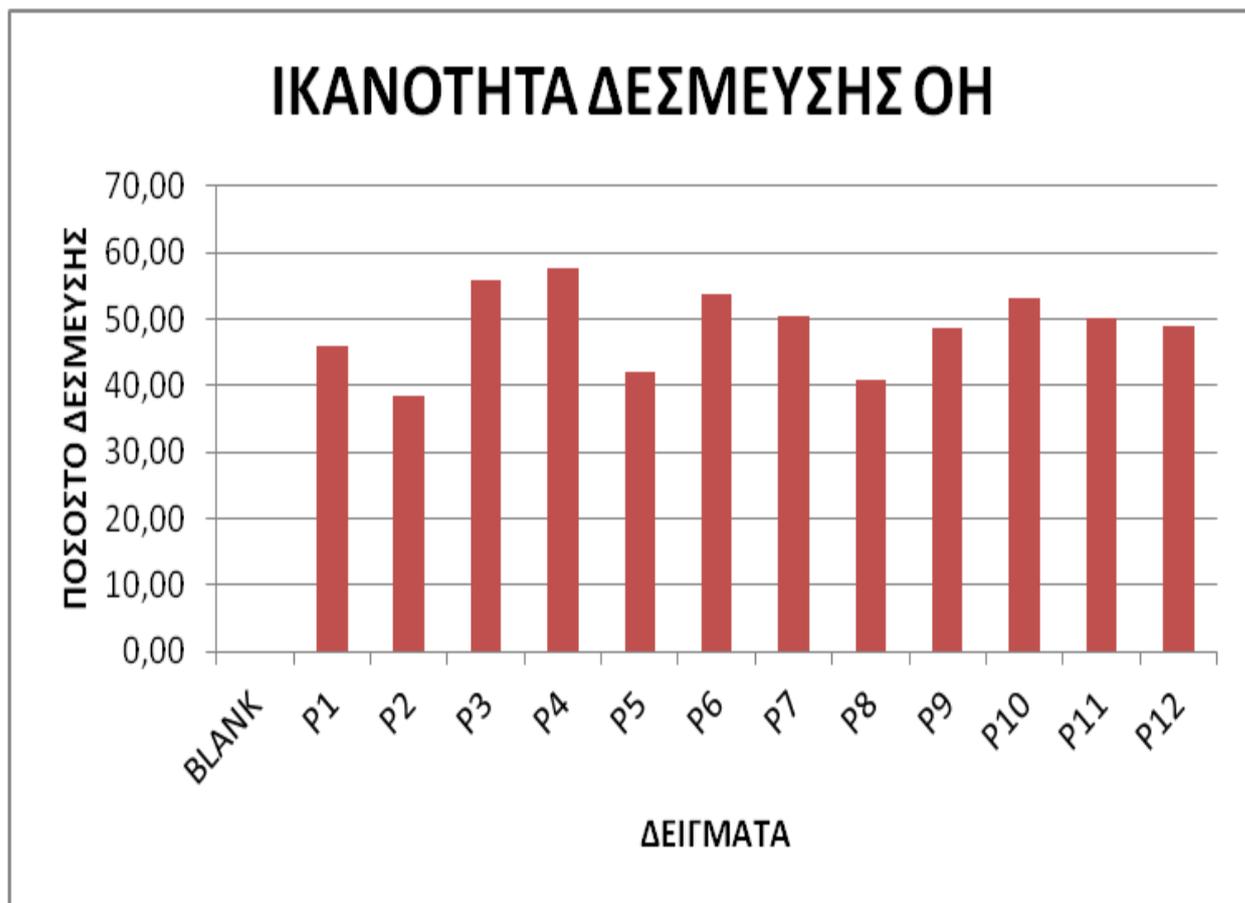
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΟΗ·

Αριθμητικά Αποτελέσματα

Πίνακας 4: Ποσοστό ικανότητας δέσμευσης ελευθέρων ριζών ΟΗ·

SAMPLE	ΡΙΖΕΣ %
blank	0,0
blank	0,0
blank	0,0
P1	46,0
P1	46,0
P1	46,0
P2	38,5
P2	38,5
P2	38,5
P3	55,8
P3	55,8
P3	55,8
P4	57,5
P4	57,5
P4	57,5
P5	42,0
P5	42,0
P5	42,0
P6	53,7
P6	53,7
P6	53,7
P7	50,4
P7	50,4
P7	50,4
P8	40,7
P8	40,7
P8	40,7
P9	48,5
P9	48,5
P9	48,5
P10	53,2
P10	53,2
P10	53,2
P11	50,1
P11	50,1
P11	50,1
P12	49,0
P12	49,0
P12	49,0

Σχετικά διαγράμματα



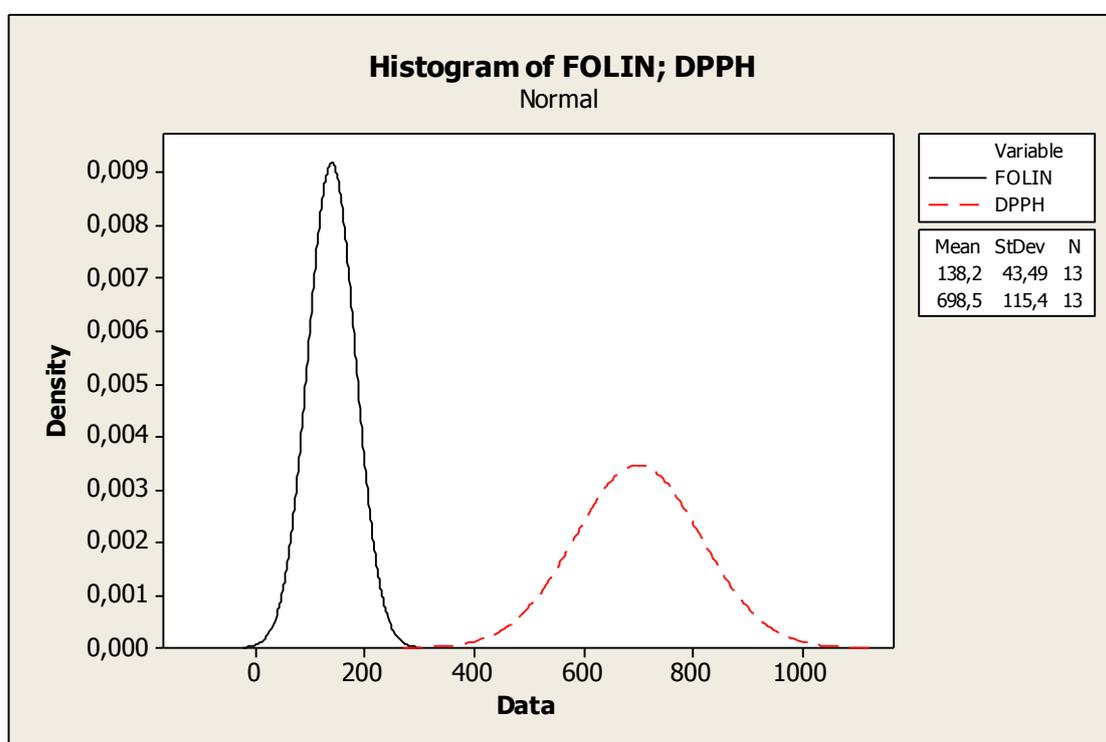
Γράφημα 9: Προσδιορισμός ικανότητας δέσμευσης των ελευθέρων ριζών στα δείγματα λευκού κρασιού

Συμπεράσματα

Όπως βλέπουμε στο παραπάνω ιστόγραμμα, το δείγμα P4 παρουσιάζει το μεγαλύτερο ποσοστό ικανότητας δέσμευσης ελευθέρων ριζών OH^\cdot . Στη συνέχεια τα δείγματα P3, P6 και P10 παρουσιάζουν μια παρόμοια συμπεριφορά όσο αφορά την ικανότητα δέσμευσής τους, ενώ τα υπόλοιπα δείγματα βρίσκονται στα ίδια επίπεδα.

ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Παρακάτω πραγματοποιείται μια συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης των συνολικών φαινολικών συστατικών των δειγμάτων λευκού κρασιού σε σχέση με την αντίστοιχη αντιοξειδωτική ικανότητα που αυτά παρουσιάζουν μέσω της μεθόδου εκτίμησης αντιοξειδωτικής ικανότητας DPPH. Για την πραγματοποίηση της συσχέτισης αυτής έγινε επεξεργασία των δεδομένων μέσω του στατιστικού προγράμματος Minitab 16. Τα αποτελέσματα φαίνονται παρακάτω.



Γράφημα 10: Ιστόγραμμα συχνοτήτων Folin – DPPH

Regression Analysis: Conc. FOLIN (mg/L) versus CONC. DPPH (IL TROLOX)

The regression equation is
Conc. (mg/L) = - 82,9 + 0,316 CONC. (IL TROLOX)

Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	-82,93	24,21	-3,43	0,002
CONC. (IL TROLOX)	0,31559	0,03412	9,25	0,000

S = 23,8609 R-Sq = 69,8% R-Sq(adj) = 69,0%

PRESS = 25209,6 R-Sq(pred) = 63,87%

Analysis of Variance

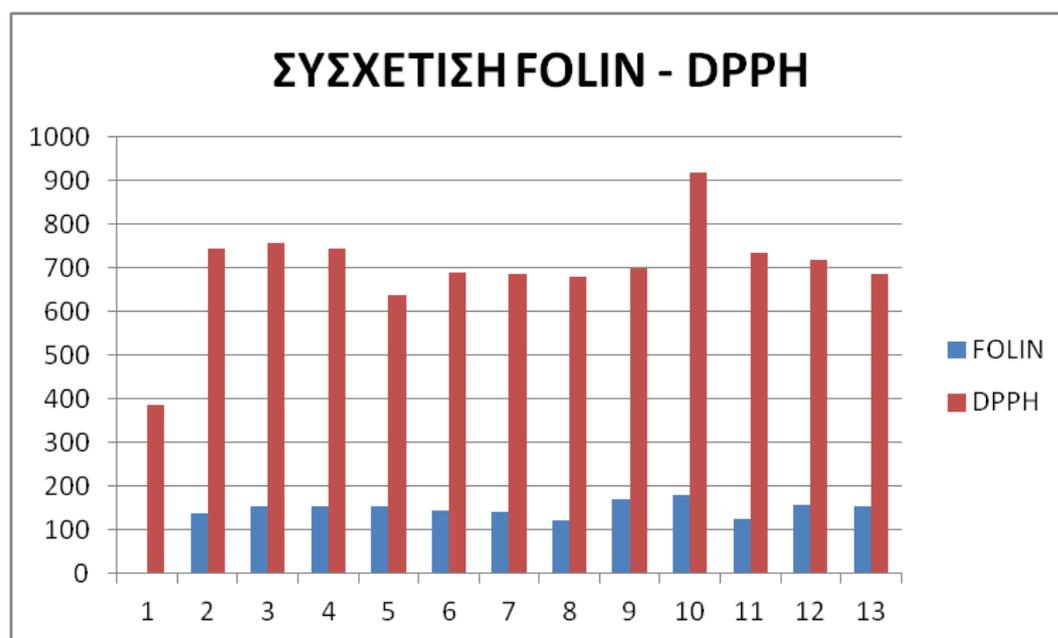
Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	48712	48712	85,56	0,000
Residual Error	37	21066	569		
Total	38	69777			

Unusual Observations

Obs	CONC. (IL TROLOX)	Conc. (mg/L)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	391	4,31	40,61	11,22	-36,30	-1,72 X
2	384	4,26	38,11	11,47	-33,85	-1,62 X
3	383	3,17	37,83	11,50	-34,65	-1,66 X
31	746	99,11	152,59	4,13	-53,48	-2,28R

R denotes an observation with a large standardized residual.
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

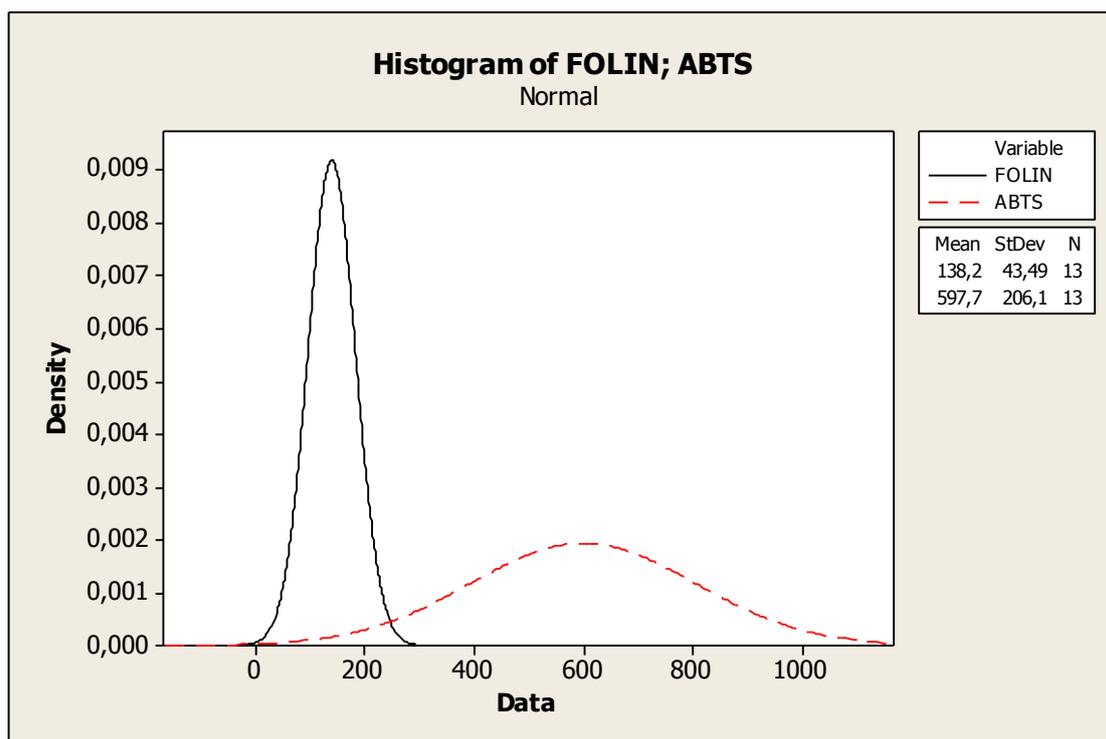
Αξίζει να παρατηρηθεί πως παρουσιάζεται μια θετική συσχέτιση μεταξύ των δυο αυτών μεταβλητών, κάτι το οποίο σημαίνει πως όσο μεταβάλλεται η μία, παρομοίως μεταβάλλεται και η άλλη, και πως ο συντελεστής της γραμμικής αυτής παλινδρόμησης (R^2) είναι ίσος με 69,8%. Ο συντελεστής (R^2) δηλώνει την ποιότητα προσαρμογής της ευθείας. Όσο πιο κοντά στο 100% βρίσκεται ο συντελεστής αυτός τόσο πιο ισχυρή είναι η γραμμική παλινδρόμηση των δύο μεταβλητών.⁽⁵⁰⁾



Γράφημα 11: Συσχέτιση συγκέντρωσης φαινολικών σε σχέση με την αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων

Όπως φαίνεται παραπάνω τόσο στο ιστόγραμμα συχνοτήτων όσο και στο γράφημα (Γραφ.10 & Γραφ.11), οι δύο μεταβλητές παρουσιάζουν παρόμοιες πρότυπες καμπύλες και εμφανίζουν την ίδια συμπεριφορά ως προς την άνοδο και μείωση των τιμών τους, γεγονός που επιβεβαιώνει την γραμμική συσχέτιση που υπάρχει μεταξύ τους.

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε αντίστοιχη συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης των συνολικών φαινολικών συστατικών των δειγμάτων λευκού κρασιού σε σχέση με την αντίστοιχη αντιοξειδωτική ικανότητα που αυτά παρουσιάζουν μέσω της μεθόδου εκτίμησης αντιοξειδωτικής ικανότητας ABTs. Για την πραγματοποίηση της συσχέτισης αυτής έγινε επεξεργασία των δεδομένων μέσω του στατιστικού προγράμματος Minitab 16. Τα αποτελέσματα φαίνονται παρακάτω.



Γράφημα 12: Ιστόγραμμα συχνοτήτων Folin – ABTs

Regression Analysis: Conc. FOLIN (mg/L) versus CONC. ABTS (IL TROLOX)

The regression equation is

$$\text{Conc. (mg/L)} = 26,5 + 0,187 \text{ ABTsConc. (iI Trolox)}$$

Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	26,50	10,64	2,49	0,017
ABTsConc. (iI Trolox)	0,18679	0,01690	11,05	0,000

S = 20,9389 R-Sq = 76,8% R-Sq(adj) = 76,1%

PRESS = 18807,6 R-Sq(pred) = 73,05%

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	53555	53555	122,15	0,000
Residual Error	37	16222	438		
Total	38	69777			

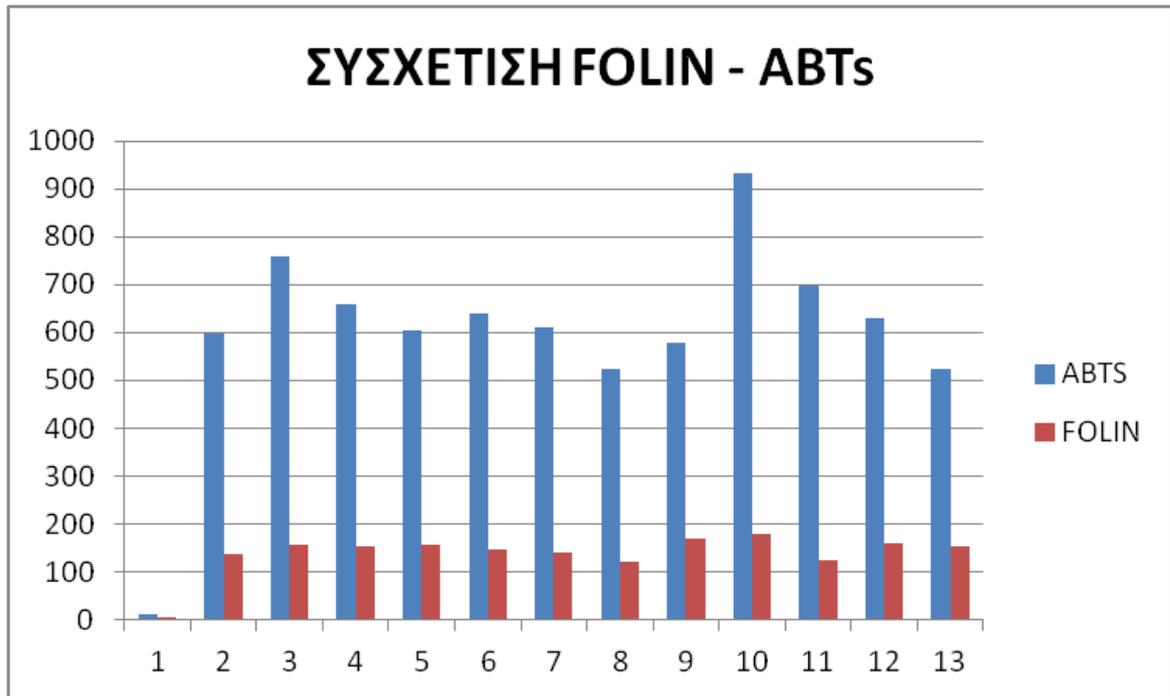
Unusual Observations

Obs	ABTsConc. (iI Trolox)	Conc. (mg/L)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	18	4,31	29,81	10,36	-25,50	-1,40 X
2	15	4,26	29,27	10,41	-25,01	-1,38 X
3	5	3,17	27,36	10,57	-24,18	-1,34 X
31	698	99,11	156,91	3,76	-57,80	-2,81R

R denotes an observation with a large standardized residual.

X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

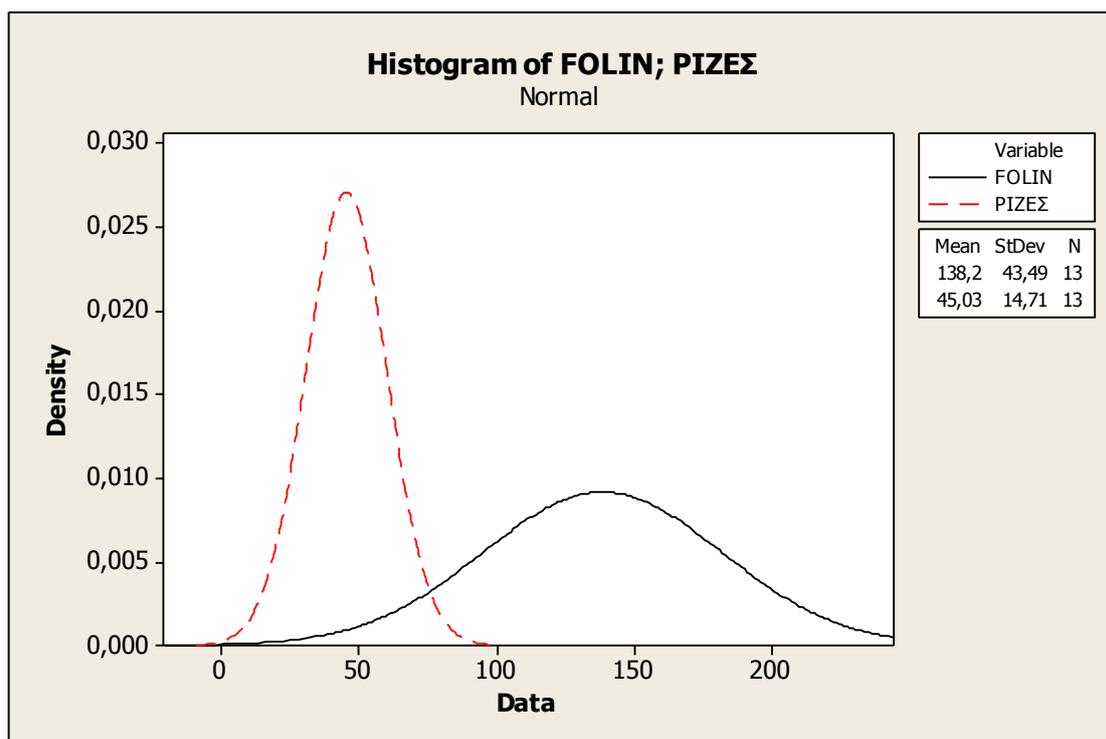
Αυτό που αξίζει να παρατηρηθεί και εδώ είναι πως υπάρχει και εδώ θετική συσχέτιση μεταξύ των δύο μεταβλητών, που σημαίνει πως μεταβάλλονται και οι δυο με τον ίδιο τρόπο, και επίσης πως ο συντελεστής της παλινδρόμησης (R^2) είναι ίσος με 76,8%. Ο συντελεστής (R^2) δηλώνει την ποιότητα προσαρμογής της ευθείας. Όσο πιο κοντά στο 100% βρίσκεται ο συντελεστής αυτός τόσο πιο ισχυρή είναι η γραμμική παλινδρόμηση των δύο μεταβλητών. ⁽⁵⁰⁾



Γράφημα 13: Συσχέτιση συγκέντρωσης φαινολικών σε σχέση με την αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων

Όπως φαίνεται παραπάνω τόσο στο ιστόγραμμα συχνοτήτων όσο και στο γράφημα (Γραφ.12 & Γραφ.13) , οι δύο μεταβλητές παρουσιάζουν παρόμοιες πρότυπες καμπύλες και εμφανίζουν την ίδια συμπεριφορά ως προς την άνοδο και μείωση των τιμών τους, γεγονός που επιβεβαιώνει την γραμμική συσχέτιση που υπάρχει μεταξύ τους.

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε αντίστοιχη συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης των συνολικών φαιολικών συστατικών των δειγμάτων λευκού κρασιού σε σχέση με την αντίστοιχη ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών OH^- που αυτά παρουσιάζουν. Για την πραγματοποίηση της συσχέτισης αυτής έγινε επεξεργασία των δεδομένων μέσω του στατιστικού προγράμματος Minitab 16. Τα αποτελέσματα φαίνονται παρακάτω.



Γράφημα 14 : Ιστόγραμμα συχνοτήτων Folin – Δέσμευση ελευθέρων ριζών

Regression Analysis: Conc. Folin (mg/L) versus PIZEΣ %

The regression equation is
 Conc. (mg/L) = 29,1 + 2,42 PIZEΣ %

Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	29,12	13,66	2,13	0,040
PIZEΣ %	2,4213	0,2895	8,37	0,000

S = 25,5396 R-Sq = 65,4% R-Sq(adj) = 64,5%

PRESS = 27393,6 R-Sq(pred) = 60,74%

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	45643	45643	69,98	0,000

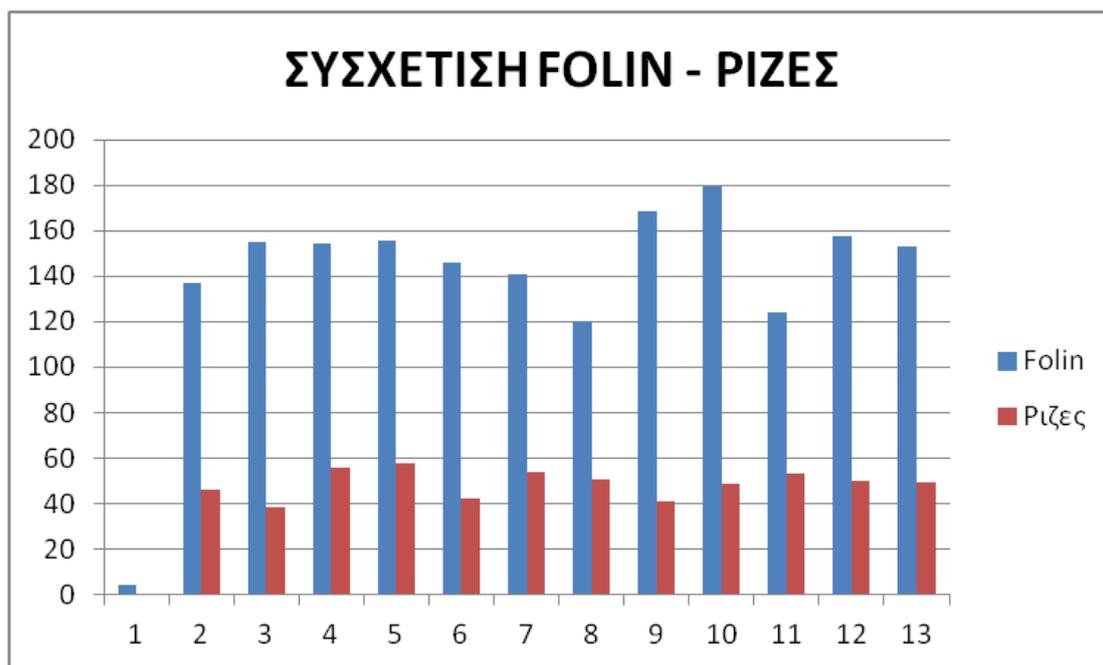
Residual Error 37 24134 652
 Total 38 69777

Unusual Observations

Obs	PIZEΣ %	Conc. (mg/L)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	0,0	4,31	29,12	13,66	-24,81	-1,15 X
2	0,0	4,26	29,12	13,66	-24,86	-1,15 X
3	0,0	3,17	29,12	13,66	-25,95	-1,20 X
31	53,2	99,11	157,89	4,72	-58,78	-2,34R

R denotes an observation with a large standardized residual.
 X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Αυτό που αξίζει να παρατηρηθεί και εδώ είναι πως υπάρχει και εδώ θετική συσχέτιση μεταξύ των δύο μεταβλητών, που σημαίνει πως μεταβάλλονται και οι δυο με τον ίδιο τρόπο, και επίσης πως ο συντελεστής της παλινδρόμησης (R^2) είναι ίσος με 65,4%. Ο συντελεστής (R^2) δηλώνει την ποιότητα προσαρμογής της ευθείας. Όσο πιο κοντά στο 100% βρίσκεται ο συντελεστής αυτός τόσο πιο ισχυρή είναι η γραμμική παλινδρόμηση των δύο μεταβλητών. ⁽⁵⁰⁾



Γράφημα 15: Συσχέτιση συγκέντρωσης φαινολικών σε σχέση με την ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών

Όπως φαίνεται παραπάνω τόσο στο ιστόγραμμα συχνοτήτων όσο και στο γράφημα (Γραφ.14 & Γραφ.15), οι δύο μεταβλητές παρουσιάζουν παρόμοιες πρότυπες καμπύλες και εμφανίζουν την ίδια συμπεριφορά ως προς την άνοδο και μείωση των τιμών τους, γεγονός που επιβεβαιώνει την γραμμική συσχέτιση που υπάρχει μεταξύ τους.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από όλα τα παραπάνω εξάγεται εύκολα το συμπέρασμα πως το δείγμα P9 ακολουθεί μια σταθερά ανοδική πορεία τόσο στην συγκέντρωση συνολικών φαινολικών συστατικών του όσο και στην αντιοξειδωτική ικανότητα που παρουσιάζει. Όσο για την ικανότητα του ως προς την δέσμευση ελευθέρων ριζών, παρατηρούμε πως δεν εμφανίζει το υψηλότερο ποσοστό, έχει όμως μια ικανοποιητική απόδοση.

Το δείγμα με τις χαμηλότερες τιμές τόσο στην συγκέντρωση φαινολικών όσο και στην αντιοξειδωτική του ικανότητα παρατηρούμε πως είναι το δείγμα P7, το οποίο όμως εμφανίζει ένα πολύ καλό ποσοστό στην ικανότητά του στην δέσμευση ελευθέρων ριζών.

Παρακάτω παρατίθεται πίνακας που περιλαμβάνει τα δείγματα των λευκών κρασιών που χρησιμοποιήθηκαν καθ' όλη την διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας και οι ποικιλίες κρασιών από τις οποίες αποτελείται το καθένα.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ (κωδικοί)	ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΣΤΑΦΥΛΙΟΥ
P1	Αγροτικός συνεταιρισμός
P2	Αγροτικός συνεταιρισμός
P3	Σαββατιανό
P4	Σαββατιανό
P5	Σαββατιανό & Ροδίτης
P6	Σαββατιανό
P7	Σαββατιανό
P8	Σαββατιανό & Ροδίτης
P9	Σαββατιανό & Ροδίτης
P10	Ασύρτικο & Μοσχοφίλερο
P11	Σαββατιανό
P12	Σαββατιανό

Πίνακας 5: Δείγματα λευκών κρασιών και οι ποικιλίες τους

Γίνεται εύκολα κατανοητό λοιπόν, ότι ο καλύτερος συνδυασμός λευκού κρασιού είναι ο συνδυασμός ποικιλίας σαββατιανού και ροδίτη από τον οποίο αποτελείται το δείγμα P9, το οποίο έδωσε και τα υψηλότερα αποτελέσματα τόσο στην συγκέντρωση φαινολικών όσο και στον προσδιορισμό αντιοξειδωτικής ικανότητας.

Όσο για το δείγμα P7 που παρουσιάζει τα χαμηλότερα αποτελέσματα, παρατηρούμε ότι αποτελείται μόνο από ποικιλία σαββατιανού, όπως και τα περισσότερα από τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν και τα οποία όπως φαίνεται στα αποτελέσματα έδωσαν μέσες συγκεντρώσεις φαινολικών αλλά και μια μέση αντιοξειδωτική ικανότητα.

Τέλος, για το δείγμα P10 το οποίο είναι το μοναδικό που διαφοροποιείται ως προς τον συνδυασμό ποικιλίας κρασιών από τον οποίο αποτελείται, παρατηρούμε ότι εμφάνισε αρκετά χαμηλή συγκέντρωση φαινολικών, παρόλα αυτά η αντιοξειδωτική του ικανότητα ακολουθούσε τον μέσο όρο των δειγμάτων, ενώ είχε και ένα αρκετά υψηλό ποσοστό δέσμευσης ελευθέρων ριζών.

ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ :

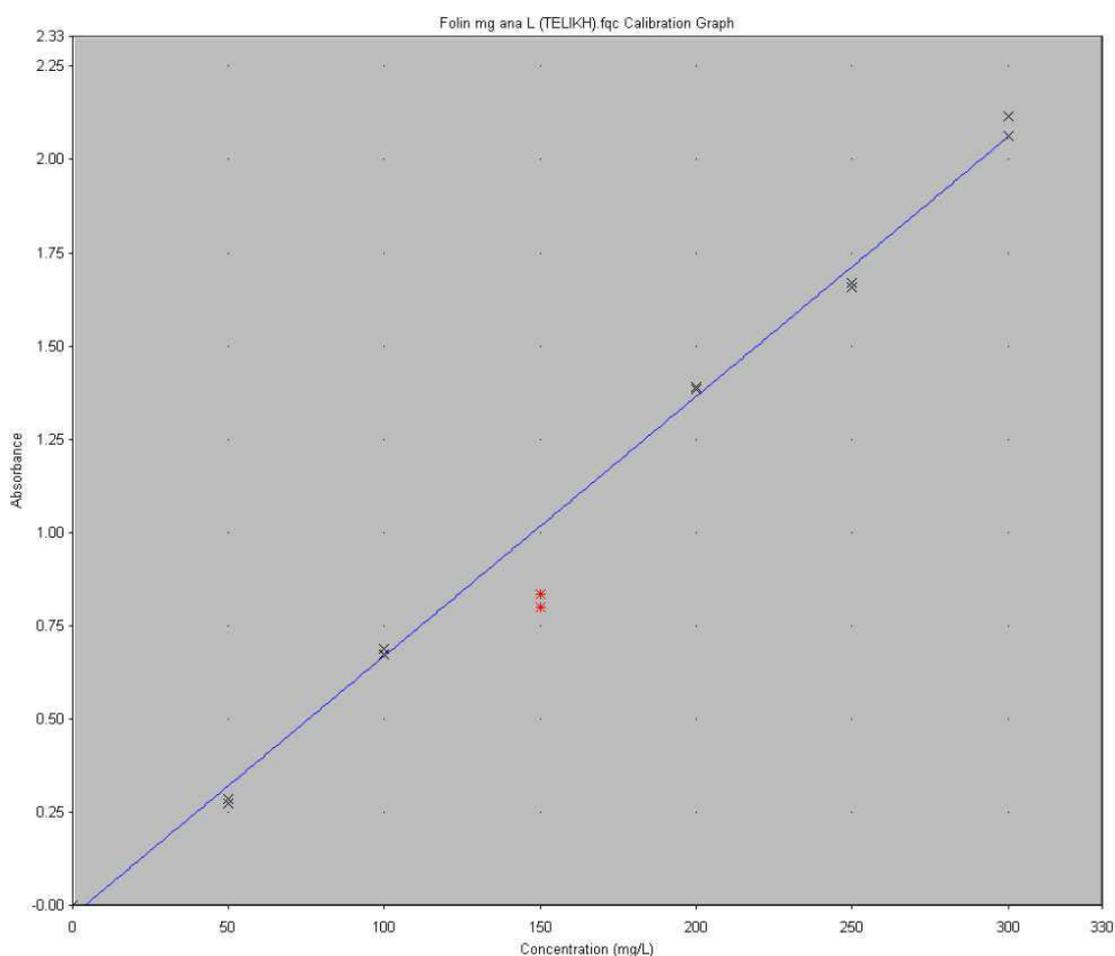
- ✓ Αξιολόγηση και μελέτη αντιοξειδωτικής ικανότητας σε περισσότερα δείγματα Σαββατιανού και Ροδίτη.
- ✓ Η σύγκριση με δείγματα άλλων ποικιλιών και η ερμηνεία της πιθανής διαφοροποίησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας
- ✓ Η χρήση περαιτέρω μεθόδων προσδιορισμού αντιοξειδωτικής ικανότητας, κυρίως ενζυμικών.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Παρακάτω παρατίθενται οι πρότυπες καμπύλες που χρησιμοποιήθηκαν για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων σε κάθε μέθοδο προσδιορισμού. Οι πρότυπες καμπύλες χρησιμοποιήθηκαν από το πρόγραμμα THERMO SPETRONIC~VISIONpro SOFTWARE V2.00.

➤ ΠΡΟΤΥΠΗ ΚΑΜΠΥΛΗ FOLIN – CIOCALTEU

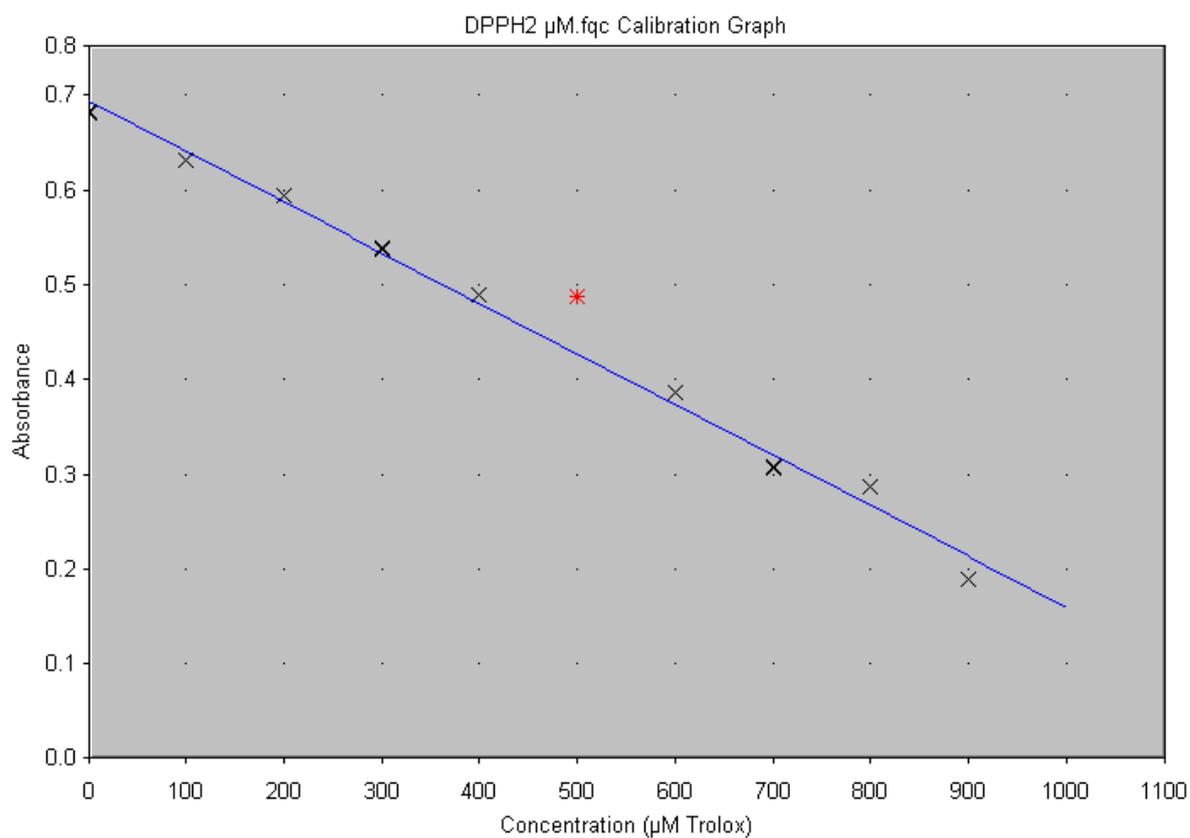
Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης έγινε μέτρηση της απορρόφησης διαφορετικών συγκεντρώσεων γαλλικού οξέος στα 760nm με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου.



Σχήμα 1: Πρότυπη καμπύλη Folin-Ciocalteu

➤ ΠΡΟΤΥΠΗ ΚΑΜΠΥΛΗ DPPH

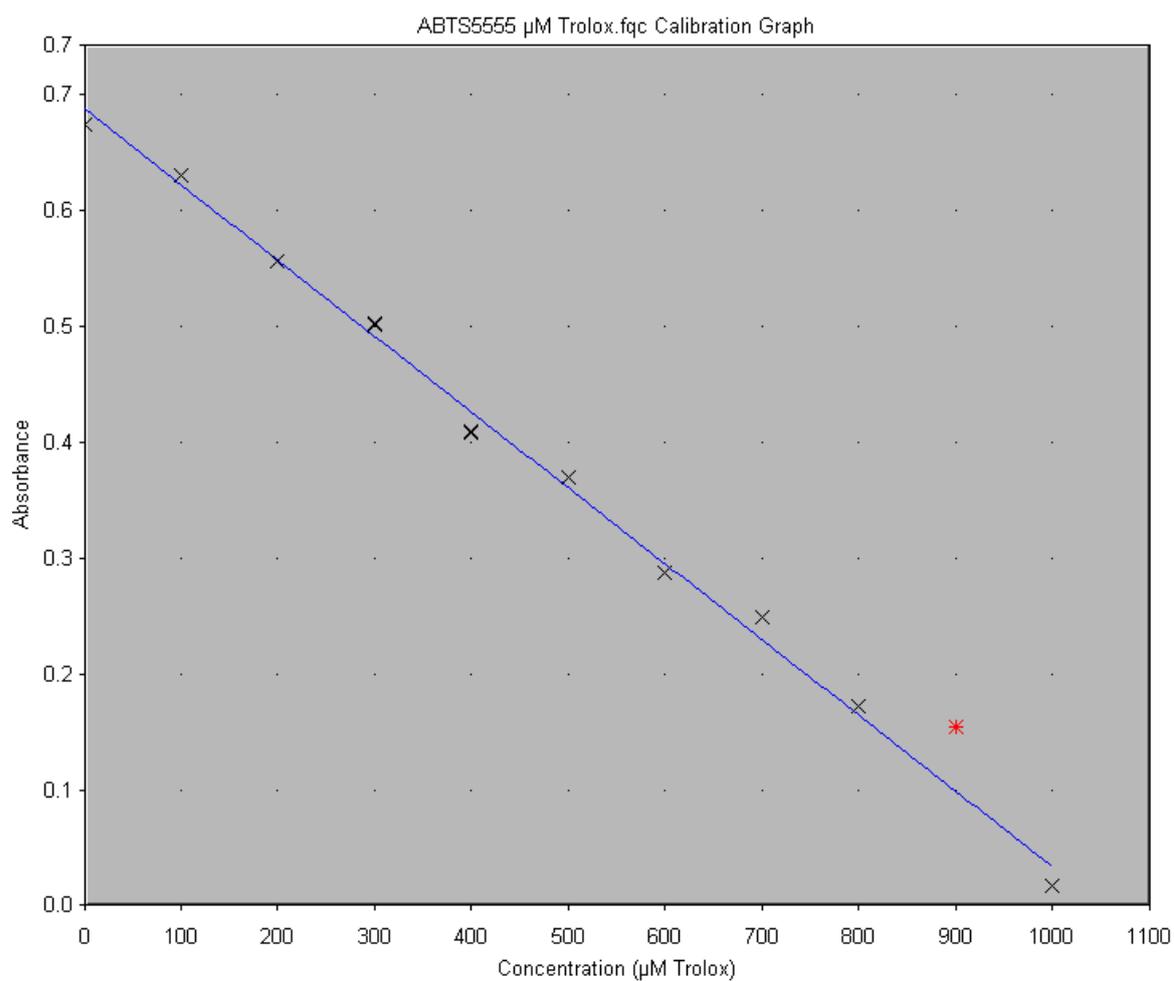
Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης έγινε μέτρηση της απορρόφησης διαφορετικών συγκεντρώσεων Trolox στα 517nm με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου.



Σχήμα 2: Πρότυπη καμπύλη DPPH

➤ ΠΡΟΤΥΠΗ ΚΑΜΠΥΛΗ ABTS

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης έγινε μέτρηση της απορρόφησης διαφορετικών συγκεντρώσεων Trolox στα 734nm με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου.



Σχήμα 3: Πρότυπη καμπύλη ABTS

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Willet, Walter C., και συν. *Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. American Journal of Clinical Nutrition* . 1995, σ. 5.
2. Spiller, Gene A. *The Mediterranean diets in health and disease. New York*: s.n., 1991
3. Γιαννακάκη, Αντωνία και Κουγιουμτζάκη, Δέσποινα. *Διατροφικές συνήθειες και ποιότητα ζωής σε αγροτικό πληθυσμό στην Κρήτη. Σητεία* : s.n., 2012.
4. Nestlé, Marion. *Mediterranean diets: historical and research overview. American Journal of Clinical Nutrition* . 1995, 61.
5. Τριχοπούλου, Αντωνία. *Μεσογειακή διατροφή, παραδοσιακά μεσογειακά τρόφιμα και υγεία. Ελληνική Επιθεώρηση Διατολογίας-Διατροφής. 2010, Τόμ. 1, 1.*
6. Τρηγοράκης, Δημήτρης. *Ναι στη σωστή διατροφή όχι στην παιδική παχυσαρκία. Αθήνα* : Μίνωας, 2013
7. Αθανασίου, Κυριάκος. *Αγωγή Υγείας. Αθήνα* : ΓΡΗΓΟΡΗ, 2010
8. Trichopoulou, Antonia, Bamia, Christina και Trichopoulos, Dimitrios. *Anatomy of health effects of Mediterranean diet: Greek EPIC prospective cohort study. BMJ. 2009*
9. Fielding R. *Does diet or alcohol explain the French paradox? Lancet. 1995 Feb 25;345(8948):527-8.*
10. Trichopoulou A, Vasilopoulou E. *Mediterranean diet and longevity. Br J Nutr. 2000;84:205-9. [23] Rathel T, Samtleben R, Vollman A, Dirsch V. Activation of endothelial nitric oxide synthase by red wine polyphenols: impact of grape cultivars, growing area and vinification process. J Hypertens. 2007;25:541-9.*
11. http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9A%CF%81%CE%B1%CF%83%CE%AF#.CE.A0.CE.BF.CE.B9.CE.BA.CE.B9.CE.BB.CE.AF.CE.B5.CF.82_.CE.BA.CF.81.CE.B1.CF.83.CE.B9.CF.8E.CE.BD
12. Βλάχσιος, Γεώργιος. *Αναλυτική χημεία και ενόργανη ανάλυση στον τομέα της διατροφής.*
13. Κυρανάς, Ευστράτιος. *Λειτουργικές ιδιότητες νερού, πρωτεϊνών, σακχάρων, λιπιδίων και φυσικών χρωστικών. Θεσσαλονίκη* : ΤΖΙΟΛΑ, 2011.
14. Αθανασίου, Κυριάκος. *Αγωγή Υγείας. Αθήνα* : ΓΡΗΓΟΡΗ, 2010
15. Valko, Marian, και συν. *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 2007, Τόμ. 39.*
16. Γιαννακοπούλου, Ε. *Οξειδωτικό stress – αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί. Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής. 2009.*
17. Γερογιάννη, Ε. και Τουρτουλιάνης, Κ.Ι. *Οξειδωτικό stress και παθήσεις του πνεύμονα. Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής. 2006.*
18. Αραμαδακίδου, Μαρία. *Σύγκριση της αντιοξειδωτικής δράσης αφεψημάτων, τείου, παραδοσιακών βοτάνων και φύλλων ελιάς. Αθήνα* : s.n., 2009
19. Κατσίκας, Χ. *Βιοχημεία ΙΙ. Θεσσαλονίκη* : Α.Τ.Ε.Ι. Θεσσαλονίκης, 1999
20. Rosen G.M., Britigan B.E., Halpern H.J. and Pou S., *Free Radicals. Biology and Detection by Spin Trapping, Oxford University Press, New York, Oxford, 1999*
21. Schlesier K., Harwat M., Bohm V. and Bitsch R., *Assessment of Antioxidants Activity by using Different Vitro Methods, Free Radical Research, 36 (2): 177-187, 2002*
22. Γαλάρης Α., *Ελεύθερες Ρίζες, Χημεία Βιοχημεία, Ιατρική Σχολή Ιωαννίνων, 2001*
23. Βαλαβανίδης Αθ., *Ελεύθερες ρίζες στην οργανική χημεία (Φυσικοχημικές ιδιότητες, Φαρματοσκοπία, Μηχανισμοί ελευθέρων ριζών, Σύνθεση οργανικών ενώσεων και εφαρμογές), Έκδοση: τμήμα Χημείας, Πανεπιστημίου Αθηνών 2006*
24. Sies, Helmut. *Oxidative stress: oxidants and antioxidants. s.l. : Academic Press, 1991*
25. Ames, Bn, Shingenaga, Μκ και Park, Em. *DNA damage by endogenous oxidants as a cause of ageing and cancer. New York*: s.n., 1991.

26. Οργανική Χημεία, Κεφάλαιο Πρώτο, «Ελεύθερες ρίζες: Βασικές έννοιες, σχηματισμός και σταθερότητα» www.chem.uoa.gr Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σμήμα Φημείας
27. Φουρτουνόπουλος Δ. Επιστήμη τροφίμων ΙΙ, Τμήμα εκδόσεων Α.Τ.Ε.Ι.Θ. 2004
28. Jan Krolman, Klaus-Heinrich Rehm, «Εγχειρίδιο Βιοχημείας» (2η Έκδοση), Ιατρικές Εκδόσεις Π.Φ. Πάσχαλιδης (248-285)
29. Μπόσκοκς Δ., Χημεία Τροφίμων, 4η Έκδοση, Κεφ. ΙΧ, σελ 230, 231-232, Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη, 1997
30. Α.Πολυχρονιάδου-Αλληχανίδου, «Ανάλυση Σροφίμων» Ε* Έκδοση, Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη
31. Οδηγός για Πρόσθετα Σροφίμων (Αριθμοί Ε) 2008 <http://www.moh.gov.cy>
32. Simonsen J.L. (1957). *The Terpenes*. Cambridge, Cambridge University Press, 2/105-191
33. Σουφλερός Ε. Οινολογία Επιστήμη και Τεχνολογία, τόμος Ι, σελ 7, 119, 122, 191-194, 197-198, 203, Τυπογραφεία Παπαγεωργίου, Θεσσαλονίκη, 1997
34. Οργανική χημεία, κεφάλαιο δέκατο, „Εφαρμογές των μηχανισμών των ελεύθερων ριζών στην οργανική χημεία, βιολογία και ιατρική” www.chem.uoa.gr Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Χημείας
35. Ελληνική Εταιρία Ελεύθερων Ριζών και Οξειδωτικού Στρες www.eeeros.gr e-book: («Ελεύθερες Ριζες Στην Οργανική Χημεία», Αθ.Π.Βαλαβασιδής, Τμήμα Χημείας παν. Αθηνών, Αθήνα 2006.)
36. Μηνώτη Αικατερίνη, Διδακτορική Διατριβή «Ανάπτυξη Νέων Μεθόδων Προσδιορισμού Ολικής Αντιοξειδωτικής Ενεργότητας Και Εφαρμογή στο Έλαιόλαδο» <http://despace.aua.gr> Βιβλιοθήκη Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
37. DPPH Method <http://www.medlabs.com>
38. Μ.Γωάννου, Μεταπτυχιακή διατριβή «Αντιοξειδωτικό Περιεχόμενο Και Αντιοξειδωτική Δράση Καρπών Και Οσπρίων Από Σην Ελληνική Αγορά» <http://estia.hua.gr> Βιβλιοθήκη Φαρκόπειο Πανεπιστήμιο
39. Μηνώτη Αικατερίνη, Διδακτορική Διατριβή «Ανάπτυξη Νέων Μεθόδων Προσδιορισμού Ολικής Αντιοξειδωτικής Ενεργότητας Και Εφαρμογή □ το Έλαιόλαδο» <http://despace.aua.gr> Βιβλιοθήκη Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
40. Klein, S.M., Gohen, G., Cederbaum A.I. 1981. “Production of formaldehyde metabolism of dimethyl sulfoxide by hydroxyl radical generating systems. *Biochemistry*, 20(21):6006-6012
41. Nash T. (1953), *The Colorimetric Estimation of Formaldehyde by Means of Hantzsch Reaction*
42. Menotti A, Kromhout D, Blackburn H, Fidanza F, Buzina R, Nissinen A.: Food intake patterns and 25-year mortality from coronary heart disease: cross-cultural correlations in the Seven Countries Study. *The Seven Countries Study Research Group. Eur J Epidemiol.* 1999. Jul; 15(6):507-15.
43. Manios Y, Detopoulou V, Visioli F, Galli C. Mediterranean diet as a nutrition education and dietary guide: misconceptions and the neglected role of locally consumed foods and wild green plants. *Forum Nutr.* 2006;59:154-70.
44. Fragopoulou E, Demopoulos CA, Antonopoulou S. Lipid minor constituents in wines. A biochemical approach in the French paradox *Int J Wine Res.* 2009;1:131- 43. [21] Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM. Wine as a biological fluid: History, Production and Role in Disease Prevention. *J Clin Nutr.* 1997;11:287-313.
45. Trichopoulou A, Vasilopoulou E. Mediterranean diet and longevity. *Br J Nutr.* 2000;84:205-9. [23] Rathel T, Samtleben R, Vollman A, Dirsch V. Activation of endothelial nitric oxide synthase by red wine polyphenols: impact of grape cultivars, growing area and vinification process. *J Hypertens.* 2007;25:541-9.
46. <http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9A%CF%81%CE%B1%CF%83%CE%AF>
47. <http://www.samartziswines.gr/%CE%A0%CF%81%CF%8E%CF%84%CE%B7%CE%A3%CE%B5%CE%BB%CE%AF%CE%B4%CE%B1/%CE%9F%CE%B9%CE%BD%CE%B8%CE%9A%CF%81%CE%B1%CF%83%CE%AF>

- [Ε%BF%CF%80%CE%BF%CE%AF%CE%B7%CF%83%CE%B7/%CE%9B%CE%B5%CF%85%CE%BA%CE%AE%CE%9F%CE%B9%CE%BD%CE%BF%CF%80%CE%BF%CF%80%CE%BF%CE%AF%CE%B7%CF%83%CE%B7/tabid/130/Default.aspx](http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A1%CE%B5%CF%84%CF%83%CE%AF%CE%B7%CF%85%CE%BA%CE%AE%CE%9F%CE%B9%CE%BD%CE%BF%CF%80%CE%BF%CF%80%CE%BF%CE%AF%CE%B7%CF%83%CE%B7/tabid/130/Default.aspx)
48. <http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A1%CE%B5%CF%84%CF%83%CE%AF%CE%B7%CF%85%CE%BA%CE%AE%CE%9F%CE%B9%CE%BD%CE%BF%CF%80%CE%BF%CF%80%CE%BF%CE%AF%CE%B7%CF%83%CE%B7/tabid/130/Default.aspx>
49. <http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A3%CE%B1%CE%B2%CE%B2%CE%B1%CF%84%CE%B9%CE%B1%CE%BD%CF%8C>
50. Γεώργιος Βλαχάβας «Εφαρμοσμένη στατιστική με χρήση του πακέτου Minitab, 2012 Εκδόσεις Τζιόλα