



**ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ ΤΗΣ ΛΙΠΙΔΙΚΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ
ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΑΠΟ ΔΕΙΓΜΑΤΑ
ΜΟΝΟΠΟΙΚΙΛΙΑΚΩΝ ΚΟΚΚΙΝΩΝ ΚΡΑΣΙΩΝ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ
ΕΠΙΚΡΑΤΕΙΑΣ**

**ΕΞΑΡΧΟΠΟΥΛΟΥ ΒΑΣΙΛΙΚΗ
ΤΑΡΑΛΑ ΜΑΡΙΑ**

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2011

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ ΤΗΣ ΛΙΠΙΔΙΚΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ
ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΑΠΟ ΔΕΙΓΜΑΤΑ
ΜΟΝΟΠΟΙΚΙΛΙΑΚΩΝ ΚΟΚΚΙΝΩΝ ΚΡΑΣΙΩΝ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ
ΕΠΙΚΡΑΤΕΙΑΣ

ΕΞΑΡΧΟΠΟΥΛΟΥ ΒΑΣΙΛΙΚΗ
ΤΑΡΑΛΑ ΜΑΡΙΑ

**Υποβολή Πτυχιακής διατριβής που αποτελεί μέρος των
απαιτήσεων για την απονομή του Πτυχίου του Τμήματος
Τεχνολογίας Τροφίμων του ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης**

ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ
ΚΟΝΤΟΓΙΩΡΓΗΣ ΧΡΗΣΤΟΣ

ΙΟΥΝΙΟΣ 2011

Ευχαριστίες

Η διπλωματική αυτή εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Χημείας του Τμήματος Διατροφής Α.Τ.Ε.Ι.Θ. καθώς και στο εργαστήριο Φαρμακευτικής Χημείας του Τμήματος Φαρμακευτικής Α.Π.Θ..

Ευχαριστούμε θερμώς τον εισηγητή της παρούσας πτυχιακής κ. Αθανάσιο Παπαδόπουλο και τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Χρήστο Κοντογιώργη.

Ευχαριστούμε θερμώς την Καθηγήτρια Δήμητρα Χατζηπαύλου – Λιτίνα του Τμήματος Φαρμακευτικής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης για τη βοήθειά της κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μας εργασίας.

Ευχαριστούμε θερμώς την κ. Άννα Γουρλιώτη από την εταιρία «Αμπελοοινική» που μας παρέιχε τα δείγματα των κρασιών.

Περίληψη

Η Μεσογειακή διατροφή περιλαμβάνει πληθώρα τροφίμων που περιέχουν αντιοξειδωτικές ουσίες όπως για παράδειγμα το κόκκινο κρασί το οποίο είναι πολύ πλούσιο σε φαινολικές ενώσεις οι οποίες δρουν προστατευτικά στον ανθρώπινο οργανισμό κατά πλήθους ασθενειών που προκαλεί η οξειδωτική καταπόνηση του οργανισμού. Το κόκκινο κρασί είναι μια ιδιαίτερα πλούσια πηγή αντιοξειδωτικών διότι τα φλαβονοειδή που περιέχει αυξάνουν τη χοληστερόλη HDL και αποτρέπουν το σχηματισμό θρόμβων στο αίμα.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η αντιοξειδωτική και αντιθρομβωτική δράση σε δείγματα μονοποικιλιακών κόκκινων κρασιών (Αγιωργίτικο και Ξινόμαυρο). Τα δείγματα τα προμηθευτήκαμε από την «Αμπελοοινική». Συγκεκριμένα μελετήθηκε το ποσοστό σχηματισμού θρόμβου στο αίμα έπειτα από την προσθήκη ρυθμιστικού διαλύματος TYRODE και θρομβίνης, αφού φωτογραφήθηκε και υπολογίστηκε με τη βοήθεια του προγράμματος NIH Image 1.67e. Επίσης, μελετήθηκε η πορεία της οξειδωσης διαφορετικών συγκεντρώσεων των δειγμάτων (1:10 και χωρίς αραίωση) με την προσθήκη λινελαϊκού οξέος και αντιδραστηρίου AAPH (γεννήτρια ελευθέρων ριζών).

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων επιβεβαιώνουν τη βιβλιογραφική έρευνα για αντιοξειδωτική δράση του κόκκινου κρασιού. Ακόμη φαίνεται η ισχυρή ανασταλτική δράση των θρόμβων στο αίμα, με το Αγιωργίτικο να εμφανίζει μεγαλύτερη αντιθρομβωτική δράση από το Ξινόμαυρο.

Πίνακας περιεχομένων

1. Εισαγωγή	1
2. Μεσογειακή διατροφή	2
2.1 Ανάλυση της πυραμίδας της μεσογειακής διατροφής	3
2.2 Μεσογειακή διατροφή και υγεία	5
3. Κόκκινο κρασί.....	7
3.1 Οινοποίηση	7
3.2 Αντιοξειδωτική δράση του κόκκινου κρασιού.....	10
3.3 Ευεργετικές ιδιότητες του κρασιού.....	11
4. Ελεύθερες ρίζες	13
4.1 Σχηματισμός ελεύθερων ριζών	14
4.2 Μέθοδοι παραγωγής ελεύθερων ριζών	15
5. Αντιοξειδωτικά.....	17
5.1 Αντιοξειδωτικές ουσίες που περιέχονται στα τρόφιμα	17
5.2 Αντιοξειδωτικές χημικές ουσίες που περιέχονται στα φυτά	20
5.3 Αντιοξειδωτικές ουσίες που περιέχονται στο πλάσμα του αίματος	20
6. Οξειδωση λιπαρών οξέων.....	21
6.1 Συσχέτιση κρασιού – αναστολής οξειδωσης.....	22
7. Αιμόσταση	26
7.1 Η αγγειακή φάση	26
7.2 Ο σχηματισμός θρόμβου.....	26
7.3 Η πήξη του αίματος.....	27
7.4 Ανάπτυξη ινώδους ιστού στο θρόμβο.....	28
7.5 Συσχέτιση κρασιού – θρόμβωσης	29
8. Πειραματικό Μέρος	31
8.1 Σκοπός.....	31
8.1.1 Δείγματα κρασιών	32
8.1.2 Συσκευές	33
8.1.3 Αντιδραστήρια	33
8.2. Αναστολή της υπεροξειδωσης του λινελαϊκού οξέος.....	34
8.3 Αναστολή σχηματισμού θρόμβου	35
9. Αποτελέσματα και Συζήτηση	37
9.1. Φωτογραφικό υλικό	47

10. Στατιστικός έλεγχος.....	50
11. Συμπεράσματα	57
12. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα	58
13. Βιβλιογραφία	59
14. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	65

1. Εισαγωγή

Το κρασί είναι ένα μίγμα αρκετών ενώσεων με σημαντικότερες το νερό, την αιθανόλη, τη γλυκερόλη, τα ζάχαρα, τα οργανικά οξέα, τα άλατα, τις αλειφατικές και αρωματικές αλκοόλες, τα αμινοξέα και τις φαινολικές ενώσεις (Tarantilis et al., 2008).

Οι πολυφαινολικές αυτές ενώσεις έχουν έναν λειτουργικό ρόλο, δεδομένου ότι συμπεριφέρονται ως αντιοξειδωτικά ενάντια στις ελεύθερες ρίζες (Di Majo et al., 2005).

Οι ελεύθερες ρίζες είναι χημικές ενώσεις ουδέτερες ή φορτισμένες που έχουν ένα περιττό αριθμό ηλεκτρονίων, είναι πολύ ασταθείς και κατά συνέπεια δεσμεύουν ηλεκτρόνια με αποτέλεσμα αυτό να τις καθιστά ισχυρά οξειδωτικές (Di Majo et al., 2005).

Διαφορετικές πολυφαινόλες μπορούν να επηρεάσουν και να προσαρμόσουν την λειτουργία των κυττάρων που συμμετέχουν στη διαδικασία της θρόμβωσης (De Curtis et al., 2005).

Πολλές μελέτες έχουν γίνει για το συσχετισμό του κρασιού με τα αντιοξειδωτικά και την θετική επίδραση στον ανθρώπινο οργανισμό (Tubaro et al., 1999).

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης του λινελαϊκού οξέος καθώς και η μελέτη της αναστολή σχηματισμού θρόμβου σε δείγματα μονοποικιλιακών κόκκινων κρασιών της Ελληνικής επικράτειας.

2. Μεσογειακή διατροφή

Η Μεσογειακή διατροφή χαρακτηρίζεται από τις διατροφικές συνήθειες που βρέθηκε ότι είχαν οι κάτοικοι της Κρήτης και της Νότιας Ιταλίας στις αρχές της δεκαετίας του 1960 (Martinez-Gonzalez et al.,2008).

Η Μεσογειακή κουζίνα είναι αναμφίβολα νόστιμη και απολαυστική, χαρακτηρίζεται από μια μεγάλη κατανάλωση οσπρίων, φρούτων και λαχανικών, μη επεξεργασμένων δημητριακών και γαλακτοκομικών προϊόντων (συνήθως τυρί ή γιαούρτι), το ελαιόλαδο ως κύρια πηγή λίπους και ελάχιστη χρήση άλλων προστιθέμενων λιπών, μια μικρή κατανάλωση κόκκινου κρέατος καθώς και κατανάλωση κόκκινου κρασιού με μέτρο, μαζί με τα γεύματα (Itsiopoulos et al., 2009).

Σύμφωνα με την 30ετή μελέτη του επιδημιολόγου Ancel Keys των «Επτά χωρών», αποδεικνύεται ότι η κουζίνα αυτή είναι και εξαιρετικά υγιεινή. Ο Keys και οι συνάδελφοι του ερεύνησαν τη διατροφή και την κατάσταση της υγείας περίπου 13.000 ανδρών. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως οι μεσογειακοί πληθυσμοί εμφάνιζαν περιορισμένο αριθμό επεισοδίων στεφανιαίας νόσου και τον υψηλότερο δείκτη προσδόκιμου ζωής. Αυτό αποδόθηκε κυρίως στη χαμηλή πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών και στη μεγάλη κατανάλωση μονοακόρεστων λιπαρών (κυρίως λάδι ελιάς) από τους κατοίκους της Μεσογείου. Το μεγαλύτερο ποσοστό καρδιακών παθήσεων παρουσιάστηκε στη Φινλανδία, όπου στη διατροφή των ανδρών, το 40% των θερμίδων προερχόταν από λίπος. Το χαμηλότερο ποσοστό παρουσιάστηκε στην Κρήτη, όπου το 40% των θερμίδων προερχόταν επίσης, από λίπος αλλά διαφορετικού είδους. Οι Φινλανδοί κατανάλωναν κρέας και γαλακτοκομικά, ενώ οι Κρητικοί ελαιόλαδο (Giugliano & Esposito, 2008).

Ο τρόπος αυτός διατροφής έχει γίνει πολύ διαδεδομένος τα τελευταία χρόνια, καθώς πλήθος μελετών δείχνουν ότι οι κάτοικοι Μεσογειακών περιοχών ζουν περισσότερο, ενώ σπανιότερα σε σχέση με τους Αμερικανούς και τους Βορειοευρωπαίους πάσχουν από άσθμα, διαβήτη τύπου 2, παχυσαρκία, μεταβολικό σύνδρομο ή καρδιακές παθήσεις (Martinez-Gonzalez et al, 2008).

2.1 Ανάλυση της πυραμίδας της μεσογειακής διατροφής

Ταξινομώντας τις τροφές της μεσογειακής διατροφής σύμφωνα με την συχνότητα κατανάλωσής τους, σχηματίζεται η γνωστή πυραμίδα της Μεσογειακής Διατροφής, η οποία χωρίζεται σε τρία επίπεδα και απεικονίζει τη μηνιαία, την εβδομαδιαία καθώς και την καθημερινή συνιστώμενη κατανάλωση.

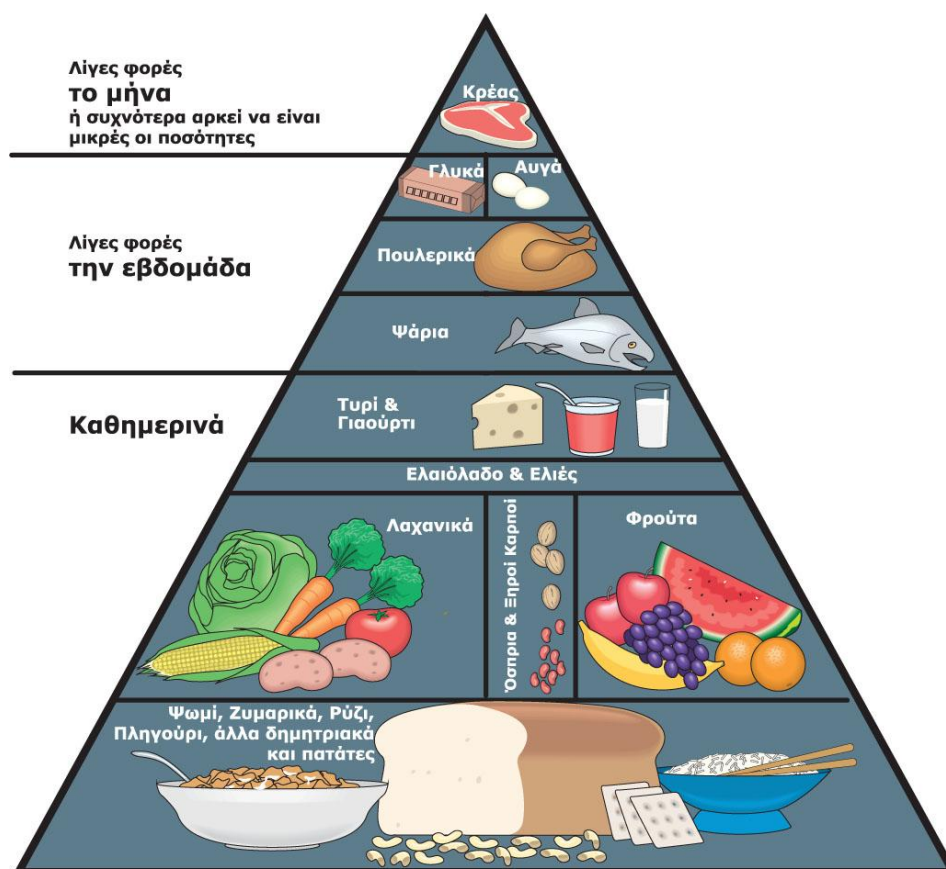
Η βάση της πυραμίδας αποτελείται από τροφές όπως είναι τα δημητριακά και τα προϊόντα τους (ψωμί, ζυμαρικά, ρύζι, κ.ά.), που πρέπει να καταναλώνονται σε καθημερινή βάση, καθώς μας παρέχουν ενέργεια μέσω των υδατανθράκων που περιέχουν. Όταν μάλιστα είναι ολικής άλεσης, τότε παρέχουν και αρκετές φυτικές ίνες, οι οποίες βοηθούν στην καλύτερη λειτουργία του εντέρου και στη μείωση της χοληστερόλης. Η ομάδα των φρούτων και των λαχανικών αποτελεί καλή πηγή αντιοξειδωτικών και άλλων βιταμινών (βιταμίνες A, C, βιταμίνες συμπλέγματος B, κ.λπ.), ανόργανων στοιχείων, άλλων αντιοξειδωτικών ουσιών και φυτικών ινών. Η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών δρα προστατευτικά όσον αφορά στον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων και διαφόρων μορφών καρκίνου (Giugliano & Esposito, 2008; Trichoroulou & Lagiou, 2004).

Βασικό συστατικό της Μεσογειακής Διατροφής είναι το ελαιόλαδο. Πλήθος ερευνών έχουν δείξει ότι το ελαιόλαδο, που είναι πλούσιο σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και σε αντιοξειδωτικές ουσίες, παρέχει προστασία κατά της στεφανιαίας νόσου και μειώνει τα επίπεδα της «κακής» χοληστερόλης, ενώ παράλληλα αυξάνει τα επίπεδα της «καλής» χοληστερόλης. Η «καλή» χοληστερόλη ή υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (HDL), απομακρύνει τη χοληστερίνη από τις αρτηρίες προς το ήπαρ, όπου απορρίπτονται. Η «κακή» χοληστερόλη ή χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (LDL), απομακρύνει τη χοληστερίνη από το ήπαρ στους ιστούς του σώματος. Αν υπάρχουν υψηλά επίπεδα κακής (LDL) χοληστερόλης στο αίμα, μπορεί να συσσωρευτεί στα τοιχώματα των αιμοφόρων αγγείων, στενεύοντάς τα (Tselepis et al., 2005).

Οι επιστημονικές όμως ενδείξεις για τα οφέλη του ελαιολάδου δεν περιορίζονται μόνο στα ανωτέρω. Αρκετοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι προστατεύει και από κάποιες μορφές καρκίνου. Το ελαιόλαδο, όπως και όλα

τα λίπη, μπορεί να οδηγήσουν ευκολότερα, σε σχέση με άλλα τρόφιμα, σε θετικό ισοζύγιο ενέργειας και επομένως να διευκολύνουν την αύξηση του σωματικού βάρους. Σημασία όμως κι εδώ έχει το ισοζύγιο ενέργειας και η αντίστοιχη σωματική δραστηριότητα (Trichoroulou & Lagiου, 2004).

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα αποτελούν πηγή τόσο ανόργανων στοιχείων και βιταμινών, με πιο γνωστό το ασβέστιο, όσο και πρωτεϊνών υψηλής διατροφικής αξίας. Το ασβέστιο είναι απαραίτητο κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του σώματος, αλλά και για τη διατήρηση της οστικής μάζας κατά τη διάρκεια της ενήλικης ζωής. Η κατανάλωση χαμηλών σε λιπαρά γαλακτοκομικών προϊόντων μπορεί να έχει πλεονεκτήματα για την υγεία, αφού τα τρόφιμα αυτά περιέχουν μεν τα ευεργετικά συστατικά των γαλακτοκομικών, αλλά παράλληλα έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά (τα οποία έχουν συσχετισθεί με καρδιοαγγειακά και άλλα νοσήματα) (Giugliano & Esposito, 2008).



Σχήμα 1. Πυραμίδα της Μεσογειακής διατροφής (http://www.care24.gr/wp-content/uploads/2010/10/mediterranean_diet1.jpg).

Τα ψάρια, και κυρίως τα λιπαρά, περιέχουν μεγάλες ποσότητες ω-3 λιπαρών οξέων, τα οποία θεωρείται ότι μειώνουν σημαντικά την πιθανότητα εμφάνισης στεφανιαίας νόσου. Επιπλέον, περιέχουν πρωτεΐνες υψηλής βιολογικής αξίας και διάφορα ανόργανα στοιχεία. Τα πουλερικά παρέχουν στον οργανισμό πρωτεΐνες υψηλής διατροφικής αξίας και σίδηρο, εύκολα αφομοιώσιμο από τον οργανισμό (Giugliano & Esposito, 2008).

Τα αβγά είναι τροφή πλούσια σε πρωτεΐνες υψηλής βιολογικής αξίας, βιταμίνες και ανόργανα στοιχεία. Τα γλυκά περιέχουν συνήθως ζάχαρη, της οποίας η κατανάλωση έχει συσχετισθεί με την εμφάνιση τερηδόνας. Ίσως δεν είναι ευρέως γνωστό ότι κόκκινο κρέας δεν είναι μόνο το μοσχαρίσιο, αλλά και το χοιρινό, το κατσικίσιο και το αρνίσιο. Τα συγκεκριμένα τρόφιμα περιέχουν πρωτεΐνες υψηλής διατροφικής αξίας, σίδηρο, πολύ καλά απορροφήσιμο από τον οργανισμό, ψευδάργυρο και βιταμίνες. Περιέχουν, όμως, και κορεσμένα λιπαρά οξέα, τα οποία έχουν δυσμενείς επιδράσεις στην υγεία. Συνεπώς, η συχνότητα κατανάλωσής τους πρέπει να είναι περιορισμένη (Trichoroulou & Lagiou, 2004).

2.2 Μεσογειακή διατροφή και υγεία

Σε πληθυσμούς που ακολουθούσαν πιο πιστά το μοντέλο της μεσογειακής δίαιτας για αρκετά χρόνια διαπιστώθηκε ότι παρουσιάζονται τα εξής οφέλη:

- Ο πληθυσμός που κατανάλωσε «μεσογειακά τρόφιμα» είχε μια 20% χαμηλότερη αναλογία πιθανοτήτων κατοχής μεταβολικού συνδρόμου σε σύγκριση με το γενικό πληθυσμό (Babio et al., 2008).
- Όσοι ακολουθούσαν το πρότυπο της μεσογειακής διατροφής είχαν 83% λιγότερες πιθανότητες να εκδηλώσουν σακχαρώδη διαβήτη συγκριτικά με εκείνους που δεν ακολουθούσαν μεσογειακή διατροφή (Martinez-Gonzalez et al, 2008).
- Εμφάνιση βελτίωσης της ενδοθηλιακής λειτουργίας και μείωση κατά 13% της πιθανότητας θανάτου λόγω καρδιοπάθειας. Άρα πρόληψη της στεφανιαίας νόσου (Trichoroulou & Costacou, 2003).

- Μειωμένος κίνδυνος κατά 24% για θάνατο λόγω καρκίνου (Trichoroulou & Costacou, 2003).
- Οι καταναλωτές μεσογειακών τροφών έχουν κατά 51% χαμηλότερη αναλογία πιθανοτήτων να υπάρξουν παχύσαρκοι, σε σύγκριση με τους υπόλοιπους καταναλωτές (Giugliano & Esposito, 2008).
- Μείωση κατά 10% της πιθανότητας να εμφανίσουν καρκίνο του προστάτη (Itsiopoulos et al., 2009).

3. Κόκκινο κρασί

«Η δύναμη των θεών με δυσκολία θα μπορούσε να συγκριθεί με την ωφελιμότητα του οίνου», έλεγε ο Ασκληπιός. Ο Ιπποκράτης εξάλλου, πατέρας της ιατρικής, δίδασκε ότι: «Ο οίνος είναι αγαθό θαυμάσια προσαρμοσμένο στον άνθρωπο αν, τόσο σε κατάσταση υγείας όσο και αρρώστιας, το χρησιμοποιεί με μέτρο ανάλογα με τα ατομικά του χαρακτηριστικά».

3.1 Οινοποίηση

Πρώτη ύλη του κρασιού είναι οι ρώγες του σταφυλιού οι οποίες περιέχουν σάκχαρα, οργανικά οξέα και νερό (πάνω από 70%). Έπειτα από τις διάφορες διεργασίες (συγκομιδή, γλυκοποίηση και έκθλιψη) ακολουθεί η διαδικασία της ζύμωσης. Στον φλοιό των σταφυλιών υπάρχουν αδρανοποιημένοι οι ζυμομύκητες που περιέχουν ειδικά ένζυμα, τις ζυμάσες, οι οποίες έρχονται σε επαφή με τα σάκχαρα του μούστου, πολλαπλασιάζονται και προκαλούν αλκοολική ζύμωση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή αιθυλικής αλκοόλης, διοξειδίου του άνθρακα και μια σειρά δευτερευόντων προϊόντων. Η διαδικασία της ζύμωσης διαρκεί συνήθως 8-25 ημέρες και διαφέρει ανάλογα με το είδος του κρασιού που πρόκειται να παραχθεί (Tarantilis et al., 2008).

Οι ποικιλίες του κόκκινου κρασιού που καλλιεργούνται στην Ελλάδα είναι:

Από κόκκινα σταφύλια:

- Αγιωργίτικο
- Βερτζαμί
- Κοτσιφάλι
- Κρασάτο
- Λιάτικο
- Λημνιό
- Μαντηλαριά
- Μαυροδάφνη

- Μαύρο Μεσενικόλα
- Μοσχάτο Αμβούργου
- Μοσχοφίλερο (δίνει λευκό κρασί)
- Νεγκόσκα
- Ξινόμαυρο* Σταυρωτό
(Σουφλέρος, 2000)



Σχήμα 2. Ποικιλία κόκκινων σταφυλιών τα οποία καλλιεργούνται στη Βόρεια Ελλάδα

(<http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%91%CF%81%CF%87%CE%B5%CE%AF%CE%BF:Popolka-Xinomavro.jpg>)

Πίνακας 1. Σύσταση του οίνου (Σουφλέρος, 2000)

α/α	Είδος συστατικών	Βάρος (g/L)
1	Αλκοόλη αιθυλική	56 - 120
2	Ξηρό υπόλειμμα	17 - 32
3	Ολική οξύτητα	1,5 - 8
4	Πτητική οξύτητα	0,5
5	Γλυκερίνη	3,5 - 15
6	Όξινο τρυγικό κάλιο	1 - 5
7	Τρυγικό οξύ ελεύθερο	1
8	Μηλικό οξύ	1
9	Ζάχαρα	1,5 - 4
10	Θειικά άλατα	0,15 - 4
11	Ηλεκτρικό οξύ	0,7 - 1,4
12	Τανίνες	1 - 3
13	Κόμμεα (πηκτινικές ύλες)	1 - 4
14	Θειικό οξύ	0,1 - 0,3
15	Τέφρα	1 - 3,5
16	Χρωστικές ουσίες	Εκατοστά του g
17	Πυκνότητα	0,995 - 0,997

3.2 Αντιοξειδωτική δράση του κόκκινου κρασιού

Το κρασί είναι ένα σημαντικό συστατικό στη μεσογειακή διαιτητική παράδοση επειδή είναι πολύ πλούσιο σε αντιοξειδωτικές ενώσεις. Οι πολυφαινολικές ενώσεις που περιέχει το κρασί χωρίζονται σε δυο κατηγορίες: τα φλαβονοειδή (ανθοκυάνες, κατεχίνες κ.α.) και τα μη-φλαβονοειδή (βενζοϊκά οξέα κ.α.) και εξαρτώνται από την ποικιλία των σταφυλιών, την θέση του αμπελώνα, το σύστημα καλλιέργειας, το κλίμα, τον εδαφολογικό τύπο, τον χρόνο συγκομιδής, την διαδικασία παραγωγής και τη γήρανση. Τα φλαβονοειδή εκτός από την αντιοξειδωτική τους δραστηριότητα, αναπτύσσουν και πολλές βιολογικές δραστηριότητες όπως η παρεμπόδιση της συγκόλλησης των αιμοπεταλίων του πλάσματος και η καταστολή απελευθέρωσης της ισταμίνης. Επίσης παρουσιάζουν αντιβακτηριδιακή, αντιική, αντιφλεγμονώδη και αντιαλλεργική δράση (Yang et al., 2009; Gerogiannaki-Christopoulou et al., 2006).

Τα πολυφαινολικά μόρια έχουν έναν λειτουργικό ρόλο, δεδομένου ότι συμπεριφέρονται ως αντιοξειδωτικά δεσμεύοντας τις ελεύθερες ρίζες. Στην πραγματικότητα αυξάνουν την αντιοξειδωτική ικανότητα στο ανθρώπινο σώμα μετά από την κατανάλωση κόκκινου κρασιού (Di Majo et al., 2008).

Η κατανάλωση φαινολικών αντιοξειδωτικών διαδραματίζει έναν σημαντικό ρόλο στην προστασία από πιθανά παθολογικά γεγονότα. Τα περασμένα χρόνια, πολλή προσοχή ήταν στραμμένη στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες του ασκορβικού οξέος, της τοκοφερόλης και της β-καροτίνης. Τα τελευταία χρόνια, οι φαινολικές ενώσεις, έχουν προσελκύσει την αυξανόμενη προσοχή για τις αντιοξειδωτικές δραστηριότητές τους. Τα σταφύλια παρέχουν τα φαινολικά αντιοξειδωτικά, τα οποία συμβάλλουν στα πιθανά οφέλη της ανθρώπινης υγείας (Yang et al., 2009).

Το πολυφαινολικό προφίλ των κόκκινων κρασιών διαφέρει ουσιαστικά από το αντίστοιχο των λευκών κρασιών από την επίδραση των διαφορών στη σύνθεση μεταξύ των κόκκινων και άσπρων σταφυλιών, καθώς επίσης και στη χρησιμοποιούμενη τεχνολογία. Το κόκκινο κρασί έχει κριθεί να έχει μεγαλύτερο προστατευτικό ρόλο στην υγεία από το λευκό, το ροζέ ή ακόμα και άλλα οινοπνευματώδη ποτά, ενδεχομένως επειδή οι πολυφαινόλες που περιέχει βοηθούν στην αποτροπή των ασθενειών, όπως οι καρδιακές. Αυτά τα

συμπεράσματα έχουν κινήσει πολύ το ενδιαφέρον για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας των κόκκινων κρασιών (Alen-Ruiz et al., 2009).

3.3 Ευεργετικές ιδιότητες του κρασιού

Από αρχαιοτάτων χρόνων συστήνονταν η χρήση του οίνου και του ξυδιού για την αποστείρωση των νωπών προϊόντων που έφεραν κάθε είδους σπόρια. Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες του οίνου αποδόθηκαν κατά καιρούς στην αλκοόλη, στις τανίνες ή στα οξέα.

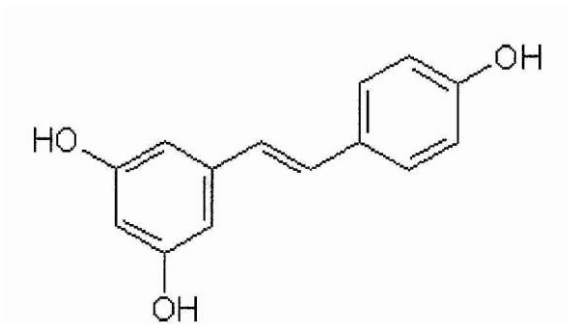
Πειράματα που έγιναν, έδειξαν ότι οι σαλμονέλες, οι κολοβάκιλοι και οι παθογόνοι σταφυλόκοκκοι εισαγόμενοι σε έναν ερυθρό οίνο θανατώνονται σε μερικά λεπτά. Η αλκοόλη προκαλεί ένα ζωηρό ερεθισμό του εγκεφάλου, όμως η μέτρια κατανάλωση οίνου αναπτύσσει τη διάνοια. Η γλυκερόλη προσφέρεται από το κρασί σε ποσοστό 7‰ περίπου και μετατρέπεται σε γλυκεροφωσφορικές ενώσεις, αξιοποιείται σημαντικά από τον ανθρώπινο οργανισμό. Τα περιεχόμενα στο κρασί ζάχαρα αναζωογονούν το γλυκογεννητικό δυναμικό του ήπατος. Τα ανόργανα άλατα συμβάλλουν στους μεταβολισμούς που συμβαίνουν στον οργανισμό. Τα φωσφορικά άλατα αποτελούν ένα δυναμικό επιταχυντή της διατροφής και των αζωτούχων ανταλλαγών. Οι βιταμίνες της ομάδας Β περιέχονται σε ποσότητες τέτοιες, που μπορούν να θεωρηθούν ως δόσεις αξιόλογες για την προμήθεια του οργανισμού. Το γαλακτικό οξύ χρησιμεύει ως θεραπευτικό ενάντια στις εντερικές σήψεις, ενώ σε πειραματόζωα έδειξε ότι μειώνει την τοξικότητα της αλκοόλης. Τέλος, οι φλαβόνες, που αποτελούν τις κίτρινες χρωστικές των φυτών, θεωρούνται ως αντικαρκινογόνες (Σουφλέρος, 2000).

Οι πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η κατανάλωση μιας μικρής ποσότητας κόκκινου κρασιού σε κανονική βάση μειώνει τον κίνδυνο στεφανιαίων καρδιακών παθήσεων και αρτηριοσκλήρωσης, και αυτό το όφελος αποδίδεται στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των πολυφαινολικών ενώσεων. Διάφορες μελέτες προτείνουν ότι μερικές φαινολικές ενώσεις, όταν λαμβάνονται σε υψηλές συγκεντρώσεις, μπορούν να παίξουν ορισμένους ρόλους στην καρκινογένεση, τη γενετοξικότητα, τη θυροειδή τοξικότητα και

μπορεί να συνδεθούν με την οιστρογόνο δραστηριότητα (Radovanovic et al., 2009; Hotzer et al., 2005).

Τα αποτελέσματα τεκμηριωμένων ερευνών έδειξαν ότι τα καρδιοπροστατευτικά οφέλη που προκύπτουν από τη χρήση του κόκκινου κρασιού οφείλονται στις πολυφαινόλες που περιέχει και ιδιαίτερα στη ρεσβερατρόλη (Σχήμα 3.), που υπάρχει στις φλούδες των κόκκινων σταφυλιών. Οι σύγχρονες έρευνες έχουν δείξει ότι η ρεσβερατρόλη μπορεί να συμβάλλει στην καλύτερη πρόγνωση νευρολογικών διαταραχών όπως η νόσος του Πάρκινσον, η νόσος του Χάντινκτον, η νόσος του Αλτσχάϊμερ, και το αγγειοεγκεφαλικό επεισόδιο (Pour Nikfardjam et al., 2006).

Για χρόνια τώρα έχει αποδειχθεί ότι ορισμένα επιδημιολογικά φαινόμενα, όπως για παράδειγμα το **Γαλλικό παράδοξο** οφείλονται στην μέτρια κατανάλωση κόκκινου κρασιού. Το Γαλλικό παράδοξο είναι το γεγονός ότι ενώ οι Γάλλοι καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες λιπαρής διατροφής, έχουν λιγότερα καρδιακά αγγειακά προβλήματα σε σύγκριση με άλλους λαούς. Οι άλλοι, ενώ καταναλώνουν ανάλογες ποσότητες λιπαρών, έχουν περισσότερα καρδιακά προβλήματα από τους Γάλλους διότι δεν πίνουν τόσο κρασί όσο αυτοί (Tselepis et al., 2005).

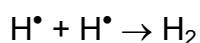


Σχήμα 3. Ρεσβερατρόλη (Pour Nikfardjam et al., 2006).

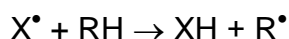
4. Ελεύθερες ρίζες

Ελεύθερες ρίζες καλούνται τα άτομα ή ομάδες ατόμων (ανόργανα ή οργανικά μόρια) που φέρουν ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο (Aruoma & Halliwell, 1991). Σε ορισμένες περιπτώσεις υπάρχουν και οι δίριζες όπου τα δυο ασύζευκτα ηλεκτρόνια βρίσκονται σε κάποια απόσταση μεταξύ τους αλλά στο ίδιο μόριο. Με την έννοια αυτή τα άτομα του χλωρίου (Cl), του νατρίου (Na), το μόριο του μονοξειδίου του αζώτου (NO[•]) και η μεθυλική ρίζα (CH₃[•]) είναι ελεύθερες ρίζες (Βαλαβανίδης, 2006).

Μια τυπική αντίδραση δυο ριζών υδρογόνου:



Οι ελεύθερες ρίζες αντιδρούν με χημικά μόρια αποσπώντας ένα τμήμα του, κυρίως άτομα υδρογόνου, ενώ ιδιαίτερη σημασία έχει η απόσπαση αυτή από οργανικές ενώσεις (RH) (Βαλαβανίδης, 2006):



Οι αντιδράσεις αυτές συνήθως δημιουργούν αλυσιδωτή αντίδραση που μπορεί σε βιολογικά συστήματα να προκαλέσουν τοξικές βλάβες ή θραύσεις σε βιομόρια. Ακόμα χειρότερα όμως, μπορεί να εξαπολύσει σε κλάσματα δευτερολέπτου, μια καταιγιστική αλυσιδωτή αντίδραση που μπορεί να παράγει δεκάδες, εκατοντάδες ακόμη και χιλιάδες άλλες ελεύθερες ρίζες (Aruoma & Halliwell, 1991).

Όσο σταθερότερη είναι μια ελεύθερη ρίζα τόσο πιο εύκολος είναι ο σχηματισμός της. Οι ελεύθερες ρίζες που είναι πολύ ασταθείς και δραστικές ενώσεις εξουδετερώνονται βασικά αντιδρώντας μεταξύ τους ή με άλλες ρίζες. Μια ρίζα θεωρείται σταθερή όταν η ημιζωή της είναι μεγαλύτερη του 10⁻³s. Η πλειοψηφία όμως των οργανικών ελεύθερων ριζών είναι εξαιρετικά ασταθείς και η διάρκεια ημιζωής τους είναι της τάξης του χιλιοστού του δευτερολέπτου και μικρότερη, ονομαζόμενες και βραχύβιες (Βαλαβανίδης, 2006).

Κάποιες από τις κυριότερες ελεύθερες ρίζες είναι:

- Ρίζα υδροξυλίου (HO[•])
- Ρίζα υπεροξειδικού ανιόντος (O₂^{•-})
- Ρίζα υδροϋπεροξυλίου (HOO[•])

- Ρίζα αλκοξυλίου (RO^{*})
- Ρίζα υπεροξυλίου (ROO^{*})
- Ρίζα μεθυλίου (^{*}CH₃) (Βαλαβανίδης, 2006)

4.1 Σχηματισμός ελεύθερων ριζών

Οι ελεύθερες ρίζες σχηματίζονται κατά τις κυτταρικές διεργασίες από ενδογενείς φυσιολογικούς μηχανισμούς ή κάτω από την επίδραση εξωτερικών επιδράσεων.

Ενδογενείς πηγές ελεύθερων ριζών:

- Μικροσωμική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων
- Μιτοχονδριακή αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων
- Χλωροπλαστική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων
- Οξειδωτικά ένζυμα
- Αντιδράσεις αυτό-οξειδωσης
- Φαγοκυτταρικά κύτταρα

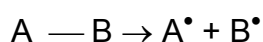
Εξωγενείς πηγές ελεύθερων ριζών:

- Περιβάλλον (ατμοσφαιρική μόλυνση, αιθαλομίχλη, ακτινοβολία (ηλιακή και ιοντίζουσα), εξατμίσεις αυτοκινήτων, κ.ά.)
- Καπνός του τσιγάρου
- Τοξικές ουσίες (διοξίνες, νιτρώδη άλατα, κ.ά.)
- Παρασιτικές ασθένειες (βακτήρια, ιοί, κ.ά.)
- Καρκινογόνες ουσίες (τετραχλωράνθρακας, αμίαντος, βενζόλιο, κ.ά.)
- Ουσίες που οξειδώνουν τη γλουταθειόλη
- Οξειδώσεις φαρμάκων (παρακεταμόλη)
- Ουσίες που παράγουν οξειδωαναγωγικές ανακυκλώσεις (παρακουάτ, αλλοζάνη, δοξορουβισίνη) (Webb, 2006)

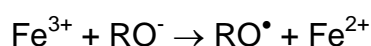
4.2 Μέθοδοι παραγωγής ελεύθερων ριζών

Οι βασικές μέθοδοι παραγωγής ελεύθερων ριζών στην οργανική χημεία είναι οι παρακάτω:

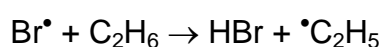
- Ομολυτικές διασπάσεις όπου το ζεύγος ηλεκτρονίου διαχωρίζεται ομολυτικά:



- Οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις με μεταφορά ηλεκτρονίου:



- Από την αντίδραση ριζών με άλλες οργανικές ενώσεις:



Η ομολυτική διάσπαση απαιτεί μικρότερη ενέργεια από την ετερολυτική διάσπαση και είναι πιο εύκολο να διασπασθεί ομολυτικά ένας δεσμός, τουλάχιστον στην αέρια φάση. Η ενέργεια για την ομολυτική διάσπαση ενός δεσμού μπορεί να γίνει με φωτόλυση ή με θερμόλυση (Βαλαβανίδης, 2006; Aruoma & Halliwell, 1991).

Τα σώματά μας συνεχώς παράγουν ελεύθερες ρίζες ως υποπροϊόντα των φυσιολογικών μεταβολικών λειτουργιών. Έτσι, οι ελεύθερες ρίζες είναι δυνατόν να αντιδράσουν με πολλά από τα συστατικά των κυττάρων όπως οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια και το DNA. Οι αντιδράσεις με τα συστατικά των κυττάρων μπορεί να προκαλέσουν αλλαγή στη φυσιολογική λειτουργία των μορίων και έτσι να ξεκινήσουν παθολογικές αλλοιώσεις (Webb, 2006).

Οι ενδογενείς πηγές παραγωγής ελευθέρων ριζών αντιμετωπίζονται με τους ενζυμικούς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς και τις μικρού μοριακού βάρους αντιοξειδωτικές ουσίες. Οι εξωγενείς πηγές, εφόσον υπερβούν τους αμυντικούς μηχανισμούς και την αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού, προκαλούν διάφορες βλάβες σε βιομόρια, οξειδωτικό στρες, ασθένειες και παθολογικές καταστάσεις (Βαλαβανίδης, 2006).

Μια μόνο ελεύθερη ρίζα μπορεί να καταστρέψει ένα ένζυμο, ένα μόριο πρωτεΐνης, μια αλυσίδα DNA ή ακόμα και ένα ολόκληρο κύτταρο. Υπάρχουν πολλά είδη ελεύθερων ριζών και όπως οι επιστήμονες τώρα γνωρίζουν παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στη διαδικασία του γήρατος όπως επίσης και

στον καρκίνο, στις καρδιακές παθήσεις, στα εγκεφαλικά, στην αρθρίτιδα, σε αλλεργίες και σε πλήθος από άλλες παθήσεις (Βαλαβανίδης, 2003).

Πίνακας 2. Νοσήματα που σχετίζονται με την παρουσία ελευθέρων ριζών (Jaleel,2008)

Αλκοολική ή μη κίρρωση ήπατος	Ελονοσία
Αρτηριοσκλήρυνση	Σκλήρυνση κατά πλάκας
Έμφραγμα του μυοκαρδίου	Λιποφουσκίνωση νευρώνων (v.Batten)
Αγγειοπάθειες	Νόσος Parkinson
Αρθρίτιδα	Νόσος Alzheimer
Καταρράκτης	Γεροντική άνοια
Αμφιβληστροειδοπάθεια	Πρόωρη γήρανση
Διαβήτης	Πορφυρία
Πνευμονικό εμφύσημα	Παρενέργεια φαρμάκων
Καρκίνος	Ελκώδης κολίτιδα
Παγκρεατίτιδα	Δερματικές παθήσεις

5. Αντιοξειδωτικά

Η οξείδωση των λιπιδίων αποδίδει προϊόντα αποικοδόμησης που υποβαθμίζουν σημαντικά το άρωμα των τροφίμων. Η οξείδωση του λίπους μπορεί να αποτραπεί με απομάκρυνση του οξυγόνου ή με χρήση αντιοξειδωτικών.

Τα αντιοξειδωτικά είναι κυρίως φαινολικές ενώσεις οι οποίες δίνουν καλύτερα αποτελέσματα σε μορφή μιγμάτων και σε συνδυασμό με παράγοντες συμπλοκοποίησης (Belitz et al., 2006). Ο ρόλος τους είναι να αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες με αποτέλεσμα την προστασία του οργανισμού από την καταστροφή των κυττάρων (Βαλαβανίδης, 2006). Πιστεύεται πως κάποιες χρόνιες παθήσεις όπως ο καρκίνος, ο καταρράκτης και η αρτηριοσκλήρυνση μπορεί να είναι αποτέλεσμα της οξειδωτικής δράσης των κυττάρων (Webb, 2006; Faustino et al, 2004; Vaquero et al., 2007).

Πολλές βιταμίνες και ιχνοστοιχεία έχουν κατοχυρώσει το ρόλο τους ως αντιοξειδωτικές ουσίες ή απαραίτητους παράγοντες για τη σωστή λειτουργία του αντιοξειδωτικού συστήματος (Webb, 2006; Rufino et al., 2009).

Οι κυριότερες αντιοξειδωτικές ουσίες απαντούν είτε σε φρούτα και λαχανικά ως βιταμίνες (Βαλαβανίδης, 2003), είτε σε φυτά ως χημικές ουσίες, είτε στον οργανισμό ως συστατικά στο πλάσμα του αίματος. Η χρησιμοποίηση αντιοξειδωτικών σε τρόφιμα ρυθμίζεται αυστηρά στις περισσότερες χώρες με την επιβολή ειδικών περιορισμών ως προς το είδος και την ποσότητα των αντιοξειδωτικών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Για παρεμπόδιση της ανάπτυξης της τάγγισης χρησιμοποιούνται οργανικά αντιοξειδωτικά, συνήθως τοκοφερόλη (Μπριτάνικα, 1997).

5.1 Αντιοξειδωτικές ουσίες που περιέχονται στα τρόφιμα

- Βιταμίνη C: Σε υδατοδιαλυτή μορφή η βιταμίνη C έχει εξαιρετικές αντιοξειδωτικές ικανότητες. Σε φυσιολογικό pH στον άνθρωπο βρίσκεται υπό τη μορφή ασκορβικού ανιόντος. Αντιδρά με ελεύθερες ρίζες και μετατρέπεται σε ημιδεϋδρο-ασκορβική ρίζα που δεν είναι δραστική, ενώ με μεταβολικές διεργασίες ανακυκλώνεται ξανά σε

ασκορβικό μονοανιόν. Οι αντιοξειδωτικοί ρόλοι του ασκορβικού οξέος είναι πολλαπλοί: α) απομακρύνει υδατοδιαλυτές υπεροξυλο- (RO_2^\bullet) ρίζες, β) μπορεί να εξουδετερώσει τις ρίζες O_2^\bullet και HO_2^\bullet , γ) αναγεννά την α-τοκοφερόλη από τις τοκοφερυλο- ρίζες της, τόσο σε βιολογικές μεμβράνες όσο και σε λιποπρωτεΐνες, κ.ά. (Βαλαβανίδης, 2006). Πιο συγκεκριμένα για τους οίνους, το ασκορβικό οξύ χρησιμοποιείται για τον προστατευτικό του ρόλο που προσφέρει κατά της οξειδωσης, λόγω της μεγάλης ταχύτητας με την οποία οξειδώνεται. Με την αντιοξειδωτική αυτή προστασία, το ασκορβικό οξύ εμποδίζει την οξείδωση του δισθενή σιδήρου σε τρισθενή, εμποδίζοντας έτσι το σχηματισμό θολωμάτων σιδήρου. Επιπλέον, προστατεύει από την οξείδωση τα αρωματικά στοιχεία του οίνου, με αποτέλεσμα να διατηρείται η φρεσκάδα και το άρωμα του σταφυλιού (Σουφλέρος, 2000). Η βιταμίνη C υπάρχει στο πλάσμα του αίματος, στα υγρά επικάλυψης των πνευμόνων και στο γαστρικό υγρό (Βαλαβανίδης, 2003; Webb, 2006). Στα φρούτα είναι ιδιαίτερα άφθονη στα πορτοκάλια, στα λεμόνια, στις φράουλες, στο μαιντανό (Belitz et al., 2006).

- Βιταμίνη E: Οι όροι βιταμίνη E και α - τοκοφερόλη συχνά χρησιμοποιούνται ως συνώνυμες πράγμα που δεν είναι ιδιαίτερα σωστό (Webb, 2006). Η α - τοκοφερόλη έχει τη μεγαλύτερη βιολογική δραστηριότητα (Belitz et al., 2006). Είναι γνωστή για την ισχυρή αντιοξειδωτική της δράση και τον περιορισμό της λιπιδικής υπεροξειδωσης (Βαλαβανίδης, 2003). Η έλλειψή της μπορεί να προκαλέσει λιπιδική υπεροξειδωση και οξειδωτικό στρες σε διάφορα όργανα. Η αντιοξειδωτική της δράση εντοπίζεται κυρίως στην παρεμπόδιση αλυσιδωτών αντιδράσεων ελεύθερων ριζών, δέσμευση υπεροξυλο- ριζών και αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης (Βαλαβανίδης, 2006). Σύμφωνα με μελέτες, η βιταμίνη E μειώνει δραστικά τις χρωμοσωμικές βλάβες που προκαλούνται από οξυγονούχες ελεύθερες ρίζες. Αντιδρά επίσης μέσω πολύπλοκων μηχανισμών ανακύκλωσης με άλλες βιταμίνες, ιδιαίτερα τη βιταμίνη C. Υπάρχουν διάφορες θεωρητικές και πειραματικές επεξηγήσεις για τους

ρόλους των δυο βιταμινών, ιδιαίτερα για τη βιταμίνη C που χρησιμοποιείται στην προστασία και αναγωγή της E και της πρόληψης κακοηθών νεοπλασιών (Βαλαβανίδης, 2003). Οι κύριες πηγές του είναι τα φυτικά έλαια, ιδίως το έλαιο του φύτρου των δημητριακών (Belitz et al., 2006).

- Βιταμίνη B₁₂: Η βιταμίνη B₁₂ παίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό του DNA των κυττάρων (Βαλαβανίδης, 2003). Το συκώτι, το νεφρό και η σπλήνα είναι πλούσιες πηγές της βιταμίνης B₁₂. Παρουσία αναγωγικών παραγόντων, όπως το ασκορβικό οξύ, η βιταμίνη καταστρέφεται σε μεγάλο βαθμό (Belitz et al., 2006).
- Βιταμίνη A: Απαντάται μόνο στους ζωικούς ιστούς και κυρίως στο λάδι από ήπαρ ψαριού, στο ήπαρ των θηλαστικών και στον κρόκο των αυγών. Τα φυτά στερούνται βιταμίνης A. Παρουσία οξυγόνου η οξειδωτική διάσπαση οδηγεί σε μια σειρά προϊόντων, μερικά από τα οποία είναι πτητικά. Αυτή η οξείδωση γίνεται παράλληλα με την οξείδωση των λιπιδίων (συν-οξειδωτική διαδικασία) (Belitz et al., 2006).
- Καροτενοειδή: Συντίθενται μόνο από τα φυτά. Προσδίδουν ένα έντονο κίτρινο, πορτοκαλί ή κόκκινο χρώμα σε μεγάλο αριθμό τροφίμων φυτικής προέλευσης (Belitz et al., 2006; Liang et al., 2009). Έχουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και ορισμένα είναι πρόδρομες ενώσεις για τη βιταμίνη A (Βαλαβανίδης, 2003). Το β – καροτένιο μπορεί να μετατραπεί από τον ανθρώπινο οργανισμό σε ρετινόλη και έτσι να υπάρξει δραστηριότητα της βιταμίνης A (Webb, 2006). Διακρίνονται σε δυο μεγάλες υποομάδες: στα καροτένια που είναι υδρογονάνθρακες και στις ξανθοφύλλες (Μπριτάνικα, 1997).
- Σελήνιο: Από τα πιο σημαντικά ιχνοστοιχεία στον άνθρωπο. Προστατεύει τη γονιδιακή δομή του DNA από οξειδωτικές βλάβες (Βαλαβανίδης, 2003). Είναι αντιοξειδωτικό και μπορεί να ενισχύσει τη δραστηριότητα της τοκοφερόλης. Καταλύει την ακόλουθη αντίδραση προστατεύοντας έτσι τις μεμβράνες από οξειδωτική καταστροφή:



5.2 Αντιοξειδωτικές χημικές ουσίες που περιέχονται στα φυτά

- Φαινόλες: Τα φαινολικά οξέα και η λιγνίνη διασπώνται θερμικά σε φαινόλες οι οποίες μετά ανιχνεύονται στα τρόφιμα. Οι περισσότερες φαινόλες απαντώνται στα τρόφιμα ενώ κάποιες από αυτές συμβάλλουν στο χρώμα και στη γεύση. Μπορούν να σχηματίσουν σύμπλοκα με μέταλλα κατά την επεξεργασία των φρούτων, προκαλώντας έτσι τον αποχρωματισμό του πολτού του φρούτου (Belitz et al., 2006).
- Φλαβονοειδή: Ως αντιοξειδωτικά δρουν με δυο μηχανισμούς. Ανακόπτοντας τις αλυσιδωτές αντιδράσεις της οξειδωσης και σχηματίζοντας σύμπλοκα με μεταλλικά ιόντα, όπως τα ιόντα σιδήρου και χαλκού, που εμφανίζουν προ-οξειδωτική δράση. Μπορούμε να τα βρούμε σε κόκκινο κρασί, πράσινο τσάι, σταφύλια, ελαιόλαδο, κ.ά. (Webb, 2006; Aron, 2007).
- Ινδόλες: Οι ινδόλες περιέχονται στα ίδια λαχανικά που περιέχεται και η βιταμίνη C. Η σημαντικότερη από τις ινδόλες είναι η ινδόλη-3-καρβινόλη, που περιέχεται στα σταυρανθή λαχανικά και κυρίως στο μπρόκολο, το κουνουπίδι και το λάχανο.

5.3 Αντιοξειδωτικές ουσίες που περιέχονται στο πλάσμα του αίματος

- Αλβουμίνες
- Χολερυθρίνη
- Γλυκόζη
- Ουρικό οξύ
- Ερυθροκύτταρα
- Τρανσφερρίνη
- α - λιποϊκό οξύ
- Λακτοφερρίνη
- Μελανίνες

6. Οξείδωση λιπαρών οξέων

Α – οξείδωση είναι η ειδική μεταβολική οδός οξείδωσης των λιπαρών οξέων. Η α – οξείδωση δεν οδηγεί σε πλήρη οξείδωση μακρομοριακών λιπαρών οξέων γιατί η υπεροξειδάση των λιπαρών οξέων δρα μόνο σε οξέα που έχουν από 13 έως 18 άτομα άνθρακα. Παρατηρείται επίσης στα μικροσώματα του εγκεφάλου και άλλους ζωικούς ιστούς (Μπριτάνικα, 1997).

Τα λιπαρά οξέα είναι πρόδρομοι διάφορων μορφών λιπιδίων. Τα απαραίτητα λιπαρά οξέα δεν συντίθενται από τον ανθρώπινο οργανισμό ή συντίθενται ανεπαρκώς. Τα κυριότερα λιπαρά οξέα είναι το λινολεϊκό, το λινολενικό και το αραχιδονικό. Από τα παραπάνω σε ορισμένες ποσότητες ο οργανισμός μπορεί να συνθέσει το λινολενικό και το αραχιδονικό. Το λινολεϊκό οξύ δεν συντίθεται καθόλου στον ανθρώπινο οργανισμό και είναι απαραίτητο να λαμβάνεται μέσω της τροφής σε ημερήσια βάση (Jumpsen & Clandinin, 1995; Sparks, 2008).

Η οξείδωση προκαλεί μείωση ή απώλεια των απαραίτητων λιπαρών οξέων (π.χ. λινολεϊκό, λινολενικό), απώλεια λιποδιαλυτών βιταμινών και γενικότερα μείωση της θρεπτικής αξίας των λιπαρών ουσιών (Baydar et al., 2007).

Τα απαραίτητα λιπαρά οξέα θεωρούνται πρόδρομες ουσίες των προσταγλαντιδών που συμμετέχουν στις λειτουργίες όλων των ιστών και οργάνων του οργανισμού. Αυξάνουν την αμυντική δράση του οργανισμού στις λοιμώξεις. Συνδέονται με την χοληστερίνη και βοηθούν στην αποβολή της από τον οργανισμό. Αυξάνουν την ελαστικότητα των αιμοφόρων αγγείων και εμποδίζουν την ανάπτυξη θρόμβων. Θεωρούνται απαραίτητα στοιχεία για τη φυσιολογική λειτουργία των κυτταρικών μεμβρανών (Kimura et al., 2002; Chegary et al., 2008; Sparks, 2008).

Παράλληλα με τις θετικές τους ιδιότητες, τα απαραίτητα λιπαρά οξέα οξειδώνονται πολύ εύκολα στον οργανισμό δημιουργώντας υπεροξειδικές ενώσεις, που «κατηγορούνται» για μια σειρά προβλημάτων υγείας (Kimura et al., 2002).

Η οξείδωση των λιπαρών υλών οφείλεται στη δράση πολλών παραγόντων, κυριότεροι από τους οποίους είναι: το οξυγόνο, η θερμοκρασία, το φως, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, οι χρωστικές και τα μέταλλα. Πιο

συγκεκριμένα, η οξειδωτική τάγγιση των λιπαρών υλών επιταχύνεται και από την παρουσία ελεύθερων λιπαρών οξέων ακόμη και σε συγκέντρωση 0.5%. Τα λιπαρά οξέα, σε ελεύθερη μορφή, υποβοηθούν την οξείδωση δια μέσου ενός καταλυτικού μηχανισμού, όπου η καρβοξυλική ομάδα των ελεύθερων λιπαρών οξέων καταλύει το σχηματισμό ελεύθερων ριζών υποβοηθώντας στη διάσπαση των υπεροξειδίων (<http://attica.hua.gr:8080/dspace/bitstream/123456789/237/1/Ptychiaki21.pdf>).

6.1 Συσχέτιση κρασιού – αναστολής οξείδωσης

Υπάρχουν σημαντικά αποτελέσματα από επιδημιολογικές έρευνες που δείχνουν ότι η θνησιμότητα αλλά και η νοσηρότητα από ασθένειες όπως η στεφανιαία νόσος και η αρτηριοσκλήρωση μειώθηκαν με την κατανάλωση κόκκινου κρασιού. Αυτό ενδεχομένως σχετίζεται με την υψηλή περιεκτικότητα του κρασιού σε πολυφαινόλες. Δεδομένου ότι η στεφανιαία νόσος και η αθηροσκλήρωση έχουν μεγάλη σχέση με τη ζημία των ελεύθερων ριζών, πολλές μελέτες έχουν αποδώσει τα προστατευτικά μέτρα του κόκκινου κρασιού στην παρουσία των αντιοξειδωτικών φαινολικών συστατικών, τα φλαβονοειδή. Για παράδειγμα η (+) - κατεχίνη είναι ένα από τα σημαντικότερα πολυφαινολικά φλαβονοειδή που υπάρχουν στο κόκκινο κρασί, η οποία έχει αποδειχθεί ότι έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες σε διάφορα βιολογικά συστήματα. (Lolito & Fraga, 1999). Αν και υπάρχει ένας συσχετισμός μεταξύ της αντιοξειδωτικής ικανότητας και της συνολικής περιεκτικότητας σε φαινόλες των κρασιών, λόγω της μεταβλητής αντιδραστικότητας των διαφορετικών φαινολικών ομάδων, η ανάλυση του φαινολικού περιεχομένου παρέχει μόνο μια ένδειξη της πραγματικής αντιοξειδωτικής ικανότητας. Η αντιοξειδωτική αυτή ικανότητα δεν είναι πάντα σταθερή διότι εξαρτάται σε πολύ μεγάλο βαθμό από παράγοντες με σημαντικότερους: την ποικιλία, την περιοχή της καλλιέργειας, τον εδαφολογικό τύπο, το κλίμα, τις καιρικές συνθήκες, την τεχνολογία οινοποίησης, την παλαίωση κ.ά. (Tubaro et al., 1999)

Ποικίλες μέθοδοι έχουν χρησιμοποιηθεί για να ποσοτικοποιήσουν την αντιοξειδωτική δραστηριότητα με πιο διαδεδομένη τη μέθοδο αποχρωματισμού της κροκίνης. Σε πειράματα που έγιναν για τον υπολογισμό της αντιοξειδωτικής

ικανότητας λευκών και κόκκινων κρασιών, βασισμένα στη μέθοδο αυτή, τα λευκά έδωσαν τιμές από 0,08mM έως 1,2mM ενώ τα κόκκινα από 6,4mM έως 41,9mM Trolox (ισχυρό αντιοξειδωτικό). Αυτό οφείλεται στο ότι το κόκκινο κρασί περιέχει μεγαλύτερη ποσότητα φαινολικών ενώσεων και συγκεκριμένα ανθοκυανίνες στις οποίες οφείλεται και το χρώμα του (Tubaro et al.,1999).

Το 2008 ο Rivero-Pérez MD, και οι συνεργάτες τους αξιολόγησαν την συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα, την ικανότητα καθαρισμού των υδροξυλίων και υπεροξειδίων από τον οργανισμό και την υπεροξειδωση των λιπιδίων 80 ισπανικών κόκκινων κρασιών, καθώς και την περιεκτικότητά τους σε ανθοκυανίνες με διάφορες αναγνωρισμένες μεθόδους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το κλάσμα των ελεύθερων ανθοκυανινών είναι το κύριο υπεύθυνο για τη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα των κόκκινων κρασιών καθώς και για την προστατευτική δράση τους επί της υπεροξειδωσης των λιπιδίων. Οι γλυκοζυλιωμένες και μεθοξυλικές ανθοκυανίνες, όπως το μαλβιδίνη-3-γλυκοσίδιο φαίνεται να είναι ο τύπος ανθοκυανινών με τη μεγαλύτερη συμμετοχή στο αντιοξειδωτικό αποτέλεσμα του κόκκινου κρασιού (Rivero-Perez et al.,2008).

Πίνακας 3. Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων σε ερυθρό οίνο (Belitz, 2006)

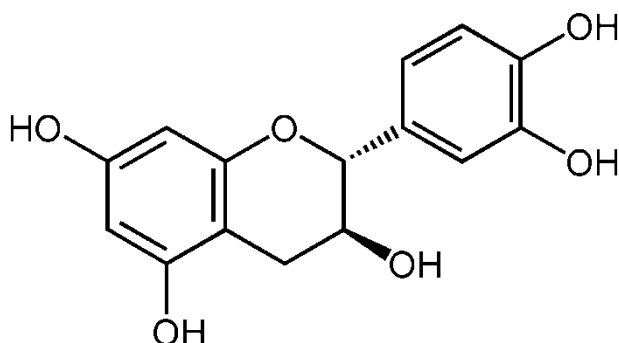
Ένωση	Συγκέντρωση σε mg/l
Γεντισικό οξύ	0,44 – 0,46
Βανιλλικό οξύ	2,3 – 3,7
Φερουλικό οξύ	0,05 – 2,9
p- κουμαρικό οξύ	2,6 – 4,5
Καφεϊκό οξύ	3,15 – 13
Γαλλικό οξύ	13 – 30
Cis-Ρεσβερατρόλη	0,27 – 0,88
Trans- Ρεσβερατρόλη	0,71 – 2,5
Cis- Πολυδατίνη	0,02 – 0,68
Trans- Πολυδατίνη	0,02 – 0,98
(+)- Κατεχίνη	60 – 213
(-)- Επικατεχίνη	25 – 82
Κουερσετίνη	0,5 – 2,6

Πίνακας 4. Σχετική δραστικότητα αντιοξειδωτικών (RAA) των φλαβονοειδών (Belitz, 2006)

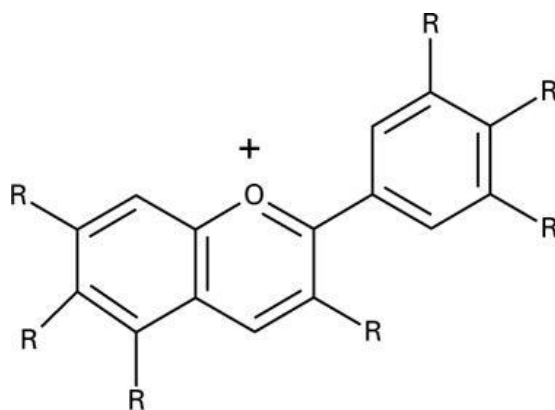
Ένωση	RAA*100
Κουερσετίνη	90
Κατεχίνη	22
Φερουλικό οξύ	<0,1
Καφεϊκό οξύ	<0,1
α-Τοκοφερόλη	100

*RAA με αναφορά στη δραστικότητα της α- τοκοφερόλης

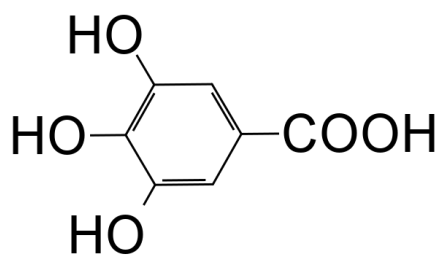
Τα αντιοξειδωτικά του κρασιού θα μπορούσαν να παίξουν ένα προστατευτικό ρόλο , ανεξάρτητα από τη βιολογική διαθεσιμότητα, στη μείωση των περιεχομένων στα τρόφιμα υπεροξειδίων, μειώνοντας κατά συνέπεια το ποσό που καταναλώνεται. Πράγματι έχει παρατηρηθεί ότι τα υπεροξειδία λιπιδίων είναι ανιχνεύσιμα στο πλάσμα μετά από ένα παχύ γεύμα και ότι η συγκέντρωση είναι χαμηλότερη εάν το γεύμα καταναλώνεται με το κόκκινο κρασί. (Tubaro et al.,1999).



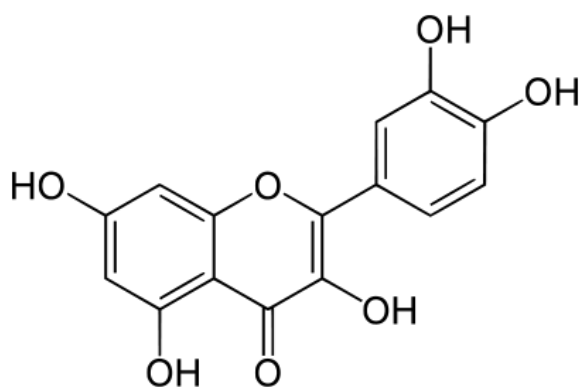
Σχήμα 4. Χημική δομή κατεχίνης (en.wikipedia.org)



Σχήμα 5. Χημική δομή ανθοκυανίνης (en.wikipedia.org)



Σχήμα 6. Χημική δομή γαλλικού οξέος (en.wikipedia.org)



Σχήμα 7. Χημική δομή κουερσετίνης (en.wikipedia.org)

7. Αιμόσταση

Ο όρος αιμόσταση σημαίνει πρόληψη της απώλειας αίματος (Guyton, 2001). Η αιμόσταση έχει ως σκοπό α) την αποτροπή της απώλειας του αίματος και β) την αποκατάσταση των ιστών που υπέστησαν βλάβη. Τα κύρια στάδια της αιμόστασης είναι τέσσερα:

- Η αγγειακή φάση
- Ο σχηματισμός θρόμβου
- Η πήξη του αίματος
- Η ανάπτυξη ινώδους ιστού στο θρόμβο

Η αγγειακή φάση και ο σχηματισμός θρόμβου αρχίζουν λίγα δευτερόλεπτα μετά τον τραυματισμό του αγγείου (~15sec), ενώ η φάση της πήξης του αίματος αρχίζει 30 δευτερόλεπτα μετά τον τραυματισμό (Τσιφτσόγλου, 2001).

7.1 Η αγγειακή φάση

Αμέσως μετά τον τραυματισμό ενός αγγείου προκαλείται σύσπαση των τοιχωμάτων του με αποτέλεσμα την μείωση ή διακοπή της αιμορραγίας από το άνοιγμα (Guyton, 2001).

7.2 Ο σχηματισμός θρόμβου

Μέσα σε λίγα λεπτά από τον τραυματισμό του αγγείου ολόκληρο το κομμένο ή θρυμματισμένο άκρο γεμίζει από πήγμα αίματος. Μετά από περίπου μια ώρα ο θρόμβος συστέλλεται και κλείνει ακόμα περισσότερο το αγγείο. Στη συστολή του αγγείου σημαντικό ρόλο παίζουν τα αιμοπετάλια (Guyton, 2001).

Τα αιμοπετάλια συσσωματώνονται, αλλάζουν σχήμα (γίνονται σφαιρικά), ενώνονται με τα γειτονικά αιμοπετάλια και τέλος αρχίζουν να συνθέτουν και να απελευθερώνουν πλήθος παραγόντων.

Ο σχηματισμός θρόμβου είναι αποτέλεσμα ενός θετικού ανατροφοδοτικού μηχανισμού (positive feedback). Αν αυτός ο μηχανισμός έμενε χωρίς έλεγχο θα προκαλούσε υπέρμετρη αύξηση του θρόμβου. Όμως υπάρχουν παράγοντες οι οποίοι ελέγχουν και περιορίζουν το μέγεθος του θρόμβου. Οι σημαντικότεροι από αυτούς τους (ανασταλτικούς) παράγοντες είναι:

- Η προστακυκλίνη. Εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και αναστέλλει τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων
- Διάφοροι αναστολείς. Απελευθερώνονται τοπικά από τα λευκά αιμοσφαίρια
- Ένζυμα του πλάσματος του αίματος. Διασπούν το επιπλέον ADP (Adenosine diphosphate) (Guyton, 2001)

7.3 Η πήξη του αίματος

Η πήξη του αίματος είναι μια σειρά διαδοχικών βημάτων που τελικά οδηγούν στη μετατροπή της διαλυτής πρωτεΐνης ινωδογόνο στην αδιάλυτη πρωτεΐνη ινώδες. Το ινώδες σχηματίζει ένα δίκτυο στο οποίο αιμοπετάλια και ερυθρά αιμοσφαίρια «αιχμαλωτίζονται» και σχηματίζουν το θρόμβο του αίματος. Πολλοί παράγοντες εμπλέκονται στην πήξη του αίματος. Οι περισσότεροι από αυτούς στην ανενεργή τους μορφή είναι προένζυμα. Προένζυμα και ένζυμα αντιδρούν διαδοχικά σε αλυσιδωτές αντιδράσεις (Τσιφτσόγλου, 2001).

Η πήξη του αίματος πραγματοποιείται σε τρεις βασικούς μηχανισμούς (μονοπάτια): α) αμέσως μετά τη ρήξη του αγγείου σχηματίζεται ένα σύμπλεγμα ουσιών το οποίο ονομάζεται παράγοντας ενεργοποίησης της προθρομβίνης (θρομβοκινάση), β) ο παράγοντας ενεργοποίησης της προθρομβίνης καταλύει την παραγωγή της προθρομβίνης σε θρομβίνη και γ) η θρομβίνη δρα ως ένζυμο για τη μετατροπή του ινωδογόνου σε νημάτια ινώδους που σχηματίζουν δίκτυο συγκολλώντας αιμοπετάλια, κύτταρα του αίματος και πλάσμα (Guyton, 2001).

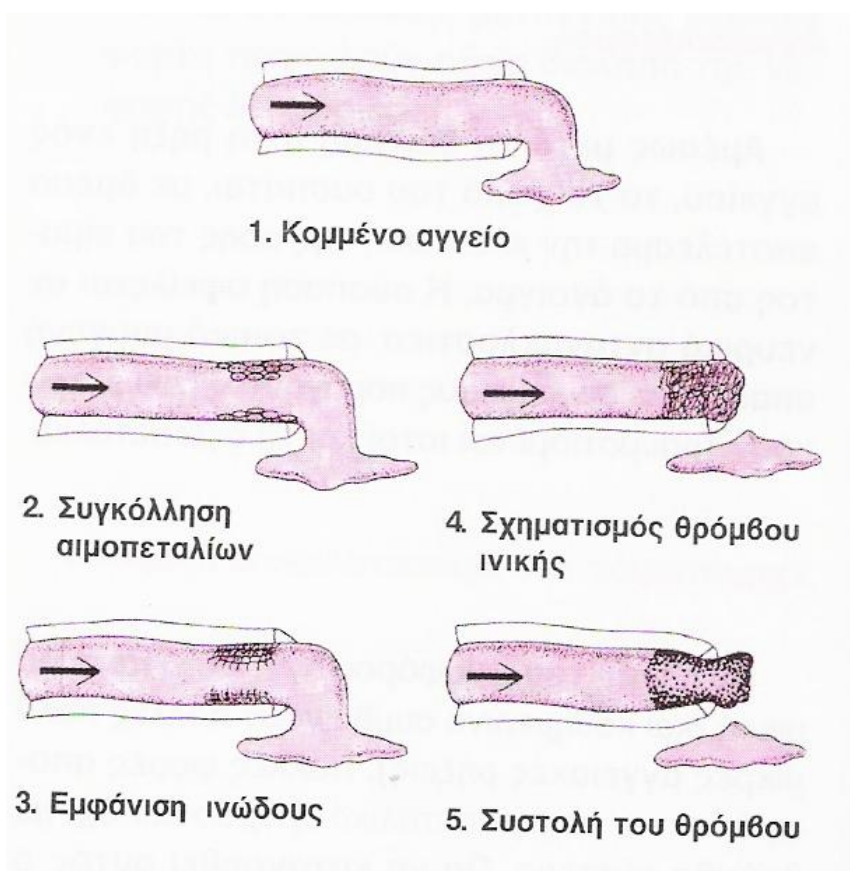
Όλοι οι μηχανισμοί (μονοπάτια) της πήξης του αίματος απαιτούν την παρουσία Ca^{2+} . Οτιδήποτε προκαλεί μείωση των Ca^{2+} του πλάσματος του

αίματος διαταράσσει την αιμόσταση. Η βιταμίνη Κ είναι απαραίτητος παράγοντας για τη σύνθεση από το ήπαρ τεσσάρων παραγόντων της πήξης του αίματος. Υποβιταμίνωση ή αβιταμίνωση Κ μπορεί να προκαλέσει ίσως και ολική αδρανοποίηση της αιμόστασης (Τσιφτσόγλου, 2001).

7.4 Ανάπτυξη ινώδους ιστού στο θρόμβο

Μέσα σε λίγα λεπτά από τον τραυματισμό του αγγείου πολλά μονομερή μόρια ινώδους πολυμερίζονται και σχηματίζουν μεγάλου μήκους νημάτια ινώδους που απαρτίζουν το δίκτυο του θρόμβου. Αυτά επεκτείνονται προς όλες τις κατευθύνσεις και περιλαμβάνουν, ανάμεσά τους, ερυθροκύτταρα, αιμοπετάλια και πλάσμα αίματος (Guyton, 2001).

Στον οργανισμό υπάρχει μια δυναμική ισορροπία μεταξύ του σχηματισμού και της αποδόμησης του ινώδους. Κάθε διαταραχή αυτής της ισορροπίας προκαλεί αιμορραγική διάθεση ή υπερβολική εναπόθεση ινώδους (Τσιφτσόγλου, 2001).



Σχήμα 8. Διαδικασία σχηματισμού θρόμβου στο τραυματισμένο αγγείο (Guyton, 2001).

Ο μηχανισμός της πήξης περιλαμβάνει μια σειρά αλληλοδιάδοχων πρωτεολυτικών αντιδράσεων που οδηγούν στην τελική αντίδραση της μετατροπής της προθρομβίνης σε θρομβίνη. **Η θρομβίνη**, μια πρωτεάση της σερίνης, είναι η κύρια πρωτεάση που επιδρά στην διαδικασία της πήξεως, δηλαδή μια σειρά από ενζυμικές μετατροπές που παρέχουν το ερέθισμα για την έναρξη της πήξης. Η θρομβίνη μετατρέπει το ινωδογόνο της κυκλοφορίας σε ινώδη μονομερή, τα οποία πολυμερίζονται σε ινώδες και σχηματίζεται ο θρόμβος. (Licari & Kovacic, 2009).

7.5 Συσχέτιση κρασιού – θρόμβωσης

Οικολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι στις περισσότερες χώρες η μεγάλη κατανάλωση κορεσμένων λιπαρών σχετίζεται με την υψηλή θνησιμότητα από καρδιακές παθήσεις. Ωστόσο, η κατάσταση σε ορισμένες χώρες, όπως η Γαλλία, είναι παράδοξη, γιατί παρά την υψηλή πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών, η θνησιμότητα από καρδιακές παθήσεις είναι σχετικά χαμηλή. Αυτό το παράδοξο οφείλεται στην υψηλή κατανάλωση κόκκινου κρασιού στη Γαλλία και γεννά την υπόθεση ότι το κόκκινο κρασί έχει συγκεκριμένη προστατευτική δράση. Η προστατευτική αυτή δράση οφείλεται στην υψηλή περιεκτικότητα του κρασιού σε πολυφαινόλες. Διαφορετικές πολυφαινόλες μπορούν να επηρεάσουν και να προσαρμόσουν την λειτουργία των κυττάρων που συμμετέχουν στη διαδικασία της θρόμβωσης.

Σε πειράματα που έγιναν σε αρουραίους η επίδραση που είχε το κόκκινο κρασί στην αρτηριακή θρόμβωση ήταν εμφανής. Τα ζώα που ακολούθησαν διατροφή πλήρη σε λιπαρά χωρίς την πρόσληψη κρασιού, εμφάνισαν θρόμβους σε αντίθεση με αυτά που ακολούθησαν το ίδιο ακριβώς διατροφολόγιο με τη διαφορά ότι κατανάλωσαν και κόκκινο κρασί. Τα ζώα αυτά, δεν παρουσίασαν θρομβωτική τάση και τα αποτελέσματά τους ήταν όμοια με αυτά άλλων αρουραίων που είχαν υποβληθεί σε διαιτητικό πρόγραμμα διατροφής. Επομένως υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις για την αντιθρομβωτική ικανότητα του κόκκινου κρασιού. Εκτός αυτού, το κρασί φαίνεται να επηρεάζει τη θρόμβωση ακόμα και μετά από διατροφή πλήρη σε

λιπαρά, η κατανάλωση κρασιού μπορεί να προλάβει την δημιουργία θρόμβων ή να μειώσει την τυχόν ύπαρξή τους (De Curtis et al., 2005).

8. Πειραματικό Μέρος

8.1 Σκοπός

Σκοπός της μελέτης είναι να προσδιοριστεί η *in vitro* ικανότητα των διαφόρων δειγμάτων κόκκινων μονοποικιλιακών κρασιών στην αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης και στην αναστολή σχηματισμού θρόμβου σύμφωνα με τη βιβλιογραφική αναφορά (6.1 και 7.5).

Χρησιμοποιήθηκαν 10 δείγματα από τα οποία 10 ήταν από Αγιωργίτικο κρασί και 9 από Ξινόμαυρο.

Στο πείραμα της λιπιδικής υπεροξειδωσης προσδιορίστηκε η δράση των κόκκινων κρασιών φασματοφωτομετρικά ενώ η αντιθρομβωτική δράση με τη χρήση πλάσματος από επίμυες.

8.1.1 Δείγματα κρασιών

Χρησιμοποιήθηκαν 19 δείγματα κόκκινων μονοποικιλιακών κρασιών. Δέκα δείγματα Αγιωργίτικου και 9 δείγματα Ξινόμαυρου κρασιού. Όλα τα κρασιά που χρησιμοποιήθηκαν για την πειραματική διαδικασία ήταν εμπορικά διαθέσιμα.

Για το πειραματικό μέρος χρησιμοποιήθηκαν τα εξής κρασιά:

- A1: Κτήμα Παπαϊωάννου Νεμέα 2005
- A2: Αγιωργίτικο Τσάνταλη 2006
- A3: Νεμέα Διόνυσος Αγιωργίτικο 2006
- A4: Νεμέα Αϊβαλή 2003
- A5: Νεμέα Red Dry Wine Αγιωργίτικο 2005
- A6: Οινάρι 2005
- A7: Επιλήνιος Νεμέα 2004
- A8: Αγιωργίτικο Ορεινός Ήλιος
- A9: Αγιωργίτικο Νεμέα (1)
- A10: Αγιωργίτικο Νεμέα (2)
- Ξ1: Αμύνταιο Ε.Α.Σ Αμυνταίου 2005
- Ξ2: Βοκαιρίτης Ναουμίδης Άγγελος 2007
- Ξ3: Κτήμα Φουντή Νάουσα 2004
- Ξ4: Νάουσα 2004
- Ξ5: Ξινόμαυρο Ευάγγελος Τσάνταλης 1998
- Ξ6: Ε.Α.Σ. Αμυνταίου
- Ξ7: Ξινόμαυρο Κτήμα Α 2008
- Ξ8: Ξινόμαυρο Κυρ Γιάννης 2008 (1)
- Ξ9: Ξινόμαυρο Κυρ Γιάννης 2008 (2)

Όπου Α: Αγιωργίτικο και Ξ: Ξινόμαυρο.

8.1.2 Συσκευές

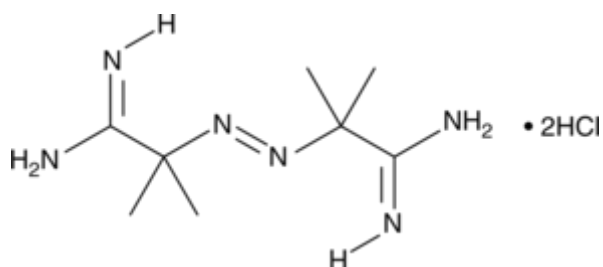
- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Ποτήρια ζέσεως
- Κυψελίδα χαλαζία
- Υδροβολείς
- Σπάτουλες
- Στατό
- Μικροπιπέτες
- Υδρόλουτρο
- Αναλυτικός ζυγός
- Φασματοφωτόμετρο για μέτρηση 234nm
- Φυγόκεντρος
- Φωτογραφική μηχανή 2,1 Megapixel

8.1.3 Αντιδραστήρια

- AAPH 2,2'-Azobis(2-amidinopropane)-dihydrochloride
- DMSO Διμέθυλο - σουλφοξειδίο
- Ρυθμιστικό διάλυμα TYRODE (137 mM NaCl, 20 mM Hepes, 5.6 mM glucose, 1 mM MgCl₂, 2.7 mM KCl, 3.3 mM NaH₂PO₄, pH 7.4)
- Κιτρικό νάτριο 3,8%
- Θρομβίνη NIH-E/mg από την εταιρία Merck KgaA, Germany.

8.2. Αναστολή της υπεροξειδωσής του λινελαϊκού οξέος

Στο συγκεκριμένο πείραμα μελετήθηκε η ικανότητα των ενώσεων να αναστέλλουν τη λιπιδική υπεροξειδωση του λινελαϊκού οξέος. Σε κυψελίδα χαλαζία, περιεκτικότητας 1ml, που περιείχε 930μL ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών αλάτων pH=7,4, προστέθηκαν 10μL διαλύματος λινελαϊκού οξέος (LLA), 50μL AAPH (διϋδροχλωρικό άλας του 2,2 – διαζο – 2 - αμιδινοπροπανίου) και 10μL H₂O (Πρότυπο διάλυμα – Standard).



Σχήμα 9. Χημική δομή AAPH

(<http://www.caymanchem.com/app/template/Product.vm/catalog/82235>)

Για την προετοιμασία των δειγμάτων εφαρμόστηκε η ίδια διαδικασία αντικαθιστώντας τα 10μL H₂O με 10μL του εκάστοτε δείγματος κρασιού.

Για την προετοιμασία του τυφλού δείγματος (Blank) προστέθηκαν τα ακόλουθα σε κυψελίδα χαλαζία 1ml: 980μL ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών αλάτων pH=7,4, 10μL διαλύματος λινελαϊκού οξέος (LLA) και 10μL H₂O.

Η ίδια διαδικασία εφαρμόστηκε και για την προετοιμασία των δειγμάτων.

Τα δείγματα και στις δυο περιπτώσεις αραιώθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (1:10 και χωρίς αραιώση) και μελετήθηκαν αντίστοιχα. Από την οξειδωση του λινελαϊκού οξέος παράχθηκε συζευγμένο υδροϋπεροξειδίο διενίων του οποίου η απορρόφηση μετρήθηκε στα 234nm.

Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ποσοστά εφαρμόζοντας τον παρακάτω τύπο:

$$\frac{(STANDARD - BLANK) - (A - B)}{STANDARD - BLANK} * 100$$

Όπου:

- Standard: ο μέσος όρος της απορρόφησης του πρότυπου διαλύματος
- Blank: ο μέσος όρος της απορρόφησης του τυφλού διαλύματος
- A: ο μέσος όρος της απορρόφησης των δειγμάτων με προσθήκη AAPH
- B: ο μέσος όρος της απορρόφησης των δειγμάτων χωρίς προσθήκη AAPH

8.3 Αναστολή σχηματισμού θρόμβου

Χρησιμοποιήθηκε δείγμα αίματος από αρουραίους, με καρδιακή παρακέντηση, έπειτα από ευθανασία με χλωροφόρμιο. Συλλέχθηκε σε πλαστικούς σωλήνες, προστέθηκε ως αντιπηκτικό κιτρικό νάτριο 3,8% (1 μέρος κιτρικού νατρίου : 9 μέρη αίματος).

Το αίμα φυγοκεντρήθηκε για 15 λεπτά στις 800 στροφές σε θερμοκρασία δωματίου με σκοπό την ανάκτηση του εμπλουτισμένου σε αιμοπετάλια πλάσματος (Platelet Rich Plasma).

Το υπερκείμενο διαλύθηκε σε ρυθμιστικό διάλυμα TYRODE (137 mM NaCl, 20 mM HEPES, 5.6 mM glucose, 1 mM MgCl₂, 2.7 mM KCl, 3.3 mM NaH₂PO₄, pH 7.4) σε αναλογία 50:50 για την επίτευξη τελικής συγκέντρωσης 200.000 αιμοπετάλια μL⁻¹ σύμφωνα με τη μέθοδο Davidson και Henry.

Εν συντομία, 445μL του παραπάνω διαλύματος προστέθηκε σε γυάλινους σωλήνες και επωάστηκε για 10 λεπτά στους 37°C με 5 μL διαλύτη (DMSO, 0,5% τελικής συγκέντρωσης). Έπειτα, προστέθηκε το δείγμα και αφήθηκε σε υδατόλουτρο για 5 λεπτά στους 37°C για ωρίμανση. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 50μL θρομβίνης σε κάθε σωλήνα και οδηγήθηκε ξανά για ωρίμανση στο υδατόλουτρο για 60 λεπτά.

Στο τέλος της ωρίμανσης τα δείγματα φωτογραφήθηκαν με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή 2,1 megapixel σε σκούρο φόντο. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση του προγράμματος NIH Image 1.67e υπολογίζοντας την έκταση του σχηματιζόμενου θρόμβου στο σωλήνα. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ποσοστά τα οποία υπολογίστηκαν σύμφωνα με τον παρακάτω τύπο.

$$\frac{(\text{Μ.Ο. ΤΙΜΩΝ ΜΕ ΟΥΣΙΑ}) - (\text{Μ.Ο. ΤΙΜΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ})}{\text{ΤΙΜΗ MAX}} * 100$$

Όπου:

- Τιμή MAX = Όγκος συνολικού υγρού στην κυψελίδα

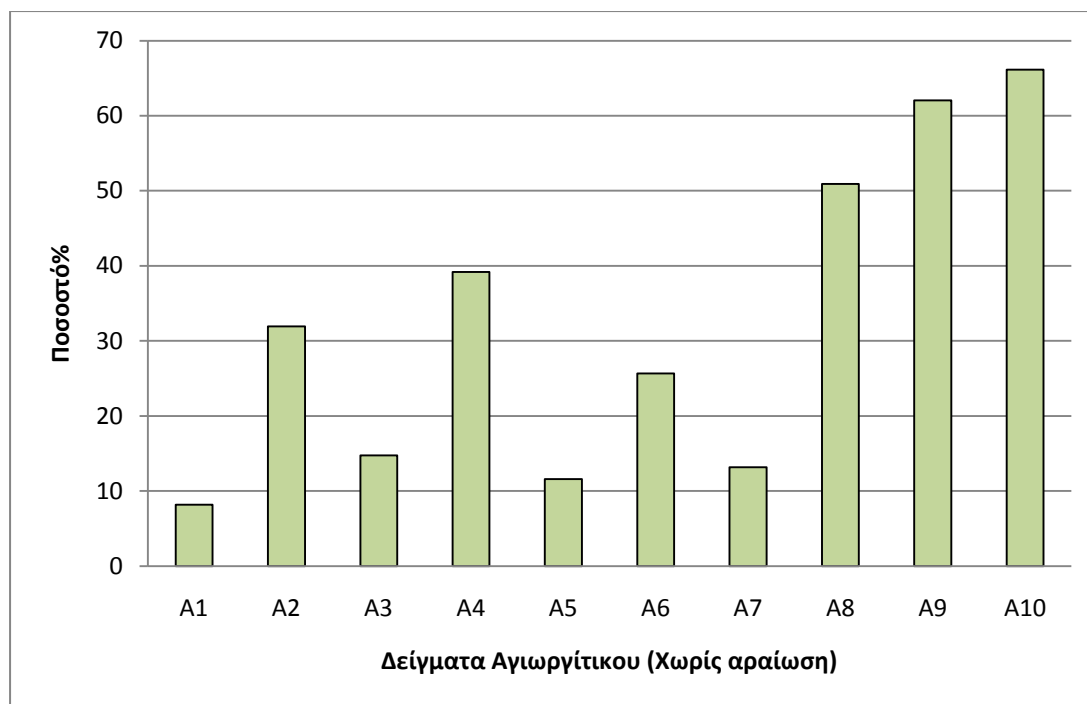
9. Αποτελέσματα και Συζήτηση

Τα αποτελέσματα της αναστολής της υπεροξειδωσής του λινελαϊκού οξέος στα δείγματα της ποικιλίας «Αγιωργίτικο» (A1-A10) είναι θετικά για όλα τα δείγματα. Εμφάνισαν μια ικανοποιητική αντιοξειδωτική δράση ιδιαίτερα τα A8, A9 και A10. Στα δείγματα που δεν έγινε αραίωση παρατηρούμε μεγάλες διαφορές ανάμεσα στα ποσοστά σε αντίθεση με τα δείγματα όπου έγινε αραίωση (1:10) που παρουσιάζεται μια ομοιομορφία στα ποσοστά τα οποία όμως κυμαίνονται σε μέτρια επίπεδα.

Πίνακας 5. Μέσοι όροι τιμών απορροφήσεων εκφρασμένοι και σε ποσοστά για τα δείγματα Αγιωργίτικου (A1-A10) χωρίς αραίωση

Δείγματα	Ποσοστό %
A1	8,165
A2	31,92
A3	14,75
A4	39,18
A5	11,61
A6	25,65
A7	13,19
A8	50,90
A9	62,05
A10	66,12

*Ο μέσος όρος απορρόφησης του τυφλού διαλύματος (Blank) ήταν 0,791 ενώ του πρότυπου διαλύματος (Standard) ήταν 1,838. Οπότε Standard – Blank = 1,047.



Σχήμα 10. Αποτύπωση σε γράφημα της αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης του Αγιωργίτικου κρασιού σε δείγματα χωρίς αραίωση

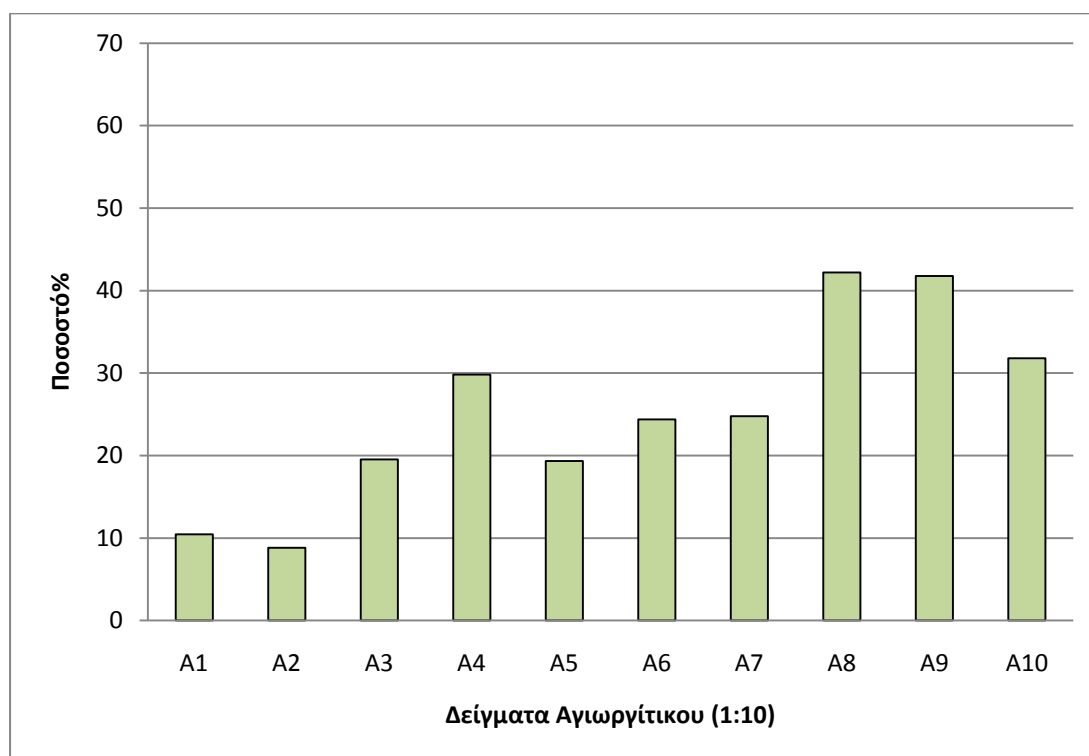
Στο Σχήμα 10 παρατηρούμε πως τη μεγαλύτερη αναστολής λιπιδικής υπεροξειδωσης εμφανίζει το A10 με μικρή διαφορά από το A9 και A8 που ακολουθούν. Σε αντίθεση με το πολύ μικρό ποσοστό που εμφανίζει το A1. Μικρό, επίσης, ποσοστό αντιοξειδωτικής δράσης εμφανίζουν τα A3, A5 και A7. Μια μέτρια αντιοξειδωτική δράση παρατηρούμε στα A2, A4 και A6. Οι διαφορετικές αυτές δράσεις ανάμεσα στα δείγματα Αγιωργίτικου κρασιού που χρησιμοποιήσαμε μπορούν να οφείλονται σε πολλούς παράγοντες. Ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την τελική σύσταση του κρασιού είναι το κλίμα. Εκτός όμως από τα γενικά κλιματικά χαρακτηριστικά, ο «καιρός» κάθε χρονιάς, οι εποχιακές δηλαδή διαφορές στις κλιματικές παραμέτρους, επηρεάζουν την ανάπτυξη του αμπελιού. Θερμοκρασία, ηλιοφάνεια, βροχή, υγρασία, ομίχλη, άνεμοι, παγετός, καταιγίδες, χαλάζι κ.ά., διαφοροποιούν δραματικά κάθε χρονιά την ωρίμαση του σταφυλιού, καθώς και το κρασί που προκύπτει. Για παράδειγμα αν μια χρονιά υπήρχαν λίγες βροχές τότε η συγκεκριμένη σοδειά θα δώσει μικρούς καρπούς με λεπτό φλοιό. Γνωρίζουμε πως οι πολυφαινολικές ενώσεις που ευθύνονται για την αντιοξειδωτική ικανότητα των κρασιών βρίσκονται στους φλοιούς των σταφυλιών. Οπότε όσο λεπτότερος είναι ο φλοιός τόσο μικρότερη και η περιεκτικότητα του σε

πολυφαινόλες άρα και χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα.

Πίνακας 6. Μέσοι όροι τιμών απορροφήσεων εκφρασμένοι και σε ποσοστά για τα δείγματα Αγωργίτικου (A1-A10) αραιώσης 1:10

Δείγματα	Ποσοστό %
A1	10,44
A2	8,83
A3	19,52
A4	29,83
A5	19,34
A6	24,39
A7	24,77
A8	42,19
A9	41,75
A10	31,81

*Ο μέσος όρος απορρόφησης του τυφλού διαλύματος (Blank) ήταν 0,566 ενώ του πρότυπου διαλύματος (Standard) ήταν 1,231. Οπότε Standard – Blank = = 0.665.



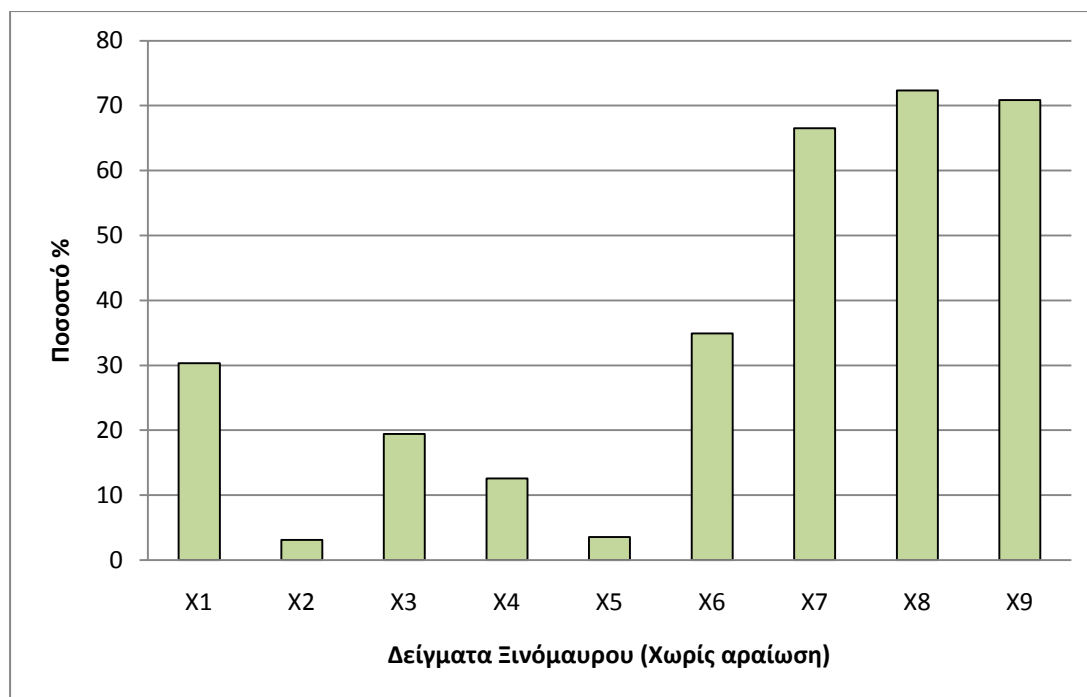
Σχήμα 11. Αποτύπωση σε γράφημα της αντιοξειδωτικής δράσης του Αγωργίτικου κρασιού σε δείγματα αραιωμένα 1:10

Στο Σχήμα 11 παρατηρούμε πως οι διαφορές μεταξύ των ποσοστών των δειγμάτων δεν έχουν μεγάλες διαφορές, με εξαίρεση το A8 και το A9 που εμφανίζουν εντονότερη αντιοξειδωτική δράση, με το A10 να έπεται. Χαμηλότερα ποσοστά εμφανίζουν το A1 και A2 ενώ τα υπόλοιπα δείγματα εμφανίζουν μια μέτρια δράση. Τα αποτελέσματα των αραιωμένων δειγμάτων εμφανίζουν μια σχετική ταύτιση με τα αποτελέσματα του Σχήματος ??? των μη αραιωμένων δειγμάτων. Ένας ακόμη παράγοντας που επηρεάζει τη σύσταση του τελικού κρασιού, εκτός από το κλίμα που προαναφέρθηκε, είναι και η σύσταση του εδάφους. Η θρέψη του αμπελιού εξαρτάται από τη σύσταση του εδάφους. Έτσι, στα πλούσια εδάφη το αμπέλι μπορεί να απλώσει τις ρίζες του και να βρει αρκετή υγρασία, ώστε να αναπτύξει υπερβολικά πυκνό φύλλωμα και να παρουσιάσει μεγάλη παραγωγή σταφυλιών. Αντίθετα, τα εδάφη που δεν συγκρατούν το νερό επηρεάζουν αρνητικά την ανάπτυξη των σταφυλιών.

Πίνακας 7. Μέσοι όροι τιμών απορροφήσεων εκφρασμένοι και σε ποσοστά για τα δείγματα Ξινόμαυρου (X1-X9) χωρίς αραίωση

Δείγματα	Ποσοστό %
X1	30,35
X2	3,12
X3	19,45
X4	12,60
X5	3,55
X6	34,90
X7	66,50
X8	72,35
X9	70,85

*Ο μέσος όρος απορρόφησης του τυφλού διαλύματος (Blank) ήταν 0,791 ενώ του πρότυπου διαλύματος (Standard) ήταν 1,838. Οπότε Standard – Blank = 1,047.



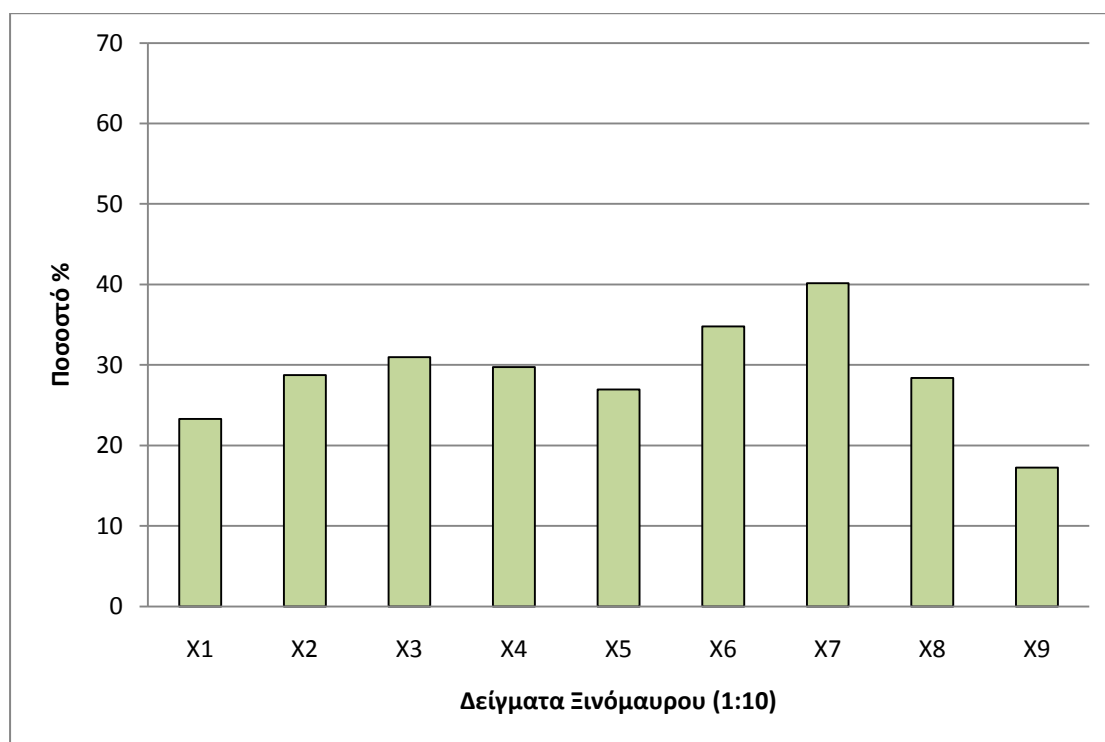
Σχήμα 12. Αποτύπωση σε γράφημα της αντιοξειδωτικής δράσης του Ξινόμαυρου κρασιού σε δείγματα χωρίς αραίωση

Στο Σχήμα 12 παρατηρούμε σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα ποσοστά των Ξινόμαυρων δειγμάτων. Τα X7, X8 και X9 παρουσιάζουν πολύ έντονη αντιοξειδωτική δραστηριότητα σε σύγκριση με τα υπόλοιπα δείγματα και ιδιαίτερα με το X2 και X5 τα οποία εμφανίζουν πολύ μικρό ποσοστό. Τα X1, X3, X4 και X6 παρουσιάζουν μέτρια δράση. Η σύσταση του κρασιού επηρεάζεται και από τον τρόπο οινοποίησης. Κατά την οινοποίηση τα σταφύλια συνθλίβονται και αφήνονται σε ηρεμία για κάποιες μέρες έτσι ώστε να προκληθεί η αλκοολική ζύμωση. Κατά τη διάρκειά της απελευθερώνεται διοξείδιο του άνθρακα (CO_2), που δημιουργεί φουσαλίδες. Στην ερυθρή οινοποίηση, οι φουσαλίδες ανεβάζουν τους φλοιούς στην επιφάνεια των δεξαμενών, σχηματίζοντας μια σχετικά πυκνή μάζα. Στη μάζα αυτή βρίσκονται και οι πολυφαινολικές ενώσεις, οπότε και γίνεται ανάδευση έτσι ώστε οι ενώσεις αυτές να εκχυλιστούν στο κρασί. Η διεργασία αυτή μπορεί να είναι διαφορετική σε κάθε οινοποίηση και έτσι το σύνολο των πολυφαινολικών ενώσεων να διαφέρει από κρασί σε κρασί.

Πίνακας 8. Μέσοι όροι τιμών απορροφήσεων εκφρασμένοι και σε ποσοστά για τα δείγματα Ξινόμαυρου (X1-X9) αραιώσης 1:10

Δείγματα	Ποσοστό %
X1	23,29
X2	28,73
X3	30,95
X4	29,75
X5	26,95
X6	34,80
X7	40,15
X8	28,40
X9	17,25

*Ο μέσος όρος απορρόφησης του τυφλού διαλύματος (Blank) ήταν 0,566 ενώ του πρότυπου διαλύματος (Standard) ήταν 1,231. Οπότε Standard – Blank = = 0.665.

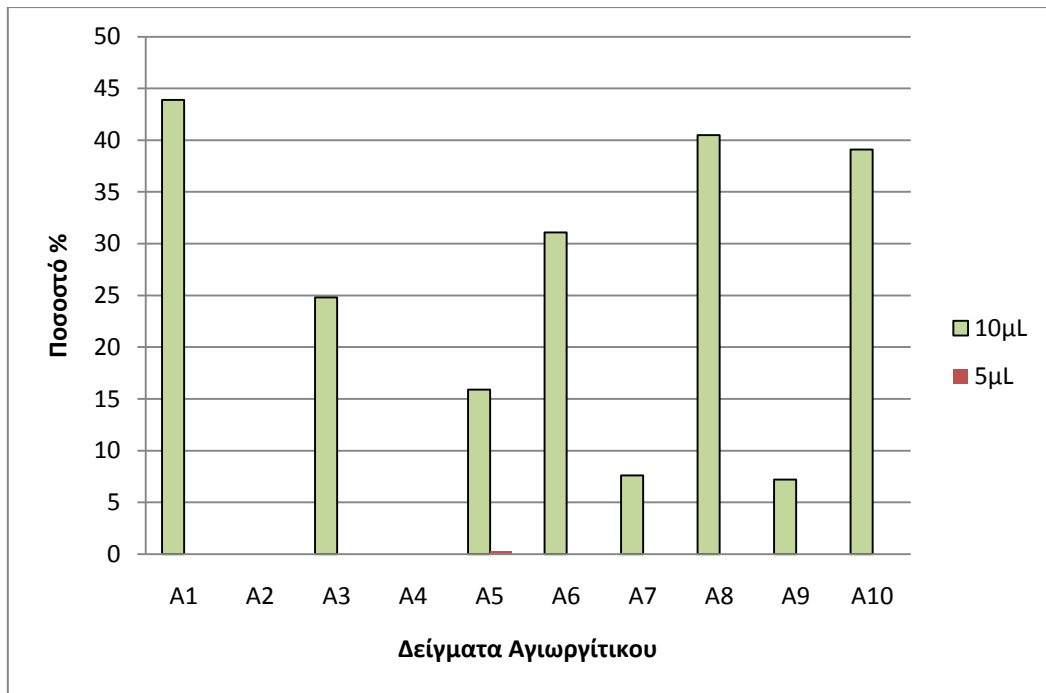


Σχήμα 13. Αποτύπωση σε γράφημα της αντιοξειδωτικής δράσης του Ξινόμαυρου κρασιού σε δείγματα αραιωμένα 1:10

Στο Σχήμα 13 αποτυπώνονται τα ποσοστά των αραιωμένων Ξινόμαυρων δειγμάτων. Παρατηρούμε μια γενική ομοιομορφία μεταξύ των ποσοστών. Το ποσοστό της αντιοξειδωτικής ικανότητας παρουσιάζεται σε μέτρια επίπεδα πράγμα που είναι αναμενόμενο αφού τα δείγματα είναι αραιωμένα. Το X7 υπερτερεί έναντι των υπολοίπων με μικρή όμως διαφορά. Ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει το τελικό προϊόν είναι φυσικά ο ανθρώπινος παράγοντας. Ο αμπελουργός πρέπει να φροντίζει για το ράντισμα του αμπελιού έτσι ώστε να αποφευχθούν ασθένειες (π.χ. βοτρυτής, περονόσπορος, κ.ά.) που πλήττουν τους καρπούς και υποβιβάζουν την ποιότητα του σταφυλιού, επομένως και την ποιότητα του κρασιού που επρόκειτο να παραχθεί. Κατά τον τρύγο είναι πρωτεύουσας σημασίας και ο τρόπος συλλογής και τοποθέτησης των σταφυλιών σε καφάσια, διότι πρέπει να γίνεται με προσοχή έτσι ώστε να μην τραυματιστεί ο φλοιός.

Πίνακας 9. Μέσοι όροι εκφρασμένοι σε ποσοστά της αντιθρομβωτικής δράσης των δειγμάτων Αγιωργίτικου (A1-A10) 10μL και 5μL.

Δείγματα	Ποσοστά %(10μL)	Ποσοστά %(5μL)
A1	43,9	0
A2	0	0
A3	24,8	0
A4	0	0
A5	15,9	0,3
A6	31,1	0
A7	7,6	0
A8	40,5	0
A9	7,2	0
A10	39,1	0

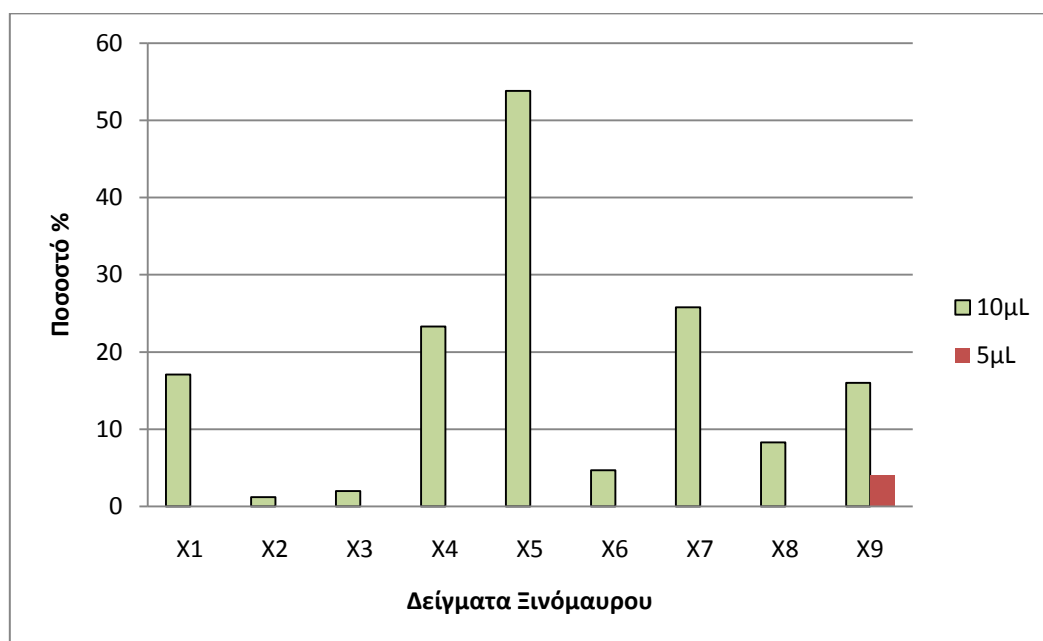


Σχήμα 14. Σύγκριση αντιθρομβωτικής δράσης ανάμεσα στα δείγματα A αποτυπωμένη σε γράφημα

Τα μηδενικά αποτελέσματα του Πίνακα 9. αντιστοιχούν σε αρνητικές τιμές, όπου αυτό σημαίνει ότι τα δείγματα δεν εμφάνισαν αντιθρομβωτική δράση ή ήταν αμελητέα. Πιο συγκεκριμένα, η ποσότητα των δειγμάτων παίζει καθοριστικό ρόλο. Στις περιπτώσεις όπου η ποσότητα των δειγμάτων ήταν περισσότερη (10μL) εμφανίστηκε ισχυρή αντιθρομβωτική ικανότητα σε αντίθεση με τα δείγματα όπου η ποσότητα ήταν 5μL όπως ήταν αναμενόμενο. Μεγαλύτερη αντιθρομβωτική δράση εμφανίζει το A1 με τα A8 και A10 να ακολουθούν. Τα A3, A5 και A6 φαίνεται να παρουσιάζουν μέτρια δράση. Παρατηρούμε ότι τα A7 και A9 είχαν ελάχιστη δράση ενώ τα A2 και A4 δεν έδρασαν καθόλου.

Πίνακας 10. Μέσοι όροι εκφρασμένοι σε ποσοστά της αντιθρομβωτικής δράσης των δειγμάτων Ξινόμαυρου (X1-X9) 10μL και 5μL

Δείγματα	Ποσοστά %(10μL)	Ποσοστά %(5μL)
X1	17,1	0
X2	1,2	0
X3	2	0
X4	23,3	0
X5	53,8	0
X6	4,7	0
X7	25,8	0
X8	8,3	0
X9	16	4,1

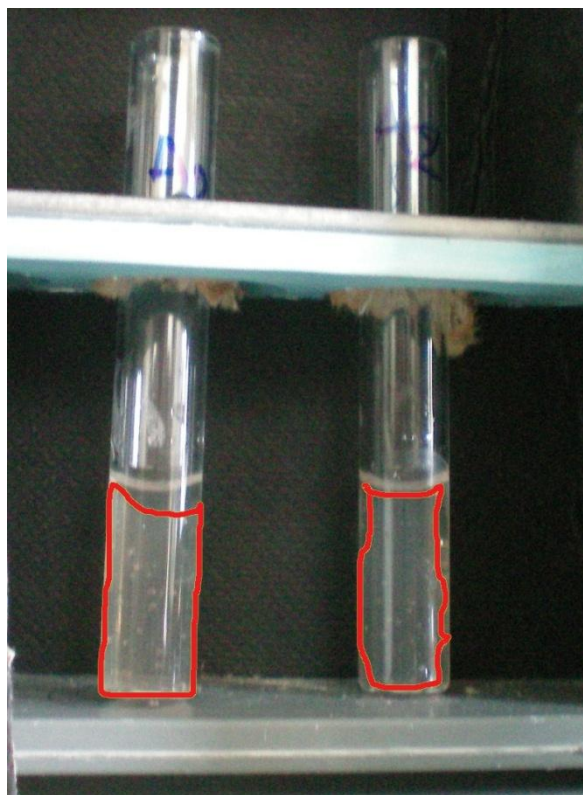


Σχήμα 15. Σύγκριση αντιθρομβωτικής δράσης ανάμεσα στα δείγματα X (Ξινόμαυρο) αποτυπωμένη σε γράφημα.

Τα μηδενικά αποτελέσματα του Πίνακα 10. αντιστοιχούν σε αρνητικές τιμές, όπου αυτό σημαίνει ότι τα δείγματα δεν εμφάνισαν αντιθρομβωτική δράση ή εμφάνισαν αμελητέα. Όλα τα δείγματα των 10μL έχουν εμφάνισει

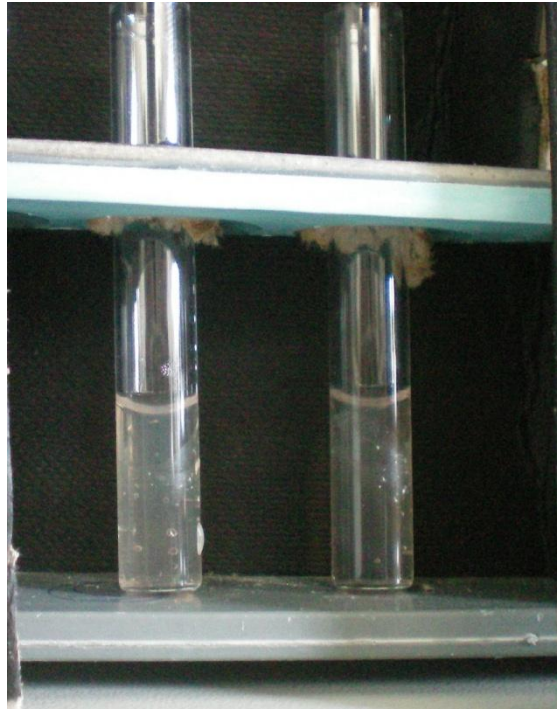
αντιθρομβωτική δράση με μεγαλύτερο ποσοστό αυτό του X5. Μέτρια δράση παρατηρούμε στα X1, X4, X7 και X9. Το X9 ήταν το μοναδικό δείγμα που εμφάνισε αντιθρομβωτική δράση και στα 5μL. Το μικρότερο ποσοστό εμφάνισαν τα X2, X3 και X6.

9.1. Φωτογραφικό υλικό

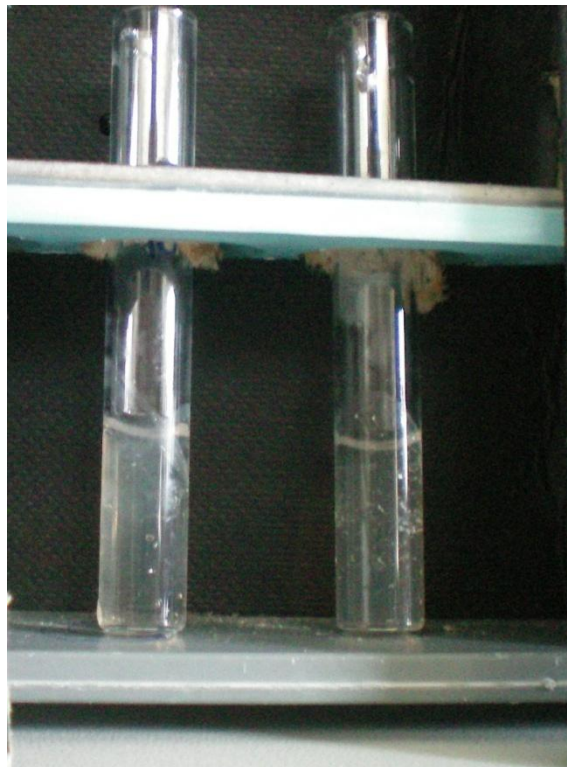


Σχήμα 16. Απεικόνιση έκτασης του θρόμβου του δείγματος A2

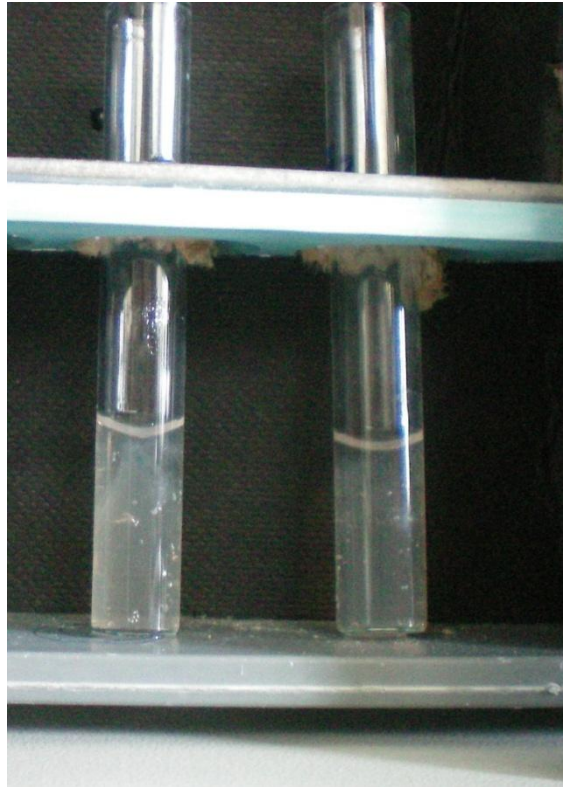
Στο Σχήμα 16 η επιλεγμένη κόκκινη περιοχή αντιστοιχεί στο θρόμβο ο οποίος δεν έχει διαλυθεί, πράγμα το οποίο επαληθεύει τα αποτελέσματα τα οποία παρουσιάστηκαν στον Πίνακα 9. και έδειχναν ότι το A2 δεν εμφάνισε αντιθρομβωτική δράση. Κατά όμοιο τρόπο υπολογίστηκε το ποσοστό της έκτασης του θρόμβου όλων των δειγμάτων κάποια εκ των οποίων παρουσιάζονται στα σχήματα 17,18,19, και 20.



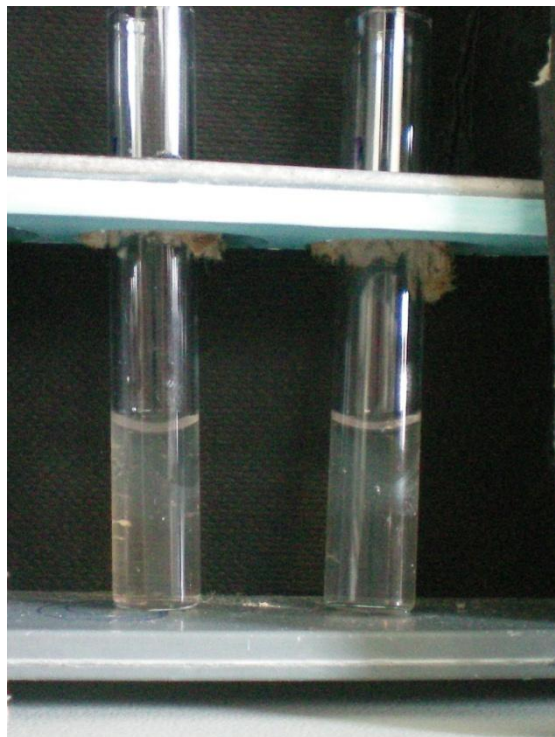
Σχήμα 17. Απεικόνιση έκτασης του θρόμβου του δείγματος A4



Σχήμα 18. Απεικόνιση έκτασης του θρόμβου του δείγματος A7



Σχήμα 19. Απεικόνιση έκτασης του θρόμβου του δείγματος X3



Σχήμα 20. Απεικόνιση έκτασης του θρόμβου του δείγματος X6

10. Στατιστικός έλεγχος

Πραγματοποιήθηκε έλεγχος της ομοιογένειας των διακυμάνσεων ενός παράγοντα (One-way ANOVA) με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος MINITAB 15.

Οι απαραίτητες προϋποθέσεις που πρέπει να ελεγχθούν πριν την εφαρμογή της ANOVA είναι:

- A. Να υπάρχει κανονικότητα. Ο έλεγχος της κανονικότητας γίνεται με τη χρήση του ελέγχου Ryan – Joiner στη στήλη των υπολειμμάτων των τιμών.
- B. Να υπάρχει ομοιογένεια των διακυμάνσεων. Ο έλεγχος της ομοιογένειας των διακυμάνσεων γίνεται με τη χρήση του ελέγχου Bartlett (Βλαχάβας, 2005).

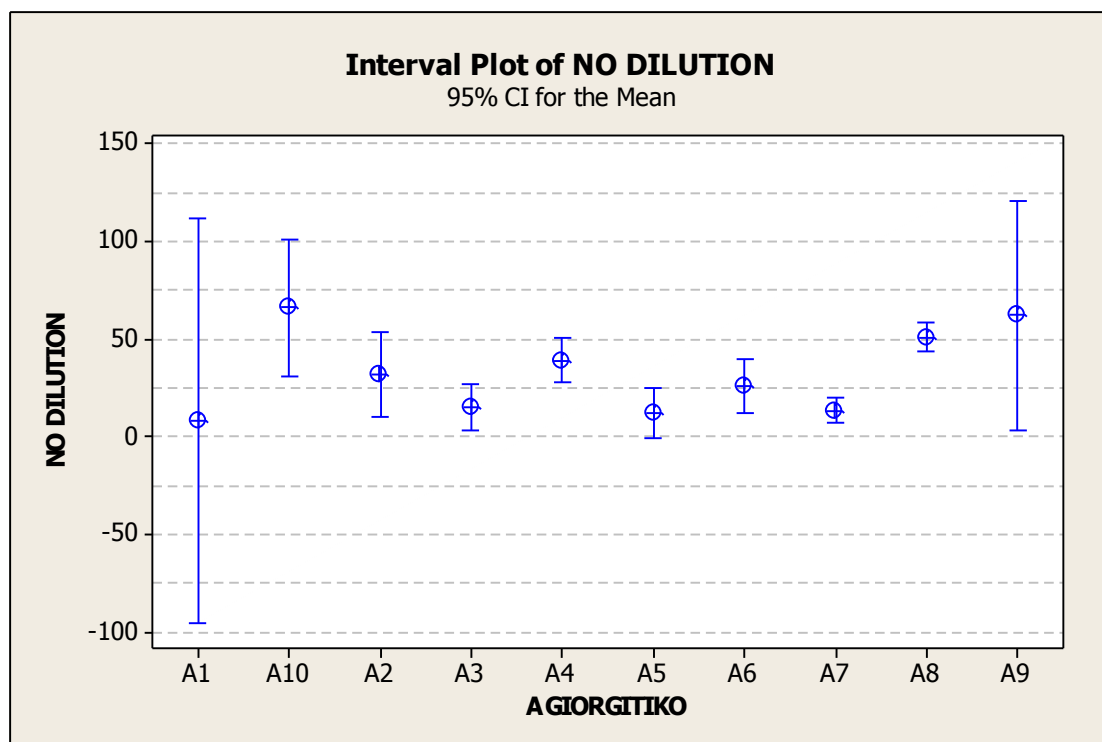
- ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΝΟΝΙΚΟΤΗΤΑΣ

Από τον έλεγχο της κανονικότητας Ryan – Joiner προέκυψε ότι για όλα τα στοιχεία η τιμή του ελέγχου P είναι μεγαλύτερη της τιμής 0,05 άρα ακολουθούν κανονική κατανομή.

- ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΜΟΙΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΕΩΝ

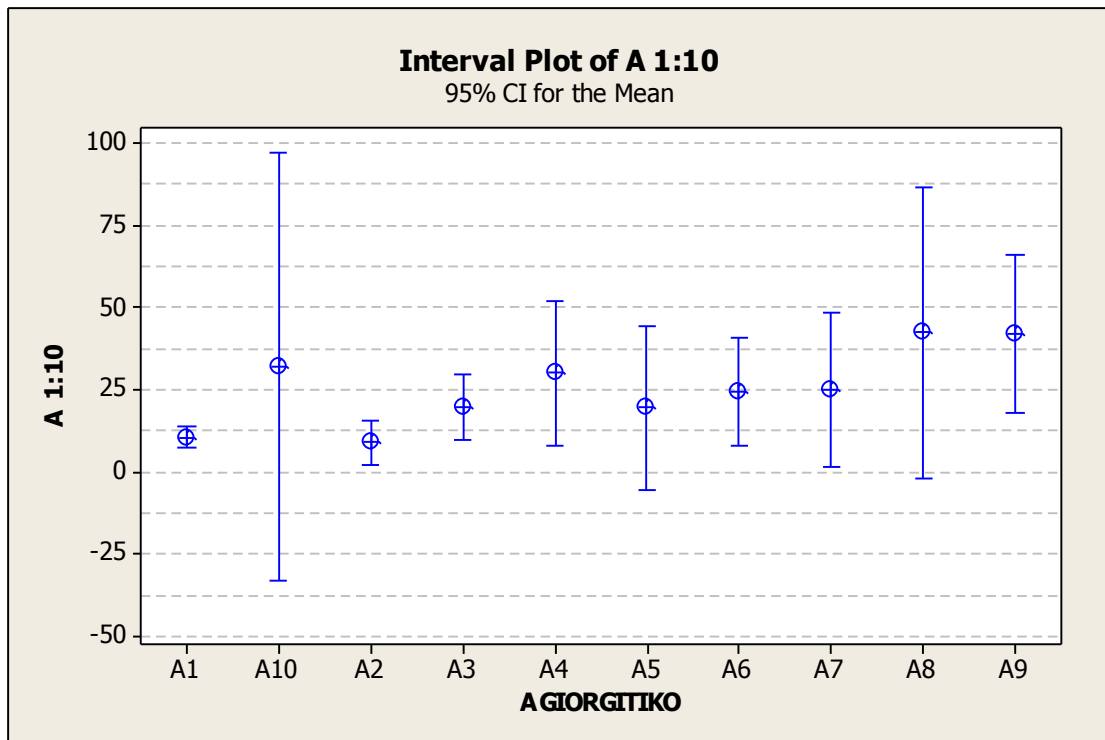
Από τον έλεγχο της ομοιογένειας των διακυμάνσεων Bartlett προέκυψε ότι για όλα τα στοιχεία η τιμή του ελέγχου P είναι μεγαλύτερη της τιμής 0,05 άρα υπάρχει ομοιογένεια των διακυμάνσεων.

Στη συνέχεια έγιναν τα γραφήματα μέσων όρων – ορίων εμπιστοσύνης (interval plots) μέσα από τα οποία μπορούν να συγκριθούν οι μέσοι όροι κατά ζεύγη. Αν τα όρια εμπιστοσύνης του μέσου όρου μιας στήλης επικαλύπτουν την τιμή του μέσου όρου μιας άλλης τότε αυτοί οι μέσοι όροι είναι «στατιστικά ίσοι». Αντίθετα αν τα όρια εμπιστοσύνης του μέσου όρου μιας στήλης δεν επικαλύπτονται σε κανένα σημείο με τα όρια εμπιστοσύνης ενός άλλου μέσου όρου τότε αυτοί οι μέσοι όροι δεν είναι ίσοι. Στην περίπτωση που υπάρχει επικάλυψη των ορίων εμπιστοσύνης αλλά όχι των τιμών των μέσων όρων τότε το αποτέλεσμα δεν είναι εύκολο να εξαχθεί (Βλαχάβας, 2005).



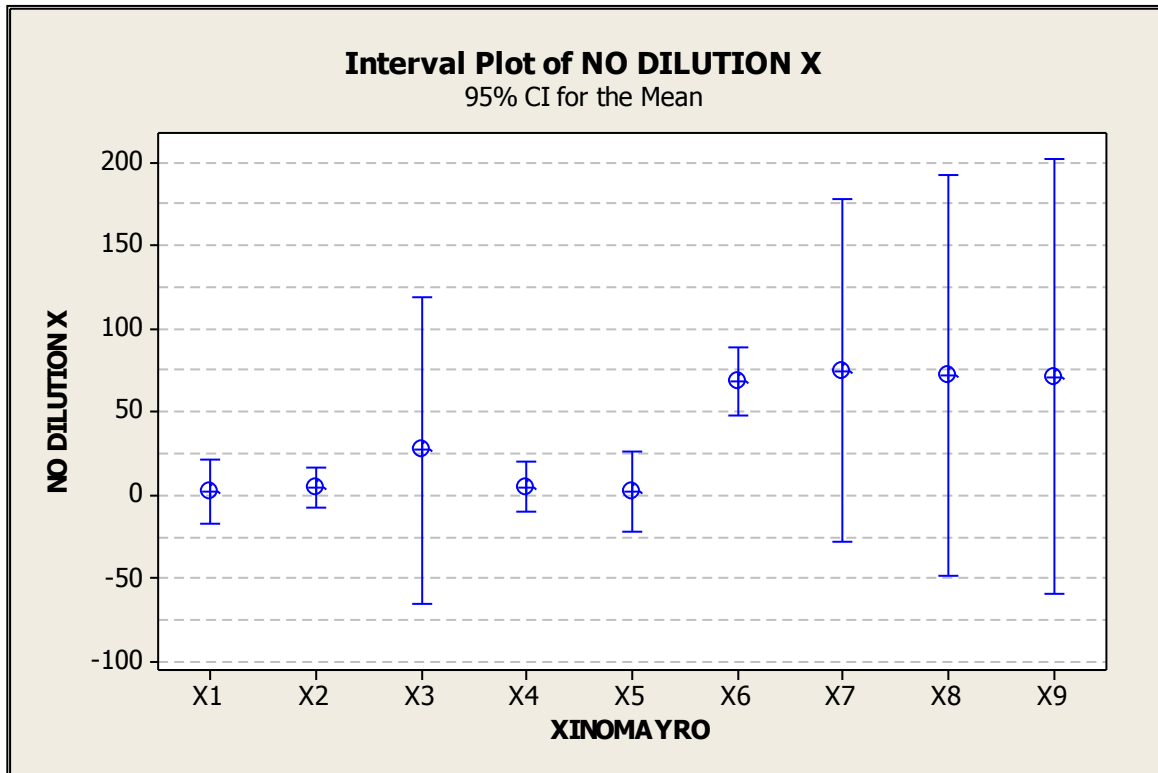
Σχήμα 21. Γραφική απεικόνιση των μέσων όρων του ποσοστού αναστολής της οξειδωσης σε δείγματα κρασιού «Αγιωργίτικο» χωρίς αραίωση

Ξεκινώντας με το A1 και το A3 βλέπουμε ότι οι μέσοι όροι τους επικαλύπτονται ο ένας από τα όρια εμπιστοσύνης του άλλου οπότε μπορούμε να πούμε ότι είναι στατιστικά ίσοι. Το A1 με το A5 έχουν επίσης στατιστικά ίσους μέσους όρους, όπως και το A3 με το A5. Το A2 είναι στατιστικά ίσο με το A6 αφού επικαλύπτονται οι μέσοι όροι τους. Το A2 είναι επίσης στατιστικά ίσο με το A4, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι το A4 είναι ίσο με το A6, διότι οριακά δεν επικαλύπτονται. Το A5 είναι στατιστικά ίσο με το A7. Το A9 είναι στατιστικά ίσο με το A10 αφού επικαλύπτονται οι μέσοι όροι τους ενώ το A8 διαφέρει σημαντικά από το A7 καθώς και από το A5 και το A3. Σαν γενική εικόνα μπορούμε να πούμε ότι το A10 έχει το μεγαλύτερο μέσο όρο με το A9 και το A8 να ακολουθούν ενώ το A1 έχει το χαμηλότερο μέσο όρο.



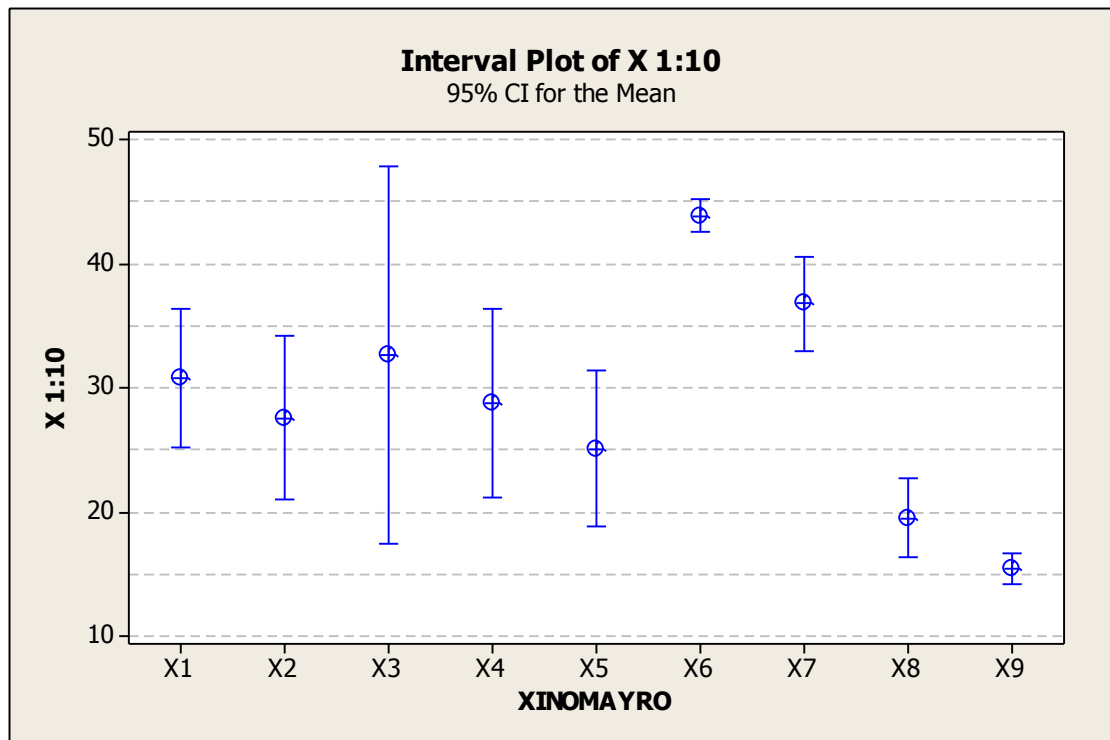
Σχήμα 22. Γραφική απεικόνιση των μέσων όρων του ποσοστού αναστολής της οξείδωσης σε δείγματα κρασιού «Αγιωργίτικο» με αραίωση 1:10

Ξεκινώντας με το A1 και το A2 βλέπουμε ότι οι μέσοι όροι τους επικαλύπτονται ο ένας από τα όρια εμπιστοσύνης του άλλου οπότε μπορούμε να πούμε ότι είναι στατιστικά ίσοι. Το A3 με το A5 είναι στατιστικά ίσοι, όπως και το A3 με το A6, καθώς και το A3 με το A7. Το A4 έχει στατιστικά ίσο μέσο όρο με το A5 όπως και με το A6 αλλά και με το A7. Το A4 είναι επίσης στατιστικά ίσο με τα A8, A9 και A10. Σαν γενική εικόνα στο συγκεκριμένο γράφημα φαίνεται να υπάρχει μια «γενική ισότητα» καθώς και κάποιος συσχετισμός μεταξύ των δειγμάτων, εκτός από το A1 και το A9 τα οποία διαφέρουν αρκετά. Μεγαλύτερη μέση τιμή έχει το A8 με το A9 να ακολουθεί, ενώ μικρότερη μέση τιμή έχει το A2.



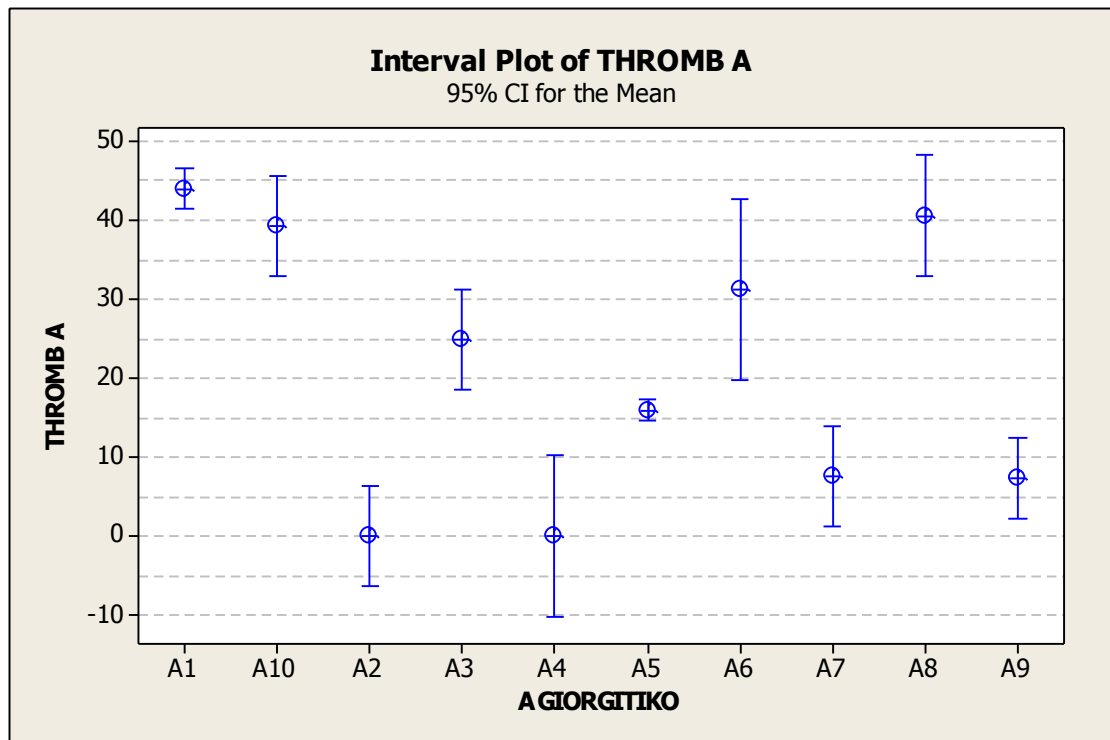
Σχήμα 23. Γραφική απεικόνιση των μέσων όρων του ποσοστού αναστολής της οξειδωσης σε δείγματα κρασιού «Ξινόμαυρο» χωρίς αραίωση

Ξεκινώντας με το X1 και το X2, είναι στατιστικά ίσα εφόσον οι μέσοι όροι τους επικαλύπτονται ο ένας από τα όρια εμπιστοσύνης του άλλου. Το X1 με το X4 είναι επίσης στατιστικά ίσα, όπως και το X1 με το X5. Το X2 είναι στατιστικά ίσο με το X4 καθώς και με το X5. Το X3 είναι στατιστικά ίσο με το X7 καθώς και με τα X8 και X9. Το X6 είναι στατιστικά ίσο με τα X7, X8 και X9 όχι όμως και με το X3. Το X6 επίσης, διαφέρει εντελώς από τα X1, X2, X4 και X5. Κατά τη γενική εικόνα του γραφήματος, βλέπουμε ότι το X7 έχει το μεγαλύτερο μέσο όρο, με τα X6, X8 και X9 να ακολουθούν με μικρή διαφορά. Το μικρότερο μέσο όρο έχουν τα X1 και X5.



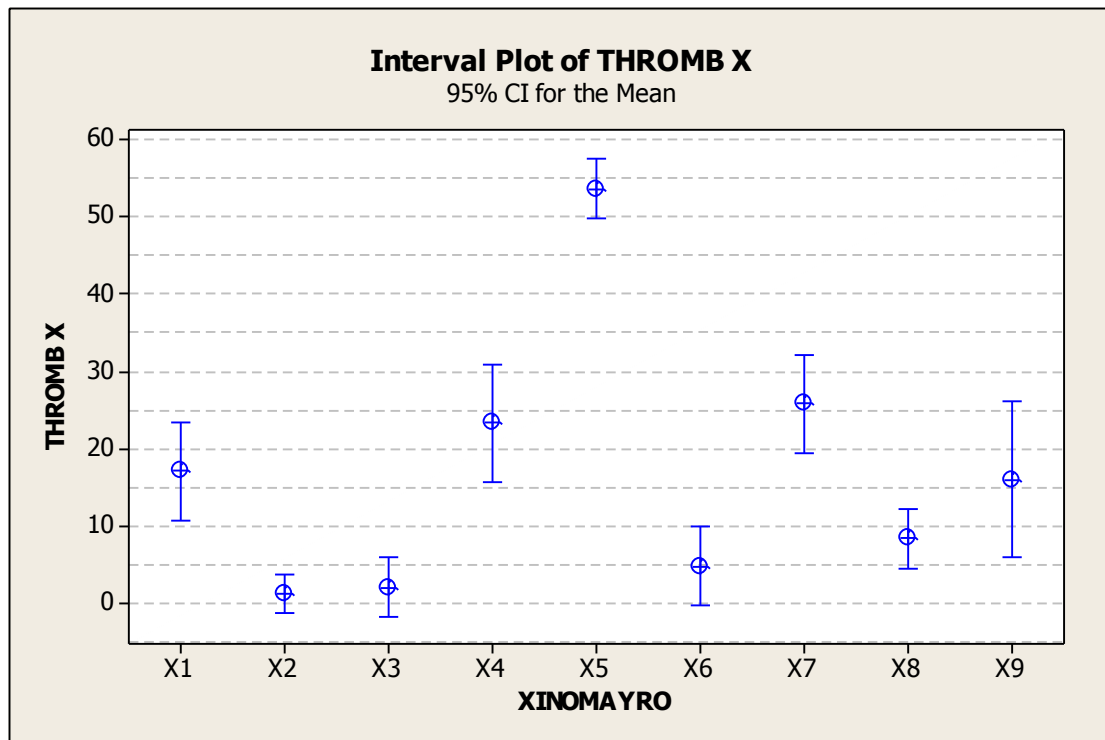
Σχήμα 24. Γραφική απεικόνιση των μέσων όρων του ποσοστού αναστολής της οξείδωσης σε δείγματα κρασιού «Ξινόμαυρο» με αρραίωση 1:10

Ξεκινώντας με τα X1 και X2 , οι μέσοι όροι τους επικαλύπτονται από τα όρια εμπιστοσύνης οπότε είναι στατιστικά ίσα. Για τον ίδιο λόγο, το X1 είναι επίσης στατιστικά ίσο με το X3, το X4 και οριακά και με το X5. Το X2 είναι στατιστικά ίσο με το X3, το X4 καθώς και με το X5. Το X3 είναι στατιστικά ίσο, εκτός από τα X1 και X2 όπως προαναφέρθηκε, επίσης και με το X4. Το X6 διαφέρει εντελώς από όλα σχεδόν τα δείγματα, όπως και το X9. Το X7 είναι οριακά ίσο με το X3. Το X8 δεν είναι ίσο με κάποιο συγκεκριμένο δείγματα αλλά διαφέρει εντελώς από τα X1, X6, X7 και X9. Κατά τη γενική εικόνα, βλέπουμε ότι το X6 παρουσιάζει τη μεγαλύτερη μέση τιμή και με αρκετή διαφορά από το X7 που ακολουθεί. Τη χαμηλότερη μέση τιμή την έχει το X9.



Σχήμα 25. Γραφική απεικόνιση των μέσων όρων του ποσοστού σχηματισμού θρόμβου σε δείγματα κρασιού «Αγιωργίτικο»

Ξεκινώντας από το A1, βλέπουμε ότι δεν εμφανίζει κάποια στατιστική ισότητα με ένα από τα υπόλοιπα δείγματα. Παρατηρούμε ότι το A1 διαφέρει εντελώς από το A2, το A3, το A4, το A5, το A7 και το A9. Το A2 είναι στατιστικά ίσο με το A4 αφού οι μέσοι όροι τους επικαλύπτονται από τα όρια εμπιστοσύνης. Το A3 είναι οριακά ίσο με το A6. Το A5 διαφέρει εντελώς από όλα τα υπόλοιπα δείγματα. Το A7 είναι στατιστικά ίσο με το A9, ενώ το A8 είναι στατιστικά ίσο με το A10. Κατά τη γενική εικόνα του γραφήματος, παρατηρούμε ότι τη μεγαλύτερη μέση τιμή την εμφανίζει το A1, με το A8 και το A10 να έπονται. Αντίθετα, την μικρότερη μέση τιμή εμφανίζουν τα A2 και A4.



Σχήμα 26. Γραφική απεικόνιση των μέσων όρων του ποσοστού σχηματισμού θρόμβου σε δείγματα κρασιού «Ξινόμαυρο»

Ξεκινώντας με το X1, παρατηρούμε ότι είναι στατιστικά ίσο με το X9, ενώ οριακά μπορεί να θεωρηθεί ίσο και με το X4. Το X2 είναι στατιστικά ίσο με το X3 καθώς οι μέσοι όροι επικαλύπτονται πλήρως από τα όρια εμπιστοσύνης και επίσης μπορεί να θεωρηθεί οριακά ίσο με το X6. Το X3 είναι σαφώς στατιστικά ίσο με το X6. Το X4 είναι στατιστικά ίσο με το X7 ενώ οριακά ίσο με το X9. Το X5 διαφέρει κατά πολύ μεγάλο βαθμό από τις τιμές των υπόλοιπων δειγμάτων. Το X6 είναι στατιστικά ίσο με το X8. Κατά γενική εικόνα, βλέπουμε ξεκάθαρα ότι το X5 παρουσιάζει μεγαλύτερη μέση τιμή από όλα τα δείγματα με τα X7 και X4 να ακολουθούν. Τη μικρότερη μέση τιμή παρουσιάζει το X2.

11. Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα της αναστολής της υπεροξειδωσής του λινελαϊκού οξέος στα δείγματα της ποικιλίας «Ξινόμαυρο» (X1-X9) είναι επίσης θετικά για όλα τα δείγματα με εξαίρεση το X2 και το X5 τα οποία έδωσαν πολύ μικρά ποσοστά. Στα δείγματα χωρίς αραίωση τα X7, X8 και X9 εμφάνισαν πολύ ισχυρή αντιοξειδωτική δράση σε σύγκριση με τα υπόλοιπα. Τα ποσοστά στα αραιωμένα δείγματα ήταν παρόμοια όμως κυμαίνονταν σε μέτρια επίπεδα.

Κατά γενική εικόνα τα δείγματα της ποικιλίας «Ξινόμαυρο» υπερτερούν έναντι των δειγμάτων της ποικιλίας «Αγιωργίτικο» με μικρή διαφορά. Άρα μπορούμε να πούμε ότι το Ξινόμαυρο παρουσιάζει μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση.

Τα αποτελέσματα της αναστολής σχηματισμού θρόμβου στα δείγματα της ποικιλίας «Αγιωργίτικο» ήταν θετικά στα δείγματα τα οποία είχαν συγκέντρωση 10μL σε αντίθεση με τα δείγματα των 5μL που προφανώς δεν ήταν αρκετή η ποσότητα του δείγματος του κρασιού για να εμφανιστεί κάποια δράση. Κάποια από τα δείγματα των 10μL ωστόσο δεν εμφάνισαν καθόλου αντιθρομβωτική δράση.

Τα αποτελέσματα της αναστολής σχηματισμού θρόμβου στα δείγματα της ποικιλίας «Ξινόμαυρο» ήταν θετικά για όλα τα δείγματα των 10μL. Μόνο ένα δείγμα (X9) εμφάνισε ελάχιστη αντιθρομβωτική δράση στα 5μL.

Παρατηρούμε πως ενώ η αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσής εμφανίζεται και σε αραιότερα δείγματα, η αντιθρομβωτική δράση σε αραιά δείγματα χάνεται.

Κατά γενική εικόνα τα δείγματα της ποικιλίας «Αγιωργίτικο» έχουν μεγαλύτερη αντιθρομβωτική δράση σε σχέση με τα δείγματα της ποικιλίας «Ξινόμαυρο».

Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων δεν προκύπτει συσχέτιση ανάμεσα στην αντιοξειδωτική και αντιθρομβωτική δράση των κόκκινων μονοποικιλιακών κρασιών. Οι διαφορές αυτές ανάμεσα στις μεθόδους οφείλονται στις επιμέρους φαινολικές ενώσεις που προσδιορίζονται περισσότερο ή λιγότερο από κάθε μέθοδο.

12. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

- Επέκταση της συγκεκριμένης ερευνητικής δραστηριότητας με μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων.
- Μελέτη επιπλέον ποικιλιών κόκκινων κρασιών.
- Μελέτη αντιοξειδωτικής και αντιθρομβωτικής ικανότητας λευκών κρασιών.

13. Βιβλιογραφία

Δημοσίευση σε περιοδικό

1. Alen-Ruiz F., Garcia-Falcon M.S., Perez-Lamela M.C., Martinez-Carballo E. & Simal-Gandara J. (2009), Influence of major polyphenols on antioxidant activity in Mencía and Brancellao red wines, *Food Chemistry*, 113, 53–60.
2. Aron P. M. (2007), Composition of Flavonoid Phenolic Polymers Isolated From Red Wine During Maceration and Significance of Flavan-3-ols in Foods Pertaining to Biological Activity, 1-102.
3. Babio N., Bullo M., Basora J., Martinez-Gonzalez M.A., Fernandez-Ballart J., Marquez-Sandoval F. , Molina C. & Salas-Salvado J. (2008), Adherence to the Mediterranean diet and risk of metabolic syndrome and its components, *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* , 1-8.
4. Baydar N. G., Ozkan G., Yasar S. (2007), Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grapes extracts, *Food Control*, 18, 1131-1136.
5. Chegary M., Brinke H., Doolaard M., Ijlst L., Wijburg F. A., Wanders R., Houten S. M. (2008), Characterization of L-aminocarnitine, an inhibitor of fatty acid oxidation, *Molecular Genetics and Metabolism*, 93, 403-410.
6. De Curtis A., Murzilli S., Di Castelnuovo A., Rotilio D., Donati M.B., De Gaetano G.,Iacoviello L., (2005), Alcohol-free red wine prevents arterial thrombosis in dietary-induced hypercholesterolemic rats: experimental support for the ‘French paradox’, *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 3, 346 – 350.

7. Di Majo D., La Guardia M., Giammanco S., La Neve L., Giammanco M. (2008), The antioxidant capacity of red wine in relationship with its polyphenolic constituents, *Food Chemistry*, 111, 45–49.
8. Faustino R. S., Clark T. A., Sobratee S., Czubryl M. P., Pierce G. N. (2004), Differential antioxidant properties of red wine in water soluble and lipid soluble peroxy radical generating systems, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 263, 211-215.
9. Gerogiannaki-Christopoulou M., Athanasopoulos P., Kyriakidis N., Gerogiannaki I., Spanos M. (2006), Trans-Resveratrol in wines from the major Greek red and white grape varieties, *Food Control*, 17, 700–706.
10. Giugliano D. & Esposito K. (2008), Mediterranean diet and metabolic diseases, *Current Opinion in Lipidology*, 19, 63-68.
11. Hotzer K. A., Henriquez C., Pino E., Miranda-Rottmann S., Aspillaga A., Leighton F., Lissi E. (2005), Antioxidant and pro-oxidant effects of red wine and its fractions on Cu(II) induced LDL oxidation evaluated by absorbance and chemiluminescence measurements, *Free Radical Research*, 39 (2), 175-183.
12. Itsiopoulos C., Hodge A. & Kaimakamis M. (2009), Can the Mediterranean diet prevent prostate cancer?, *Mol. Nutr. Food Res.*, 53, 227 – 239.
13. Jaleel A. (2008), Ageing and health: free radicals and oxidative stress, *J. Coll Physicians Surg Pak.*, 18 (8), 465-6.
14. Jumpsen J., Clandinin M. T. (1995), Brain Development: Relationship to Dietary Lipid and Lipid Metabolism, 45-64.

15. Kimura M., Yoon H., Wasant P., Takahashi Y., Yamaguchi S. (2002), A sensitive and simplified method to analyze free fatty acids in children with mitochondrial beta oxidation disorders using gas chromatography/mass spectrometry and dried blood spots, *Clinica Chimica Acta*, 316, 117-121.
16. Liang J., Tian Y., Yang F., Zhang J., Skibsted L. (2009), Antioxidant synergism between carotenoids in membranes. Astaxanthin as a radical transfer bridge, *Food Chemistry*, 115, 1437-1442.
17. Licari L. G., Kovacic J. P., (2009), Thrombin physiology and pathophysiology, *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 19(1), 11– 22.
18. Lotito S. B., Fraga C. G., (1999), (+)-Catechin as antioxidant: mechanisms preventing human plasma oxidation and activity in red wines, *BioFactors*, 10, 125 – 130.
19. Martínez-González M.Á., Fuente-Arrillaga C., Nunez-Cordoba J.M., Basterra-Gortari F.J., Beunza J.J., Vazquez Z., Benito S., Tortosa A. & Bes-Rastrollo M., (2008), Adherence to Mediterranean diet and risk of developing diabetes: prospective cohort study, *British Medical Journal*, 336, 1348-1351.
20. Pour Nikfardjam M.S., Laszlo G. & Dietrich H. (2006), Resveratrol-derivatives and antioxidative capacity in wines made from botrytized grapes, *Food Chemistry*, 96, 74–79.
21. Radovanovic A., Radovanovic B. & Jovancicevic B. (2009), Free radical scavenging and antibacterial activities of southern Serbian red wines, *Food Chemistry*.
22. Rivero-Pérez MD, Muñiz P, González-Sanjosé ML. (2008), Contribution of anthocyanin fraction to the antioxidant properties of wine, *Food Chemistry*, 46(8):2815-22.

23. Rufino M., Fernandez F., Alves R., Brito E. (2009), Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system, *Food Chemistry*, 114, 693-695.
24. Sparks D. L. (2008), Oxidation of lipids in a supercritical-fluid medium, Mississippi State University, 74-210.
25. Tarantilis P.A., Troianou V.E., Pappas C.S., Kotseridis Y.S. & Polissiou M.G. (2008), Differentiation of Greek red wines on the basis of grape variety using attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy, *Food Chemistry*, 111, 192–196.
26. Trichopoulou A. & Costacou T. (2003), Adherence to a Mediterranean diet and survival in greek population, *The New England Journal of Medicine*, 348, 2599-2608.
27. Trichopoulou A. & Lagiou P. (2004), Dietary guidelines for adults in Greece, *Records of Greek Medical*, 16(6), 615-625.
28. Tselepis D. A., Lourida S. E., Tzimas C. P. & Roussis, Ioannis G. (2005), Comparative Antioxidant Effectiveness of White and Red Wine and Their Phenolic Extracts Towards Low-Density Lipoprotein Oxidation, *Food Biotechnology*, 19, 1 — 14.
29. Tubaro F., Rapuzzi P., Ursini F., (1999), Kinetic analysis of antioxidant capacity of wine, *BioFactors*, 9, 37 – 47.
30. Vaquero M. J., Alberto M. R., Manca de Nadra M. C. (2007), Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines, *Food Control*, 18, 93-101.

31. Yang J., Martinson E. T. & Hai Liu R. (2009), Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes, *Food Chemistry*, 116, 332–339.

Ξένα Βιβλία

32. Aruoma O. I., Halliwell B. (1991), Free radicals and food additives, 17–42.
33. Webb G. P. (2006), Dietary supplements and functional foods, 68-69, 80-83, 107-120.

Ελληνικά Βιβλία

34. Belitz H. –D., Grosch W., Schieberle P. (2006), Χημεία Τροφίμων, 375-382, 404-417, 657-683, 700, 742, 1456-1494.
35. Guyton A. C. (2001), Φυσιολογία του ανθρώπου.
36. Βαλαβανίδης Α. Π. (2003), Ελεύθερες Ρίζες και Μηχανισμοί Καρκινογένεσης, 43-55.
37. Βαλαβανίδης Α. Π. (2006), Ελεύθερες Ρίζες και ο Ρόλος τους στα Βιολογικά Συστήματα, 11-61,
38. Βαλαβανίδης Α. Π. (2006), Ελεύθερες Ρίζες στην Οργανική Χημεία, 1-15, 235-244.
39. Βλαχάβας Γ., (2005) Σημειώσεις για το Εργαστήριο Στατιστικής, MINITAB 14, 38-43.
40. Μπριτάνικα Π. Λ. (1997), Τόμος 9, 424, Τόμος 32, 218, Τόμος 47, 63-64.
41. Σουφλέρος Η. Ε. (2000), Οινολογία – Επιστήμη και τεχνογνωσία,

Τόμος Ι.

42. Σουφλέρος Η. Ε. (2000), Οινολογία – Επιστήμη και τεχνογνωσία, Τόμος ΙΙ, 391-400.

43. Τσιφτσόγλου Α. Σ. (2001), Μοριακή και Κλινική Φαρμακολογία, 429-438.

Διαδίκτυο

44. www.care24.gr

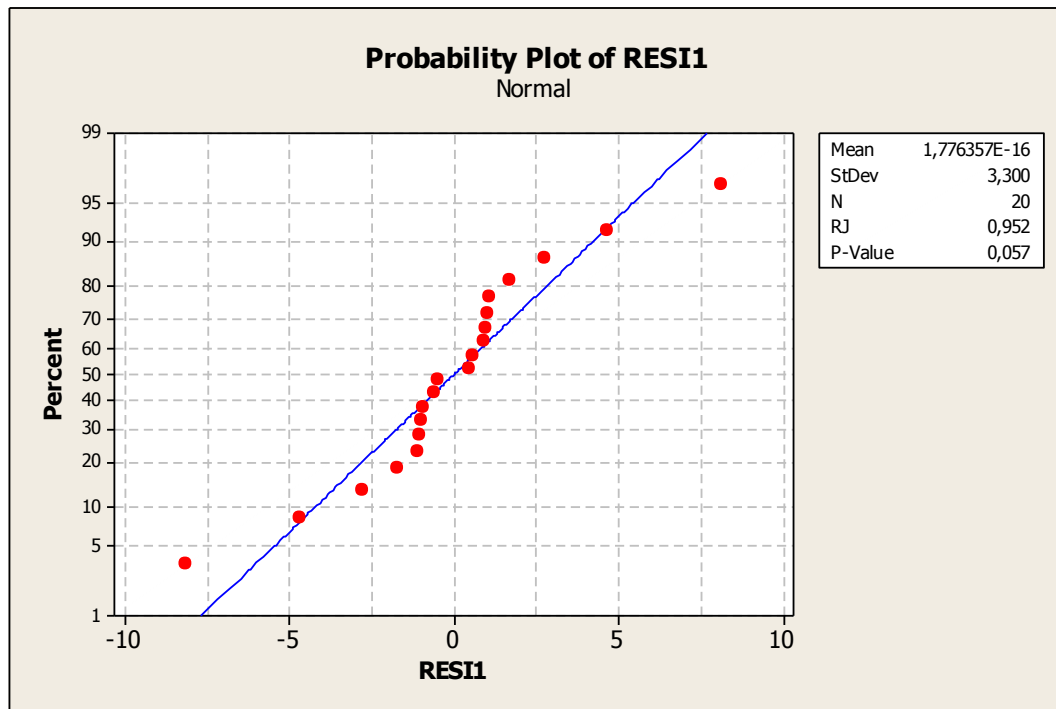
45. www.wikipedia.org

46. www.caymanchem.com

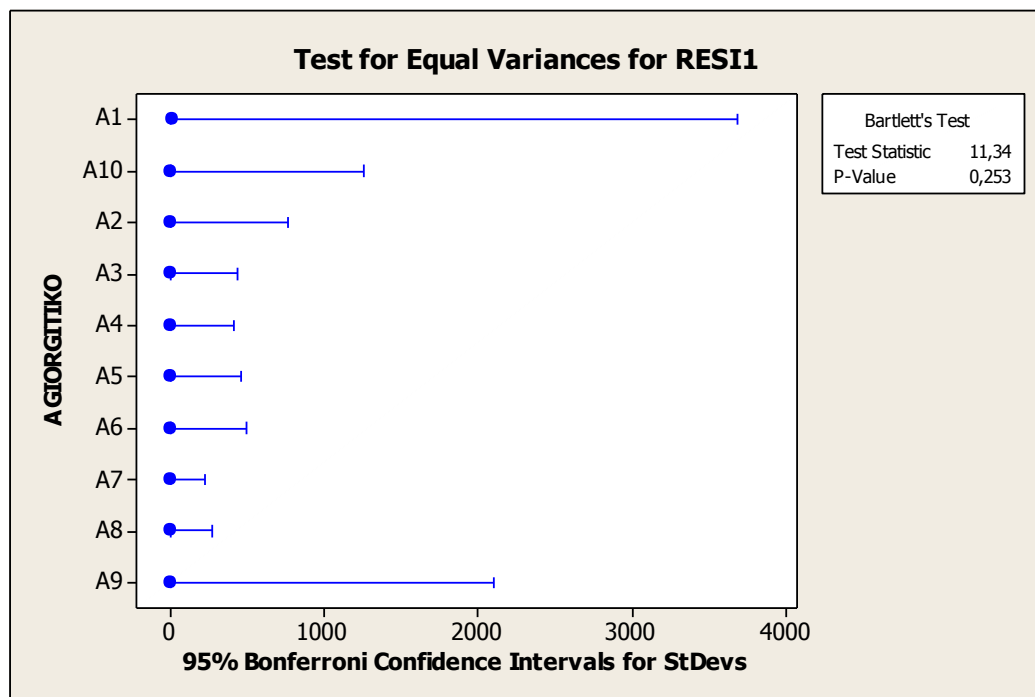
(Τελευταία ημέρα εισόδου που προσπελάθηκαν οι παραπάνω σελίδες είναι 30/05/11).

14. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

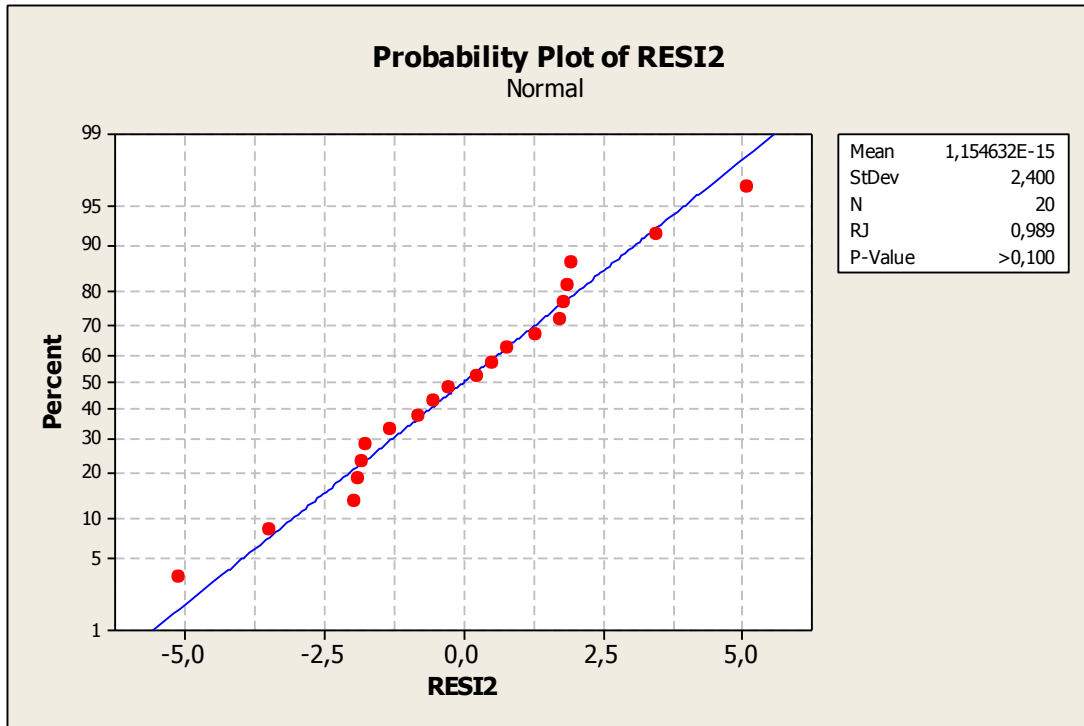
Αποτελέσματα στατιστικού ελέγχου για την κανονικότητα και την ομοιογένεια των διακυμάνσεων.



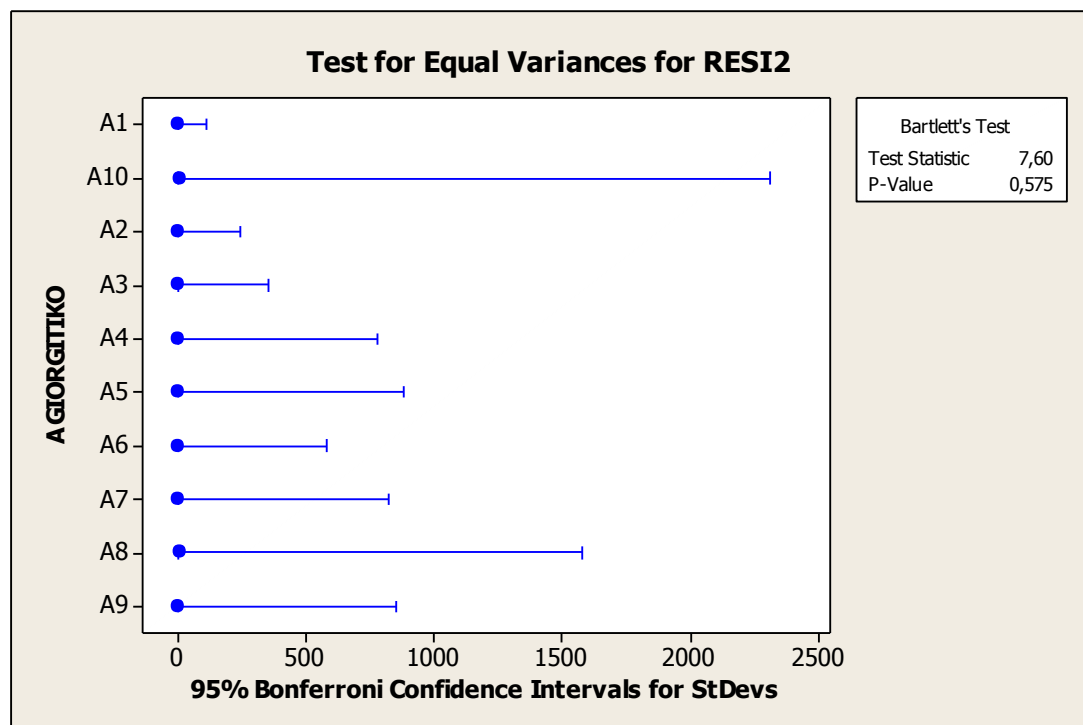
Σχήμα 1. Ποσοστό αναστολής της οξείδωσης σε δείγματα κρασιού «Αγιωργίτικο» χωρίς αραίωση (Έλεγχος κανονικότητας)



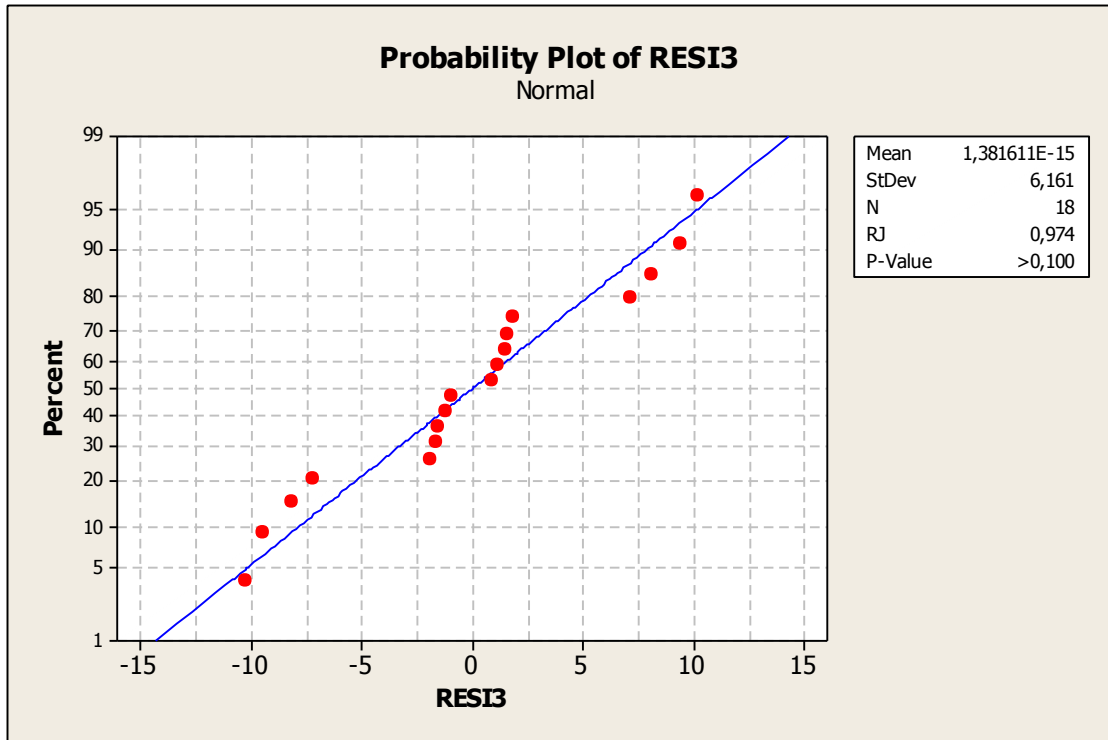
Σχήμα 2. Ποσοστό αναστολής της οξείδωσης σε δείγματα κρασιού «Αγιωργίτικο» χωρίς αραίωση (Έλεγχος ομοιογένειας διακυμάνσεων)



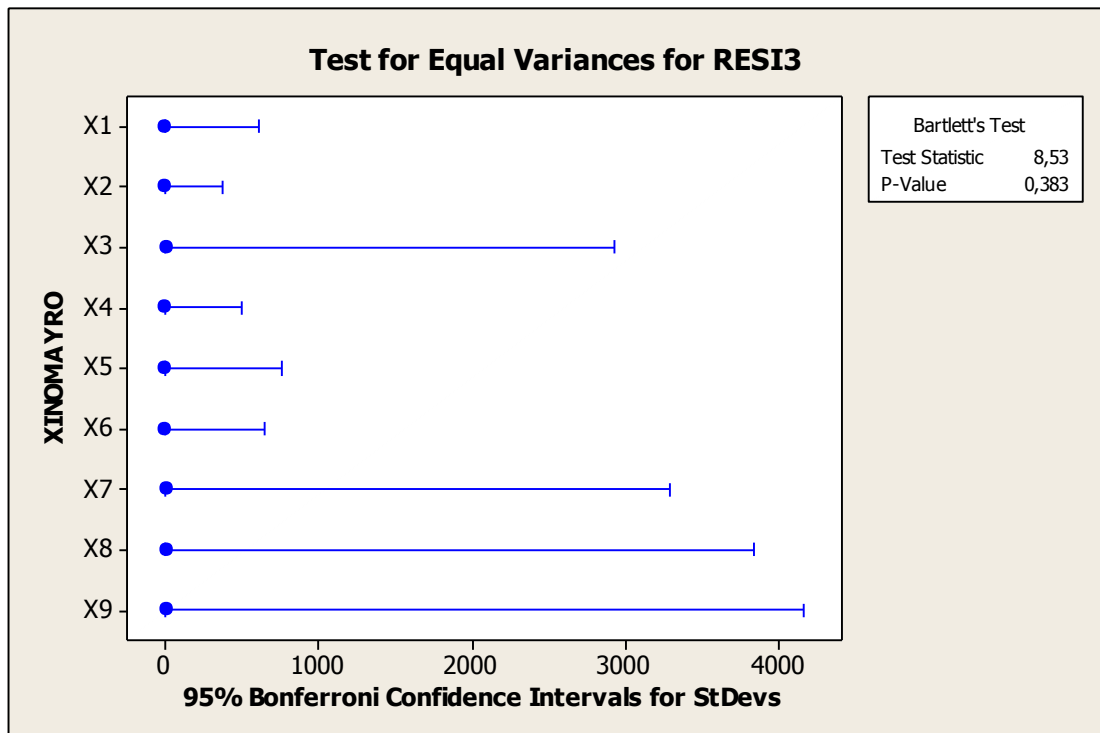
Σχήμα 3. Ποσοστό αναστολής της οξείδωσης σε δείγματα κρασιού «Αγιωργίτικο» με αραίωση 1:10 (Έλεγχος κανονικότητας)



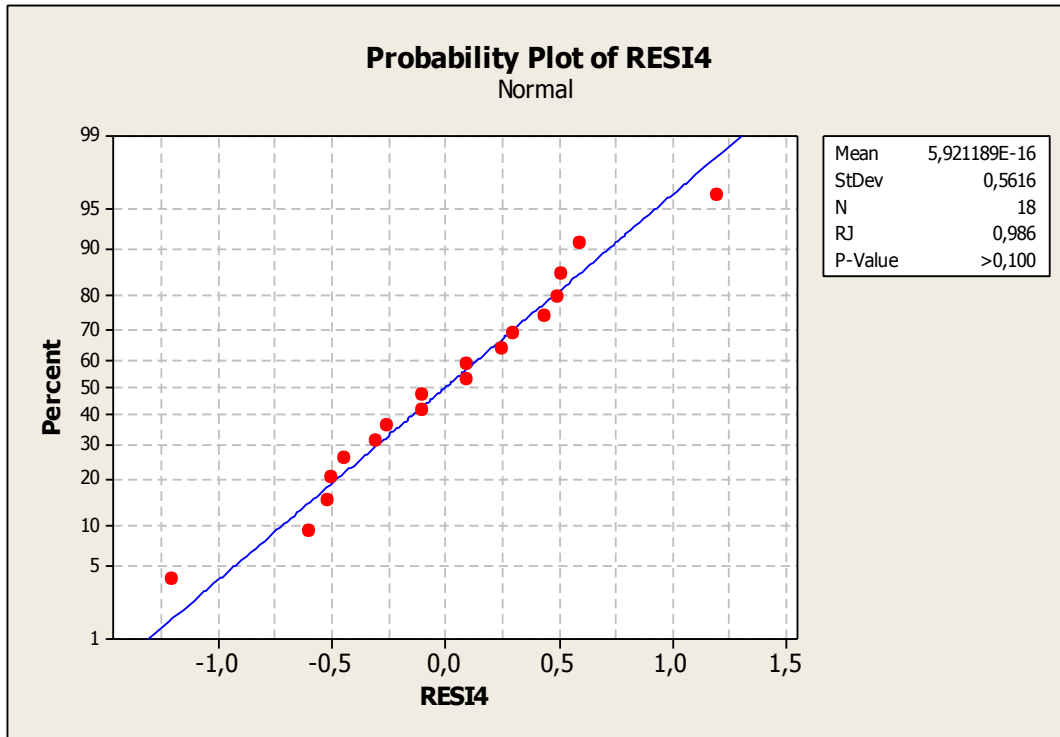
Σχήμα 4. Ποσοστό αναστολής της οξείδωσης σε δείγματα κρασιού «Αγιωργίτικο» με αραίωση 1:10 (Έλεγχος ομοιογένειας διακυμάνσεων)



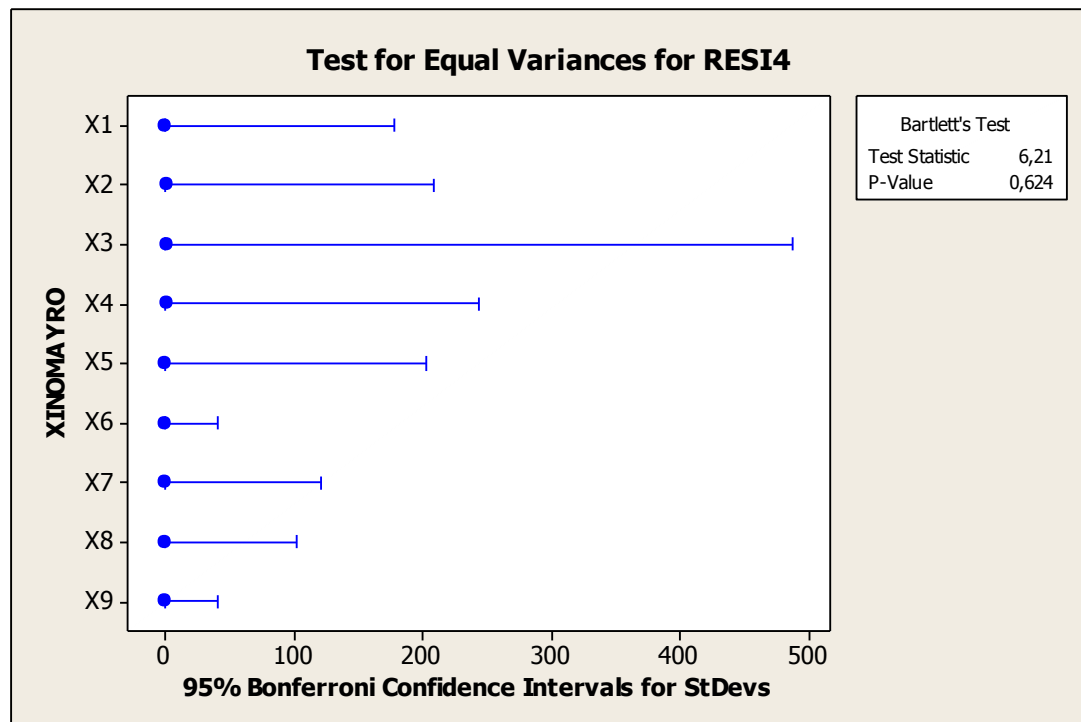
Σχήμα 5. Ποσοστό αναστολής της οξείδωσης σε δείγματα κρασιού «Ξινόμαυρο» χωρίς αραίωση (Έλεγχος κανονικότητας)



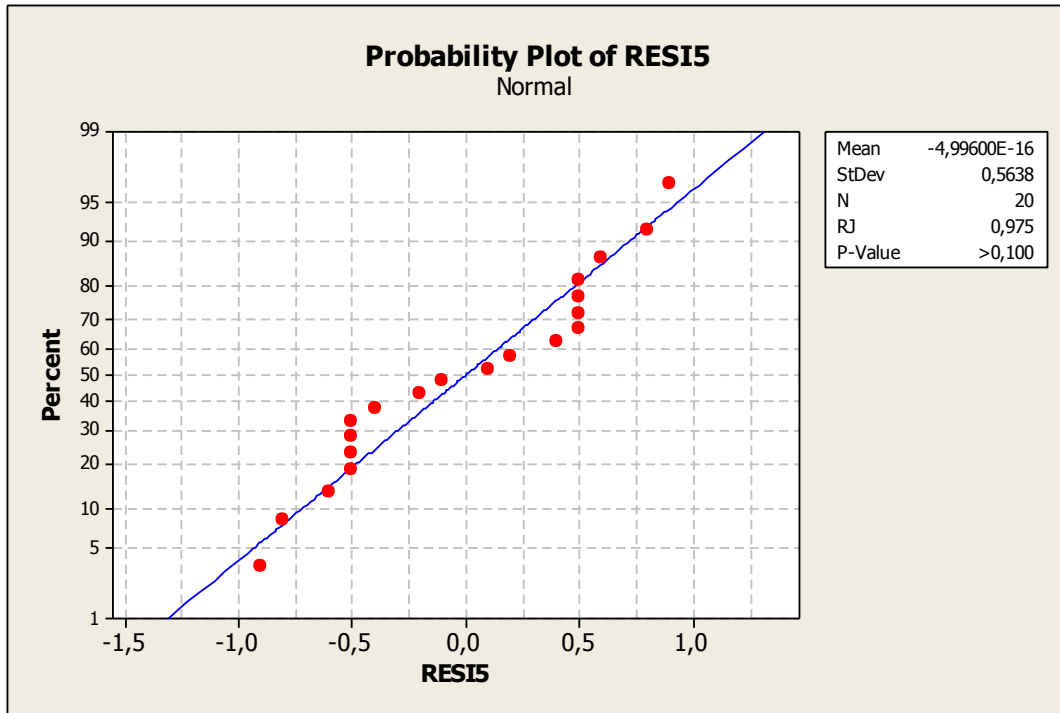
Σχήμα 6. Ποσοστό αναστολής της οξείδωσης σε δείγματα κρασιού «Ξινόμαυρο» χωρίς αραίωση (Έλεγχος ομοιογένειας διακυμάνσεων)



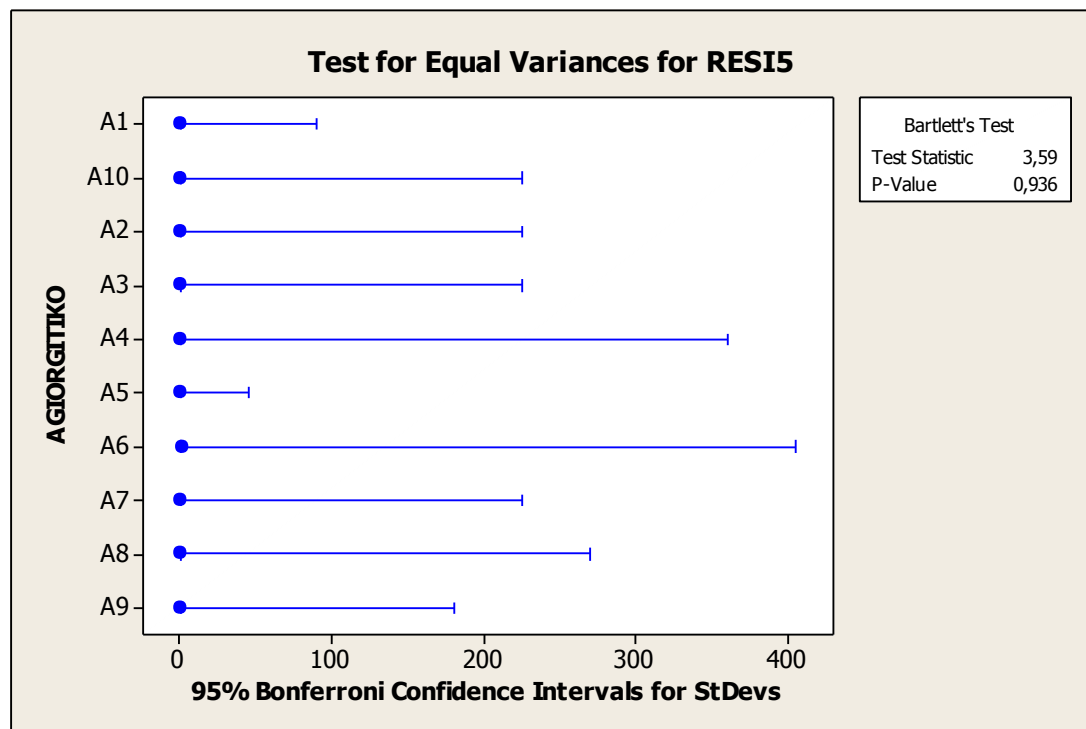
Σχήμα 7. Ποσοστό αναστολής της οξείδωσης σε δείγματα κρασιού «Ξινόμαυρο» με αραιώση 1:10 (Έλεγχος κανονικότητας)



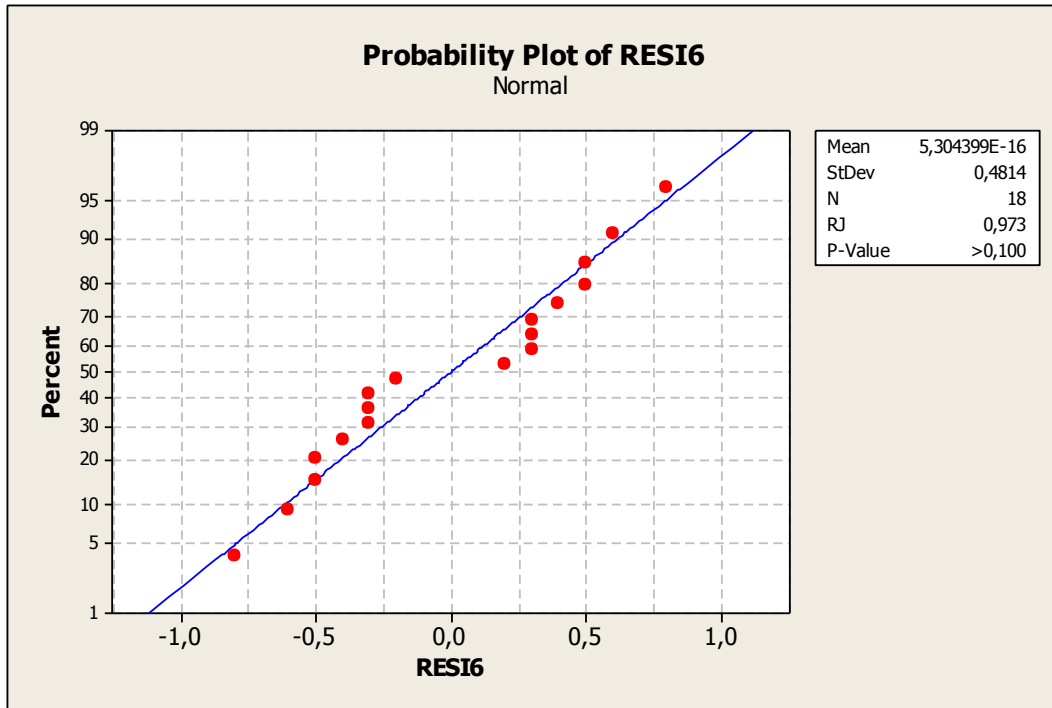
Σχήμα 8. Ποσοστό αναστολής της οξείδωσης σε δείγματα κρασιού «Ξινόμαυρο» με αραιώση 1:10 (Έλεγχος ομοιογένειας διακυμάνσεων)



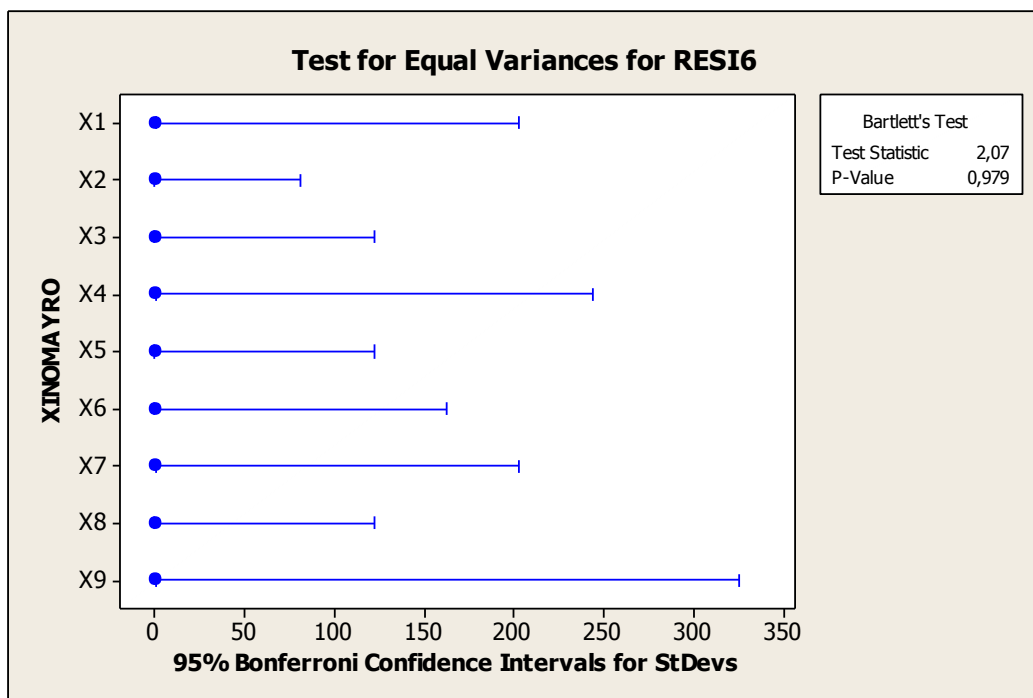
Σχήμα 9. Ποσοστό σχηματισμού θρόμβου σε δείγματα κρασιού «Αγιωργίτικο» (Έλεγχος κανονικότητας)



Σχήμα 10. Ποσοστό σχηματισμού θρόμβου σε δείγματα κρασιού «Αγιωργίτικο» (Έλεγχος ομοιογένειας διακυμάνσεων)



Σχήμα 11. Ποσοστό σχηματισμού θρόμβου σε δείγματα κρασιού «Ξινόμαυρο» (Έλεγχος κανονικότητας)



Σχήμα 12. Ποσοστό σχηματισμού θρόμβου σε δείγματα κρασιού «Ξινόμαυρο» (Έλεγχος ομοιογένειας διακυμάνσεων)