



Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης  
Σχολή Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής

**Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων**

ΑΤΕΙ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΘΕΜΑ:

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΚΑΙ  
ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΕ ΛΕΥΚΑ ΚΡΑΣΙΑ ΜΕ ΤΗ  
ΜΕΘΟΔΟ ABTS, DRPH & FOLIN-CIOCALTEU



**«οίνος ευφραίνει καρδίαν ανθρώπου»**

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ : ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΟΜΑΔΑ : ΜΠΑΣΙΟΥΡΑΣ ΣΤΥΛΙΑΝΟΣ  
ΠΑΠΑΘΑΝΑΣΟΠΟΥΛΟΥ ΑΘΑΝΑΣΙΑ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ, ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2010

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στη παρούσα πτυχιακή εργασία μελετάται η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών συστατικών με τη μέθοδο του δείκτη Folin-Ciocalteu και η αντιοξειδωτική ικανότητα με τις μεθόδους ABTS (αντιδραστήριο 2,2 azinobis-3-ethylbenzothiaziline-6-sulfonate) και DPPH σε δείγματα λευκών κρασιών, της ποικιλίας Ασύρτικο. Στα δείγματα προστέθηκε υγρό άζωτο για την αποφυγή της οξειδωσης τους και εν συνεχεία τοποθετηθήκαν σε ψυγείο. Κατόπιν προσδιορίστηκαν τα ολικά φαινολικά και η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων. Διαπιστώθηκε η ικανοποιητική, βάση βιβλιογραφίας, παρουσία αντιοξειδωτικών στα δείγματα μας, αλλά και η διαφορετικότητα που παρουσιάζουν οι μέθοδοι μεταξύ τους

Με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος Minitab απεικονίζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις συγκρίσεις μεταξύ των μεθόδων.

Οι συγκρίσεις έγιναν με την χρήση της one-way ANOVA, τα 95% όρια εμπιστοσύνης και της γραμμικής συσχέτισης μεταξύ των τριών μεθόδων.

# Περιεχόμενα

<b>1.ΕΙΣΑΣΩΓΗ</b> .....	<b>1</b>
<b>2.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ</b> .....	<b>2</b>
2.1.ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΟΙΝΟ.....	2
2.1.1.ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ.....	2
2.1.2.ΟΙΝΟΠΟΙΙΑ.....	4
2.1.3.ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ .....	6
2.1.4.ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΚΡΑΣΙΩΝ .....	7
2.2.ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ .....	8
2.2.1.ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ.....	8
2.2.2. <i>ΒΛΑΒΕΣ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ ΟΙ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ</i> .....	11
2.3.ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ .....	14
2.3.1.ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ.....	16
2.3.2.ΔΡΑΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ .....	17
2.3.3.ΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΤΟΥ ΟΙΝΟΥ .....	19
2.3.4.ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ , ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ.....	25
2.3.5.ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ.....	26
2.4.ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ –ΟΡΑΤΟΥ.....	28
2.4.1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	28
2.4.2.ΝΟΜΟΣ ΤΩΝ LAMBERT-BEER.....	29
2.4.3.ΦΑΣΜΑΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΩΣ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ-ΟΡΑΤΟΥ .....	31
2.4.4.ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ.....	32
2.4.5. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑΣ UV-VIS .....	35
<b>3.ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ</b> .....	<b>37</b>
<b>4.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</b> .....	<b>38</b>
4.1.ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΚΡΑΣΙΟΥ .....	38
4.2.ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ .....	39

4.3.ΟΡΓΑΝΑ.....	39
4.4.ΣΚΕΥΗ.....	39
4.5.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ .....	40
4.5.1.ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ (FOLIN-CIOCALTEU) .....	40
4.5.1.1.ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ.....	41
4.5.1.2.ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΠΡΟΤΥΠΗΣ ΚΑΜΠΥΛΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ .....	42
4.5.1.3.ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	43
4.5.2.ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ – ΜΕΘΟΔΟΣ ABTS .....	44
4.5.2.1.ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ.....	45
4.5.2.2.ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΠΡΟΤΥΠΗΣ ΚΑΜΠΥΛΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ .....	45
4.5.2.3.ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	46
4.5.3.ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ –ΜΕΘΟΔΟΣ DRPH.....	47
4.5.3.1.ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ.....	48
4.5.3.2.ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΠΡΟΤΥΠΗΣ ΚΑΜΠΥΛΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ .....	48
4.5.3.3.ΔΙΑΔΙΑΚΑΣΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ .....	49
<b>5.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>50</b>
5.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	50
5.1.1.ΠΡΟΤΥΠΗ ΚΑΜΠΥΛΗ FOLIN-CIOCALTEU.....	50
5.1.2.ΠΡΟΤΥΠΗ ΚΑΜΠΥΛΗ ABTS .....	51
5.1.3.ΠΡΟΤΥΠΗ ΚΑΜΠΥΛΗ DRPH .....	52
5.1.4.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	53
5.1.4.1.ΜΕΘΟΔΟΣ FOLIN-CIOCALTEU .....	53
5.1.4.2.ΜΕΘΟΔΟΣ ABTS.....	54
5.1.4.3.ΜΕΘΟΔΟΣ DRPH .....	55
5.1.5.ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ .....	56
5.1.5.1.ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΝΟΝΙΚΟΤΗΤΑΣ.....	56

5.1.5.2.ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΜΟΙΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΕΩΝ.....	56
5.1.5.3.ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΝΟΝΑ.....	57
5.1.5.3.1.ΑΒΤS.....	57
5.1.5.3.2.ΔΡΡΗ.....	58
5.1.5.3.3. FOLIN-CIOCALTEU.....	59
5.1.5.4.ΓΡΑΜΜΙΚΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ.....	60
5.1.5.4.1.ΑΒΤS-FOLIN, ΔΡΡΗ-FOLIN.....	60
<b>6.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>61</b>
<b>8.ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ.....</b>	<b>62</b>
<b>9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>63</b>
<b>10.ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....</b>	<b>66</b>

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στις αρχές τις δεκαετίας του '60, ξεκίνησε μια έρευνα της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας, η οποία έδειξε ότι άνθρωποι που ζούσαν στις μεσογειακές χώρες και κυρίως στην Ελλάδα, εμφάνιζαν τα μικρότερα ποσοστά θνησιμότητας από καρκίνο και στεφανιαία νόσο, λόγω του ότι η Μεσογειακή Διατροφή, η οποία περιλαμβάνει δύο βασικά συστατικά: το ελαιόλαδο που είναι η κύρια πηγή λίπους και το κρασί, μειώνει τον κίνδυνο της αρτηριοσκλήρυνσης, ελαττώνει τη συγκέντρωση της γλυκόζης, της ινσουλίνης και της κακής χοληστερόλης, προστατεύει από την πτώση των εγκεφαλικών λειτουργιών, την απώλεια μνήμης και ασθένειες που σχετίζονται με το γήρας, μειώνει την αρτηριακή πίεση. Τέλος οι κάτοικοι αυτοί είχαν το μεγαλύτερο μέσο όρο ζωής, σε σχέση με τους κατοίκους των άλλων χωρών.

Οι σύγχρονες έρευνες διαπιστώσαν ότι οι ελεύθερες ρίζες είναι η αιτία όλων των παραπάνω παθήσεων. Το κρασί περιέχει αντιοξειδωτικές ουσίες, οι οποίες είναι η κύρια πηγή εξουδετέρωσης των ελεύθερων ριζών.

Στην παρούσα εργασία ο σκοπός της ερευνάς μας είναι ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης του κρασιού με τις μεθόδους ABTS & DPPH και των φαινολικών ενώσεων με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.

## **2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ**

### **2.1. ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΟΙΝΟ**

Σύμφωνα με την Ελληνική Νομοθεσία, «Οίνος καλείται το ποτό που προέρχεται αποκλειστικά από ολική ή μερική αλκοολική ζύμωση νωπών σταφυλιών ή γλεύκους εν νωπών σταφυλιών». Ο ίδιος ορισμός με κάποιες επιπλέον διευκρινήσεις εγκρίνεται από την νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης «Οίνος ή κρασί καλείται το προϊόν που παράγεται αποκλειστικά με αλκοολική ζύμωση, ολική ή μερική, νωπών σταφυλιών, σπασμένων ή όχι γλεύκους σταφυλιών». (Κουράκου., 1998)

#### **2.1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ**

##### **Λευκό κρασί**

Η διαδικασία της αμπελουργίας εικάζεται πως έχει τις ρίζες της στην αγροτική επανάσταση και τη μόνιμη εγκατάσταση πληθυσμών με σκοπό την καλλιέργεια, χρονολογείται δηλαδή γύρω στο 5000 π.Χ. Από τους πρώτους γνωστούς αμπελοκαλλιεργητές θεωρούνται οι αρχαίοι Πέρσες, οι Σημιτικοί λαοί και οι Ασσύριοι. 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 αναμειγνύοντας το με νερό, σε αναλογία συνήθως 1:3 (ένα μέρος οίνου προς τρία μέρη νερού). Διέθεταν ειδικά σκεύη τόσο για την ανάμειξη (κρατήρες)

όσο και για την ψύξη του. 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 αψίνθου 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 πιθάκια, σφραγισμένα με γύψο και ρετσίνι. 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. Σε αρκετές πόλεις υπήρχαν ειδικοί νόμοι ώστε να εξασφαλίζεται η ποιότητα του κρασιού, αλλά και ενάντια στον ανταγωνισμό και τις εισαγωγές. Χαρακτηριστικότερο 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 Δένθις (ίσως το αρχαιότερο κρασί με ονομασία προέλευσης), που παρήγετο στην Δενθάλιατιδα Χώρα (σημερινή περιοχή Αλαγονίας). Όπως αναφέρει ο Αλκμάν, το περίφημο κρασί Δένθις, ήταν άπυρος οίνος ανθοσμίας (Αλκμάν παρ' Αθηναίω και Ησύχιος: I.31).

Οι Ρωμαίοι ήρθαν σε επαφή με το κρασί από τους Έλληνες αποίκους και τους γηγενείς Ετρούσκους και επιδόθηκαν επίσης στην αμπελοκαλλιέργεια. Με 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.

Στο 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.

Στη Δύση, την ίδια περίοδο, η τέχνη του κρασιού γνώρισε μεγάλη ανάπτυξη. Το 16ο 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).

## **2.1.2. ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ**

### **Ποικιλία σταφυλιού**

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 από την χρονική στιγμή της ωρίμανσης του σταφυλιού. Μετά την διαδικασία του τρύγου (συγκομιδής), ακολουθεί η γλευκοποίηση, 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

γλευκοποίηση, 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.

Στη συνέχεια ακολουθεί η τελική διαδικασία της ζύμωσης. Το οινόπνευμα που περιέχει το κρασί παράγεται από τα σάκχαρα του μούστου με την αντίδραση της αλκοολικής ζύμωσης, που επιτελείται από ειδικά ένζυμα, τις *ζυμάσες* των ζυμομυκήτων. Οι ζυμομύκητες υπάρχουν αδραντοποιημένοι στο φλοιό των σταφυλιών και καθώς έρχονται σε επαφή με το μούστο, πολλαπλασιάζονται και επιτελούν τη ζύμωση. Εκτός από 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* οينوποίηση, 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 παλιώνει, 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 οξειδωση 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 φθάνουν στην ποιοτική τους κορύφωση εντός μερικών χρόν

### 2.1.3. ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ 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 τη Γαλλία, την Ισπανία, την Ιταλία ή την Ελλάδα προσδιορίστηκαν κυρίως από το γεωγραφικό τόπο παραγωγής τους.

Σημαντικό διακριτικό κάθε κρασιού είναι και το χρώμα του. Τα κρασιά διακρίνονται γενικά σε **λευκά**, **κόκκινα** και **ροζέ**. Είναι λανθασμένη η γενικευμένη 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 της 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 ημέρα.

Τα κρασιά ταξινομούνται ακόμα με το έτος της 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 ("*ανθρακικό*") 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.

## 2.1.4. ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΚΡΑΣΙΩΝ

- Ποικιλίες που καλλιεργούνται διεθνώς:

### Κόκκινα κρασιά

- *Barolo* - Ιταλία
- *Beaujolais* - Γαλλία
- *Bordeaux* - Γαλλία
- *Burgundy* - Γαλλία
- *Cabernet Sauvignon* - Γαλλία, Καλιφόρνια, Αυστραλία, Μολδαβία, Ελλάδα
- *Carmenere* - Χιλή
- *Chianti* - Ιταλία
- *Merlot* - Γαλλία, Καλιφόρνια, Ουάσινγκτον, Χιλή, Ελλάδα

### Λευκά κρασιά

- *Chardonnay* - Γαλλία, Καλιφόρνια, Αυστραλία, Ελλάδα
- *Chablis* - Γαλλία
- *Frascati* - Ιταλία
- *Gewurztraminer* - Γαλλία (Αλσατία), Γερμανία, Σλοβακία
- *Liebfraumilch* - Γερμανία
- *Pinot Gris/Pinot Grigio* - Γαλλία, Ιταλία, Όρεγκον
- *Pouilly-Fuissé* - Γαλλία
- *Riesling* - Γαλλία (Αλσατία), Γερμανία
- *Sauvignon Blanc* - Γαλλία, Καλιφόρνια, Νέα Ζηλανδία,

### Αφρώδης οίνος

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

- *Pinot Noir* - Ελλάδα  
Γαλλία,  
Καλιφόρνια,  
Όρεγκον
- *Rioja* - Ισπανία
- *Valpolicella* -  
Ιταλία
- *Zinfandel* -  
Καλιφόρνια

Στην Ελλάδα, κύριες αμπελοοινικές 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, στα Δωδεκάνησα και στη Θεσσαλία.

## **2.2. ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ**

### **2.2.1. 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 διευκρινισθούν τα συστήματα που εμπλέκονται στη δημιουργία των ελεύθερων ριζών καθώς και για τα τρόφιμα και τις ουσίες που τις προκαλούν ή τις αναστέλλουν. (Singh et al., 1998)

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. Άτομα ή μόρια με ασύζευκτα ηλεκτρόνια ονομάζονται **παραμαγνητικά**, ενώ όταν δεν διαθέτουν τέτοια ηλεκτρόνια, διαμαγνητικά. 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 και ανεξάρτητη παρουσία λέγεται ελεύθερη ρίζα** και συμμετέχει πολύ εύκολα σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής με γειτονικά μόρια. (Rosen et al., 1999) Υπάρχουν και οι διρίζες όπου δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια βρίσκονται σε κάποια απόσταση μεταξύ τους αλλά στο ίδιο μόριο. (Schlesier et al., 2002)

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 μία 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. (Schlesier et al., 2002)

Μια ποικιλία ελευθέρων ριζών σχηματίζεται καθημερινά στον οργανισμό μας, από αιτίες όπως υψηλή συγκέντρωση οξυγόνου, έκθεση σε ουσίες όπως το όζον, η αιθαλομίχλη, χημικά και φάρμακα καθώς και κατά τη διάρκεια φυσιολογικών λειτουργιών. (Γαλάρης, 2001)

Οι πλέον σημαντικές ελεύθερες ρίζες είναι μοριακά είδη με κέντρο το οξυγόνο και μερικές φορές το άζωτο ή τον άνθρακα. Το ίδιο το οξυγόνο που αναπνέουμε αποτελεί μία 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)**. (Βαλαβανίδης, 2006)

Πίνακας 1. Δραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου (Groff and Gropper, 2000)

ΕΝΩΣΗ	ΟΝΟΜΑ
<i>Ελεύθερες Ρίζες</i>	
$O_2^{\bullet -}$	ανιόν σουπεροξειδίου
$HO_2^{\bullet}$	υδροϋπεροξειδική ρίζα
$OH^{\bullet}$	ρίζα υδροξυλίου
$RO^{\bullet}$	ρίζα αλκοξειδίου
$ROO^{\bullet}$	ρίζα υπεροξειδίου
<i>Μη Ελεύθερες Ρίζες</i>	
$H_2O_2$	υπεροξείδιο του υδρογόνου
$ROOH$	οργανικά υπεροξείδια
$O_2^{\cdot}$	μονήρες οξυγόνο
$O_3$	όζον
$HCIO$	υποχλωριώδες οξύ
<i>Δραστικές Μορφές Αζώτου</i>	
$NO_2^{\bullet}$ και $NO^{\bullet}$	διοξειδίο και μονοξειδίο του αζώτου
$ONOO^-$	υπεροξυνιτρώδες

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 της καθημερινότητας, η σωματική κόπωση, η κακή διατροφή, τα

χημικά πρόσθετα των τροφών, η έκθεση στην έντονη ηλιακή ακτινοβολία καθώς και η λήψη φαρμάκων.

Ελεύθερες ρίζες μπορούν να προκύψουν από:

- Υπεριώδεις και ιονίζουσες ακτινοβολίες
- Ραδιόλυση του H<sub>2</sub>O
- Φαγοκύτωση
- Αντιδράσεις που καταλύονται από την οξειδάση της ξανθίνης
- Αναπνευστική αλυσίδα στα μιτοχόνδρια
- Μεταβολισμός κατεχολαμινών
- Οξειδωση αιμοσφαιρίνης
- Οξειδοαναγωγική ανακύκλωση
- Αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων σε ενδοπλασματικό δίκτυο και πυρήνα
- Μεταβολισμός εικοσανοειδών

(Groff and Gropper, 2000)

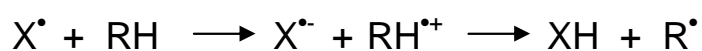
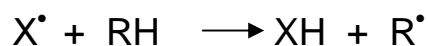
### **2.2.2. ΒΛΑΒΕΣ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ ΟΙ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ**

Οι ελεύθερες ρίζες είναι υψηλής δραστηριότητας 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 οξειδωση.

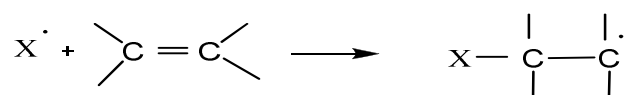


Οι αντιδράσεις μέσω των οποίων δρουν οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να χωριστούν στις ακόλουθες κατηγορίες:

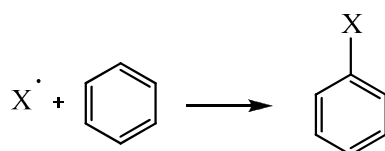
- Αντιδράσεις μεταφοράς ατόμου οξυγόνου



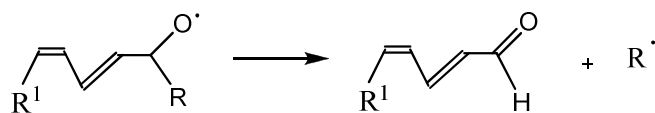
- Αντιδράσεις προσθήκης



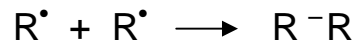
- Αντιδράσεις αρωματικής υποκατάστασης



- Αντιδράσεις β-διαίρεσης

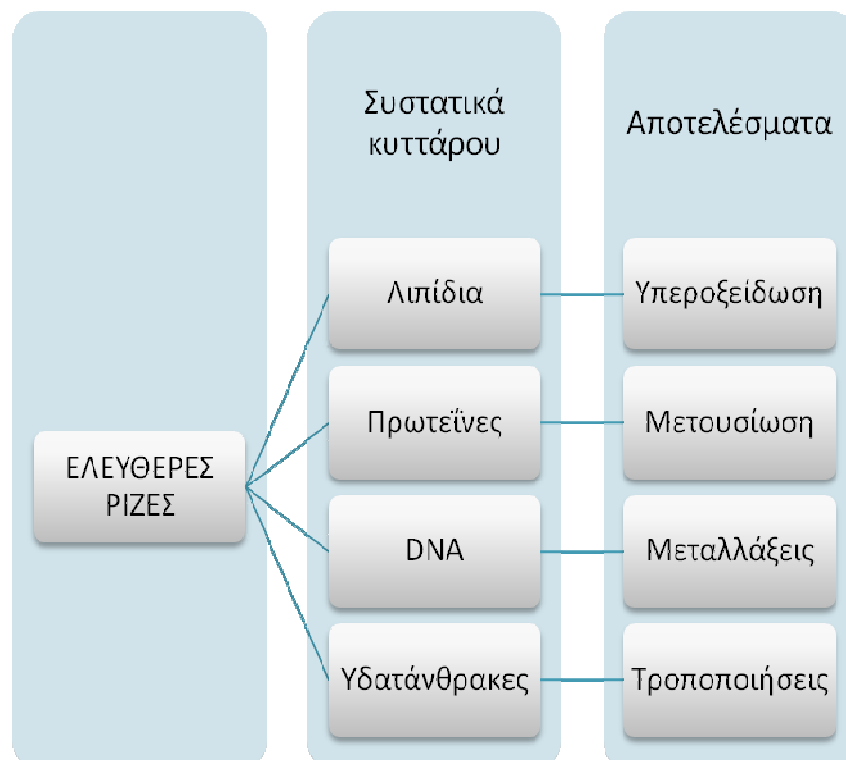


➤ Αντιδράσεις σύζευξης



(Papas, 1999)

Η αυξημένη συγκέντρωση ελευθέρων ριζών σχετίζεται με την ανάπτυξη και ταχύτατη 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 διάφορων ασθενειών, όπως φαίνεται στον ακόλουθο πίνακα 2:



Πίνακας 2. Συμβολή ελεύθερων ριζών στην ανάπτυξη ασθενειών

(Γαλάρης, 2001)

## **2.3. ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ**

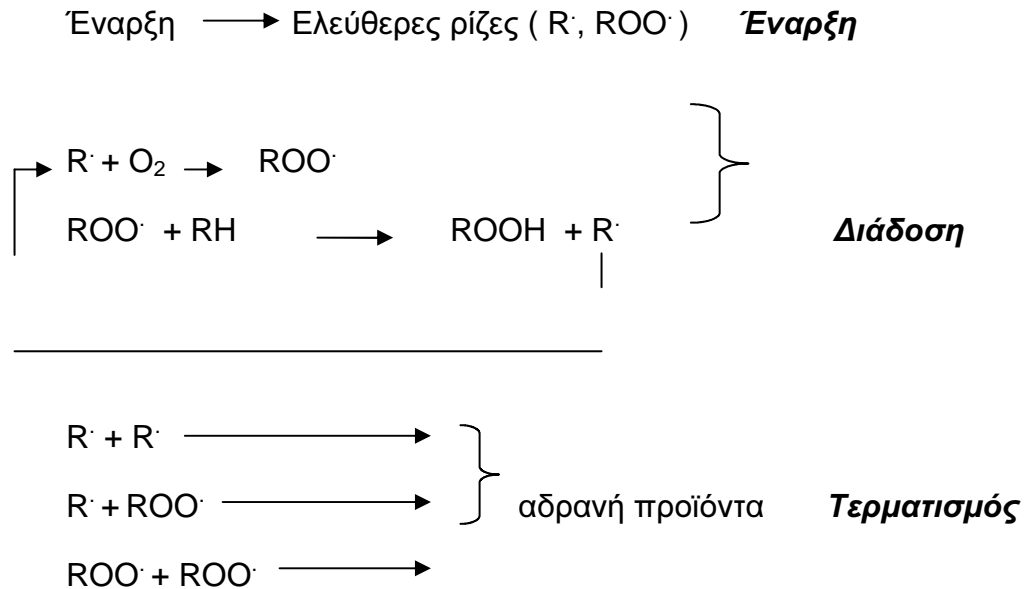
Τα αντιοξειδωτικά είναι ουσίες που εμποδίζουν ή επιβραδύνουν την οξείδωση των συστατικών των τροφίμων η οποία προκαλείται από το ατμοσφαιρικό οξυγόνο. Τα περισσότερα αντιοξειδωτικά είναι αρωματικές ενώσεις, που διαθέτουν μια τουλάχιστον ελεύθερη υδροξυλική ή αμινική ομάδα. Οι σημαντικότερες ενώσεις που 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. (Φουρτουνόπουλος., 2004)

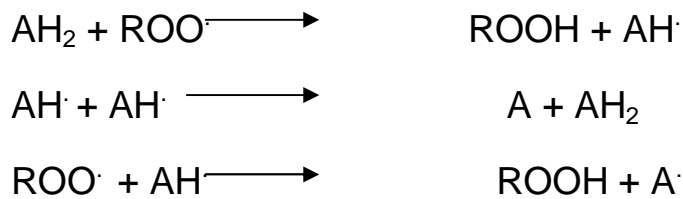
Τα αντιοξειδωτικά ανάλογα με τον τρόπο δράσης τους, μπορούν να χωριστούν στις εξής κατηγορίες:

- ❖ Πρωτογενή αντιοξειδωτικά: Είναι συνήθως φαινολικές ενώσεις, που οδηγούν στον τερματισμό των αλυσιδωτών αντιδράσεων ελεύθερων ριζών. Στις αντιδράσεις αυτές παίζουν το ρόλο του δότη ηλεκτρονίων. Παραδείγματα πρωτογενών αντιοξειδωτικών αποτελούν οι φυσικές και συνθετικές τοκοφερόλες, το BHA (βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη), το BHT (βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο), το TBHQ (tetr-βουτυλο-υδροκινόνη), κ.α.

Συνοπτικά, ο μηχανισμός με τον οποίο δρουν τα φαινολικά αντιοξειδωτικά δίνεται με τις παρακάτω αντιδράσεις:



Σχήμα 1. Η δράση των αντιοξειδωτικών στο μηχανισμό της οξειδωσης



Όπου:

$AH_2$  = αντιοξειδωτική ουσία,  $ROOH$  = υπεροξειδίο

$ROO^\cdot$  = ελεύθερη ρίζα,  $AH^\cdot$  = ελεύθερη ρίζα του αντιοξειδωτικού

(Κυριτσάκης et al, 1998).

- ❖ Δευτερογενή αντιοξειδωτικά: Η δράση τους επικεντρώνεται στη διάσπαση των υδροϋπεροξειδίων των λιπιδίων (προϊόντα οξειδωσης), προς σταθερά τελικά προϊόντα, που δεν λαμβάνουν μέρος σε αλυσιδωτές αντιδράσεις. Τέτοια αντιοξειδωτικά είναι το διαρυλο-θειοδιπροπιονικό οξύ και ο αντίστοιχος εστέρας (Μπόσκος, 1997).
- ❖ Ενώσεις που απομακρύνουν το οξυγόνο: Τα αντιοξειδωτικά αυτά αντιδρούν με το οξυγόνο και σχηματίζοντας ενώσεις με αυτό, εμποδίζουν την αντίδραση με τα λιπίδια που αποτελεί έναρξη της αυτοοξειδωσης. Την ικανότητα αυτή παρουσιάζουν αντιοξειδωτικά όπως το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), ο παλμιτικός εστέρας, το ερυθροβικό οξύ και τα άλατα του με νάτριο, κ.α. (Pokorny et al., 2001).
- ❖ Ενώσεις που δημιουργούν ενεργειακά σύμπλοκα (συνεργιστικές ενώσεις): Οι ενώσεις που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία σχηματίζουν χημικά σύμπλοκα με μεταλλικά ιόντα, όπως του χαλκού και του σιδήρου. Με τον τρόπο αυτό δεσμεύουν σωματίδια που δρουν ως εκκινητές της οξειδωσης. Παραδείγματα αποτελούν το κιτρικό οξύ, τα αμινοξέα, το αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA), κ.α. ωστόσο για να εκδηλωθεί η αντιοξειδωτική τους δράση, πρέπει να χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με άλλο αντιοξειδωτικό. (Roberfroid et al., 1990).

### **2.3.1. 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.

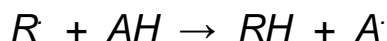
Συνθετικά αντιοξειδωτικά που επιτρέπονται ως πρόσθετα τροφίμων είναι το BHT, το BHA, το Trolox, το PG το TBHQ. (Pokorny et al., 2001)

- ❖ Φυσικά αντιοξειδωτικά: η πλειοψηφία των φυσικών αντιοξειδωτικών είναι φαινολικές ενώσεις οι οποίες χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: τις τοκοφερόλες, τα φλαβονοειδή, και τα φαινολικά οξέα. (Pokorny et al., 2001)

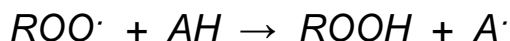
### **2.3.2. ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ**

Η δράση των αντιοξειδωτικών στηρίζεται στην απομάκρυνση ή την εξουδετέρωση των ROO<sup>·</sup> και R<sup>·</sup> ελεύθερων ριζών και σε ορισμένες περιπτώσεις στην πλήρη αναστολή της οξειδωσης (στα σουλφονικά, στη διάσπαση από τα υπεροξειδία). Επειδή τα περισσότερα αντιοξειδωτικά δημιουργούν αλυσιδωτές αντιδράσεις, επιταχύνουν την παραγωγή ελεύθερων ριζών ROO και R, με τη δημιουργία μιας ανενεργού και αντιοξειδωτικής ελεύθερης ρίζας (Roberfroid et al., 1990).

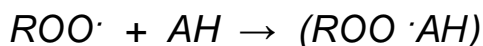
Η απενεργοποίηση και η αναστολή της δράσης της ελεύθερης ρίζας συντελεί στην άρση της αλυσιδωτής αντίδρασης και στην παραγωγή σταθερών προϊόντων, μέσω διμερισμού. Η άμεση αντίδραση του αντιοξειδωτικού (AH) με ένα υπόστρωμα ελεύθερης ρίζας R, δίνεται από την αντίδραση:



Φαίνεται να μην έχει την παραμικρή σχέση με την αντίδραση του αντιοξειδωτικού με την ελεύθερη ρίζα ενός υπεροξειδίου ROO·:



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 ελεύθερων υπεροξειδίων ριζών (Μπόσκος, 1997).



Επιγραμματικά αποδεικνύεται, πως όλοι οι αναστολείς της οξειδωσης πρέπει αφ ενός να είναι ενεργοί, ώστε να αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες και να διασπύσουν 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 (Μπόσκος, 1997).

Όλοι αυτοί οι παράγοντες καθιστούν ολοφάνερο πως, η προσθήκη των αντιοξειδωτικών πρέπει να γίνεται πολύ πριν από το στάδιο της προαγωγής (διάδοση). Αν όμως στο υπόστρωμα αυξηθεί η συγκέντρωση των ελεύθερων ριζών, τότε το προστιθέμενο αντιοξειδωτικό ανταποκρίνεται γρήγορα και θα

καταναλωθεί, οπότε είναι πλέον αδύνατον να επιβραδυνθεί με παρεμβολή η πρόοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης (Μπόσκος, 1997).

### **2.3.3. 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. κολλάρισμά). Προέρχονται από το φλοιό και τα κουκούτσια των σταφυλιών και τους βλαστούς του κλήματος.

Το σύνολο του φαινολικού περιεχομένου αποτελείται από το άθροισμα των ανθοκυανινών, των φλαβονολών, των παραγώγων του υδροξυκινναμικού οξέος και μονομερών της γλαβαν-3-όλης. Το σύνολο των φαινολικών οξέων, ελεύθερων ή με μορφή ενώσεων, φτάνει τα 100 – 150 mg/L στους ερυθρούς οίνους, ενώ στους λευκούς περιορίζεται 10 – 15 mg/L.

#### **Φαινόλες**

Τα φαινολικά είναι σημαντικά για τον οίνο, γιατί έχουν αντιβιοτικές και αντισηπτικές ιδιότητες (βενζοϊκό οξύ, σαλικυλικό οξύ ) και χρησιμοποιούνται για τη συντήρηση τροφίμων. Ενδέχεται



τα οξέα αυτά να παίζουν κάποιο ρόλο στη μικροβιολογική κατάσταση του οίνου, έναντι κυρίως των βακτηρίων. (Σουφλερός, 1997)

Μερικά από τα φαινολικά, κυρίως εκείνα που έχουν 2 φαινολικά –OH σε θέση ορθό-(καφεικό και γαλλικό), έχουν την ιδιότητα να οξειδώνονται εύκολα και να οδηγούν σε θέση κινόνης. Οι κινόνες έχουν φαιά απόχρωση και θεωρείται ότι παίζουν κάποιο ρόλο στην οξειδωτική μετατροπή του χρώματος των λευκών γλευκών και οίνων σε καστανό. Κατά τη διάρκεια της γήρανσης τα φαινολικά οξέα υδρολύονται και περνούν σε ελεύθερη μορφή.

Τα βενζοϊκά οξέα δε βρίσκονται ελεύθερα στο σταφύλι, αλλά με μορφή σύνθετων χημικών ενώσεων άγνωστης μέχρι τώρα δομής. Ωστόσο στις ενώσεις αυτές φαίνεται να συμμετέχουν και ανθοκυάνες. Μερική αποδόμηση των ανθοκυάνων με αλκοολική σαπωνοποίηση συντελεί στην εμφάνιση ελευθέρων βενζοϊκών οξέων. (Σουφλερός, 1997)

Έπειτα, τα παράγωγα του υδροξυκινναμικού οξέος δεν περιέχονται ελεύθερα στα σταφύλια και στους οίνους, αλλά με μορφή ενώσεων με τις ανθοκυάνες και με το τρυγικό οξύ, με το οποίο δίνουν τα παράγωγα, π- κουμαριλοτρυγικό, καφειλοτρυγικό και φαιρουλοτρυγικό.

Η τυροσόλη, η φαινυλοαιθανόλη και η τρυπταφόλη συμμετέχουν στη διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του οίνου.

Τέλος τα ερυθρά κρασιά περιέχουν φαινόλες σε σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις από τα λευκά κρασιά (πίνακας 1.). Εξαίρεση αποτελούν το γεντισικό και το φερουλικό οξύ. Σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις της τελευταίας ένωσης είναι χαρακτηριστικό του κρασιού Riesling. (Σουφλερός, 1997)

**Πίνακας 3. Φαινόλες σε λευκό και ερυθρό οίνο<sup>α</sup>**

<b>Ένωση</b>	<b>Λευκός οίνος</b>	<b>Ερυθρός οίνος</b>
<b>Γεντισικό οξύ</b>	<b>0,15 – 1,07</b>	<b>0,44 – 0,46</b>
<b>Βανιλλικό οξύ</b>	<b>0,09 – 0,38</b>	<b>2,3 – 3,7</b>
<b>Φερουλικό οξύ</b>	<b>0,05 – 4,40</b>	<b>0,05 – 2,9</b>
<b>π-Κουμαρικό οξύ</b>	<b>1,57 – 3,20</b>	<b>2,6 – 4,5</b>
<b>Καφειϊκό οξύ</b>	<b>1,50 - 5,20</b>	<b>3,15 – 13</b>
<b>Γαλλικό οξύ</b>	<b>0,50 – 2,80</b>	<b>13 – 30</b>
<b>cis - Ρεσβερατρόλη</b>	<b>&lt; 0,10</b>	<b>0,27 – 0,88</b>
<b>trans - Ρεσβερατρόλη<sup>β</sup></b>	<b>&lt;0,25</b>	<b>0,71 – 2,5</b>
<b>cis - Πολυδατίνη<sup>γ</sup></b>		<b>0,02 – 0,68</b>
<b>trans - Πολυδατίνη<sup>γ</sup></b>		<b>0,02 – 0,98</b>
<b>(+)- Κατεχίνη</b>	<b>3,8 – 4,20</b>	<b>60 – 213</b>
<b>(-)-Επικατεχίνη</b>	<b>1,7 – 3,8</b>	<b>25 – 82</b>
<b>Κουερσετίνη</b>		<b>0,5 – 2,6</b>

(Roussis I., 2008)

<sup>α</sup> Συγκέντρωση σε mg/l

<sup>β</sup> trans – 3', 4', 5 –τριυδροξυστιλβένιο

<sup>γ</sup> trans – 3', 4', 5 –τριυδροξυστιλβένιο – 3- β – D - γλυκοζίτης

## Οι φλαβονόλες

Στις φλαβονοειδείς φαινόλες περιλαμβάνονται οι φλαβονόλες που έχουν ανοιχτό κίτρινο χρώμα και αφθονούν στα κουκούτσια, οι φλαβονόλες-3 (κατεχίνες), που υπάρχουν κυρίως στη φλούδα και στα κουκούτσια και οι φλαβονοδιόλες 3,4 (λευκοανθοκυάνες ή προκυανιδίνες), που υπάρχουν στη φλούδα και κυρίως στα κουκούτσια.

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

## 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 φαινυλο – 2 βενζοπυριλίου, το μόριο του οποίου παρουσιάζει κάποια ιδιαιτερότητα. Η ιδιαιτερότητά του 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 φαινυλο -2 βενζοπυριλίου προκύπτουν οι διάφορες ανθοκυανίδες του σταφυλιού.

Η μαλβιδίνη είναι η σημαντικότερη από άποψη ποσότητας χρωστικής των ερυθρών σταφυλιών και γι αυτό ονομάζεται και οινιδίνη. Αντίθετα, η πελαργονιδίνη δεν περιέχεται καθόλου σε αυτά.

Οι χρωστικές που συναντιούνται στη φύση δεν είναι ανθοκυανιδίνες, αλλά ενώσεις αυτών με ένα ή δυο μόρια κάποιου σακχάρου και ονομάζονται ανθοκυανίνες (ή ανθοκυάνες ). Στις ανθοκυάνες των 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. (Σουφλερός, 1997)

### Ταννίνες

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. Επίσης η ιδιαίτερη στυφή γεύση ορισμένων οίνων οφείλεται στην παρουσία ορισμένων ταννινών (μοριακό βάρος: 500 – 3000). Οι “επιθετικές” αυτές ταννίνες έχουν την ιδιότητα να ενώνονται με τις πρωτεΐνες και να εξαφανίζονται, ενώ οι “μη επιθετικές” δεν ενώνονται με τις πρωτεΐνες και παραμένουν στον οίνο.

Ανάλογα με τη δομή των μορίων τους, οι ταννίνες διακρίνονται στις υδρολυμένες και στις συμπυκνωμένες. Οι υδρολυμένες ταννίνες αποτελούνται από ένα γλυκοσίδιο πάνω στο οποίο προσκολλούνται διάφορες φαινολικές ενώσεις, όπως το γαλλικό και το ελλαγικό οξύ. Επιπλέον, οι υδρολυμένες ταννίνες δεν περιέχονται στα σταφύλια αλλά είναι δυνατόν να βρεθούν σε οίνους, γιατί αποτελούν τις κύριες εμπορικές ταννίνες, που χρησιμοποιούνται στις διάφορες κατεργασίες αυτών.

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 (λευκοκιανιδίνη) . 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.

Η διαφορά που υπάρχει ανάμεσα στις κατεχίνες και στις λευκοκυανιδίνες οφείλεται στο γεγονός ότι οι πρώτες μετά από θέρμανση στους 100<sup>0</sup> C και σε όξινο περιβάλλον, μετατρέπονται κατά 100% σε φλοιοβένιο (προϊόν με καστανόμαυρο χρώμα), και οι δεύτερες μετατρέπονται κατά 80% σε φλοιοβένιο και κατά 20% σε κυανιδίνη, η οποία είναι μια ανθοκυάνη ερυθρού χρώματος. Στην τελευταία αντίδραση στηρίζεται ο ποσοτικός προσδιορισμός των ταννινών.

Οι ταννίνες των σταφυλιών βρίσκονται στα στερεά μέρη τους και παραλαμβάνονται είτε με εκχύλιση είτε με συμπύεση. 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.

Οι ταννίνες χαρακτηρίζονται για την αντιοξειδωτική τους δράση με την οποία προστατεύονται οι ερυθροί οίνοι από τις επιδράσεις του οξυγόνου. Επίσης διακρίνονται για τις ενώσεις που σχηματίζουν με το Fe, λόγω των 2 OH που βρίσκονται στη θέση ορθό- του πλάγιου δακτυλίου (κατεχολική θέση). Οι ενώσεις αυτές συμμετέχουν στο σιδηρικό θόλωμα των οίνων και στο οξειδωτικό μαύρισμα διαφόρων φρουτοχυμών που είναι ανεπιθύμητο. (Σουφλερός, 1997)

Από την ποικιλία των σταφυλιών, τις κλιματολογικές συνθήκες και το είδος της οينوποίησης εξαρτάται και η ανομοιογένεια της υφής των ταννινών. Οι ερυθροί οίνοι δεν αντέχουν στην παλαίωση. Η ύπαρξη μικρών μόνο μορίων οφείλεται στο σύντομο χρόνο εκχύλισης, που γι' αυτόν τον τύπο οίνων αποβλέπει περισσότερο στην παραλαβή χρώματος δηλαδή ανθοκυανών.

### **2.3.4. ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ ,ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ**

Σε κάθε βιολογικό σύστημα πρέπει να διατηρείται η ισορροπία μεταξύ του σχηματισμού και της απομάκρυνσης των ΔΕΟ. Έχει υπολογισθεί ότι περίπου 10.000 ελεύθερες ρίζες τη μέρα «Βομβαρδίζουν» κάθε κύτταρο μας. Η αύξηση των οξειδώσεων από τα ΔΕΟ οδηγεί τα κύτταρα σε μία κατάσταση που λέγεται **οξειδωτικό** στρες και είναι παράγοντας πρόκλησης ασθενειών. Λόγω της συνεχούς έκθεσης σε ΔΕΟ και για την πρόληψη του οξειδωτικού στρες, ο οργανισμός μας, όπως όλα τα φυτά και τα ζώα, έχει αναπτύξει για προστασία διάφορους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς στους οποίους παίρνουν μέρος αντιοξειδωτικές ουσίες. Γενικά χαρακτηρίζουμε ως **αντιοξειδωτική** ουσία κάθε ουσία η οποία βρίσκεται σε μικρές συγκεντρώσεις σε σύγκριση με το υπόστρωμα που οξειδώνεται και η οποία καθυστερεί σημαντικά ή αποτρέπει την οξείδωση του υποστρώματος αυτού. Τα αντιοξειδωτικά γενικά λειτουργούν με δύο τρόπους: (1) είτε παρεμποδίζουν τη δημιουργία ΔΕΟ, (2) είτε σταματούν τη διάδοση των ελεύθερων ριζών που προκαλείται από τις αλυσιδωτές αντιδράσεις. Επίσης είναι δυνατόν η παρουσία κάποιου αντιοξειδωτικού (για παράδειγμα της βιταμίνης C) να συμβάλλει στη διατήρηση της αντιοξειδωτικής δράσης κάποιου άλλου αντιοξειδωτικού, όπως της τοκοφερόλης. Στην περίπτωση αυτή έχουμε συνεργατική δράση των δύο αντιοξειδωτικών και λέμε ότι η βιταμίνη C έχει **συν-αντιοξειδωτική** δράση. (Vaya & Aviram., 2001)

Μπορούμε επίσης να διαφοροποιήσουμε τα αντιοξειδωτικά ανάλογα με την προέλευση τους και τη χημική τους σύσταση. Έτσι υπάρχουν ενδογενείς αντιοξειδωτικές ουσίες και αντιοξειδωτικά τα οποία προσλαμβάνει ο οργανισμός μας με την τροφή. (Vaya & Aviram., 2001)

Τα ενδογενή αντιοξειδωτικά διακρίνονται σε ουσίες: (α) μεγάλου Μοριακού Βάρους (ΜΒ) και (β) μικρού ΜΒ. Στην πρώτη κατηγορία περιλαμβάνονται ένζυμα, όπως η δισμουτάση του υπεροξειδίου, η καταλάση, η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, η παραοξονάση και το πρωτεάσωμα τα οποία ελαττώνουν τη δημιουργία ΔΕΟ μέσω της απομάκρυνσης δυνητικών οξειδωτικών ή μετατρέποντας ΔΕΟ σε σχετικά σταθερές χημικές ενώσεις. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται επίσης διάφορες πρωτεΐνες του πλάσματος (αίμα) όπως η αλβουμίνη, η σερουλοπλασμίνη, η τρανσφερίνη και η αιμογλοβίνη, οι οποίες δεσμεύουν μεταλλικά ιόντα και ως εκ τούτου περιορίζουν τη δημιουργία ελεύθερων ριζών μέσω αντιδράσεων που καταλύονται από μέταλλα. Τα μικρού ΜΒ ενδογενή αντιοξειδωτικά υποδιαιρούνται περαιτέρω σε λιποδιαλυτά αντιοξειδωτικά μικρά χημικά μόρια, όπως η τοκοφερόλη (βιταμίνη Ε), τα καροτενοειδή, η χολερυθρίνη, ορισμένες κινόνες και πολυφαινόλες και σε υδατοδιαλυτά μόρια, όπως το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), το ουρικό οξύ και ορισμένες πολυφαινόλες.

Τα κυριότερα αντιοξειδωτικά της διατροφής αποτελούν λιποδιαλυτές και υδατοδιαλυτές φυτικές ενώσεις όπως η τοκοφερόλη, το β-καροτένιο, το λυκοπένιο, η βιταμίνη C, η λουτεΐνη και διάφορες πολυφαινόλες. (Vaya & Aviram., 2001)

### **2.3.5. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ**

Έχουν αναπτυχθεί ποικίλες μέθοδοι για τον προσδιορισμό της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας διαφόρων βιολογικών δειγμάτων, όπως το πλάσμα ή ο ορός, το κρασί, τα φρούτα και τα λαχανικά, ή ζωικοί ιστοί. Οι μέθοδοι αυτοί είναι απαραίτητοι λόγω: (α) της δυσκολίας της μέτρησης κάθε αντιοξειδωτικού συστατικού ξεχωριστά και (β) των πιθανών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των διαφόρων αντιοξειδωτικών συστατικών σε πολύπλοκα

βιολογικά δείγματα. Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης ενός δείγματος περιλαμβάνει κυρίως την ικανότητα του δείγματος να δώσει ηλεκτρόνια (ή άτομα υδρογόνου) σε ένα ειδικό ΔΕΟ ή σε κάθε δέκτη ηλεκτρονίων. Το προϊόν της αντίδρασης αυτής μετράται τελικά με μία αναλυτική μέθοδο όπως αυτές που αναφέρθηκαν στην περίπτωση προσδιορισμού των ΔΕΟ. Παρακάτω αναφέρονται μερικές από τις σπουδαιότερες μεθόδους μέτρησης αντιοξειδωτικής δράσης. (Pitxao, 2007)

Για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης καθαρών ενώσεων, συστατικών τροφίμων ή κυτταρικών εκχυλισμάτων χρησιμοποιείται η αντίδραση των αντιοξειδωτικών με σταθερές **έγχρωμες ελεύθερες ρίζες (ABTS, DPPH)** η οποία έχει ως αποτέλεσμα τον αποχρωματισμό τους. (Packer., 1999)

Η μέθοδος ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity / Ικανότητα Απορροφητικότητας Ριζών Οξυγόνου) στηρίζεται στην ελάττωση του φθορισμού ορισμένων ουσιών (φυκοερυθρίνες) με την προσθήκη ελευθέρων ριζών. Η δράση αυτή των ελευθέρων ριζών αναστέλλεται παρουσία των αντιοξειδωτικών.

Με τη μέθοδο EPR μπορούμε να προσδιορίσουμε την αντιοξειδωτική δράση ουσιών με Βάση την ελάττωση του EPR σήματος συγκεκριμένων ελευθέρων ριζών μετά την αντίδραση τους με το αντιοξειδωτικό παρουσία μιας παγίδας σπιν.

Η μέθοδος FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power/Αντιοξειδωτική Ισχύς Αναγωγής Τρισθενούς Σιδήρου) στηρίζεται στην αναγωγή ενός συμπλόκου του τρισθενούς σιδήρου από το αντιοξειδωτικό προς ένα προϊόν με έντονο κυανούν χρώμα.

Η μέθοδος TRAP (Total Peroxyl Radical-Trapping Potential/ Συνολικό Δυναμικό Παγίδευσης Ριζών Υπεροξειδίου) Βασίζεται στην αντίδραση ελευθέρων ριζών υπεροξειδίου με μία ουσία, τη λουμινόλη. Το προϊόν της αντίδρασης είναι μία ρίζα λουμινόλης η οποία εκπέμπει φως (χημειοφωταύγεια) το οποίο και μετράται. Παρουσία αντιοξειδωτικών, η χημειοφωταύγεια ελαττώνεται. (Packer., 1999)

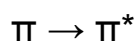
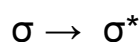


## 2.4. ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ –ΟΡΑΤΟΥ

### 2.4.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η απορρόφηση της υπεριώδους και ορατής ακτινοβολίας από τα μόρια μιας ουσίας οφείλεται σε ηλεκτρονικές διεγέρσεις. Στις διεγέρσεις αυτές τα ηλεκτρόνια μεταπίπτουν σε διαφορετική ενεργειακή κατάσταση χωρίς να αλλάζουν ηλεκτρονική στοιβάδα.

Οι κυριότερες διεγέρσεις ηλεκτρονίων που συμβαίνουν στα μόρια των οργανικών μορίων είναι:



Οι διεγέρσεις αυτές εμφανίζονται στην υπεριώδη περιοχή του φάσματος. Στα μόρια, που έχουν εκτεταμένο συζυγιακό σύστημα, παρατηρούνται μετατοπίσεις των παραπάνω διεγέρσεων στα μεγαλύτερα μήκη κύματος και πολλές φορές στην ορατή περιοχή του φάσματος.

Η απορρόφηση της υπεριώδους ακτινοβολίας από τα διαλύματα των ανόργανων ενώσεων οφείλεται κυρίως σε διεγέρσεις μεταφοράς φορτίου. Αντίθετα η απορρόφηση της ορατής ακτινοβολίας οφείλεται σε διεγέρσεις των d και f ηλεκτρονίων των μεταβατικών στοιχείων.

Οι άχρωμες οργανικές ή ανόργανες ενώσεις, που δεν απορροφούν στην ορατή περιοχή του φάσματος, μπορούν να μετατραπούν σε έγχρωμες, με κατάλληλες χημικές αντιδράσεις, (π.χ. οξείδωση, σχηματισμός συμπλόκων ενώσεων κτλ.).

Οι ηλεκτρονικές διεγέρσεις συνοδεύονται από διεγέρσεις δονήσεως και περιστροφής των μορίων και από διάφορες

επιδράσεις των μορίων τού διαλύτη. Για το λόγο αυτό, τα μοριακά φάσματα απορροφήσεως έχουν την μορφή ταινιών. Αντίθετα τα ατομικά φάσματα απορροφήσεως είναι γραμμωτά. (Κουιμτζής, 1982)

### **2.4.2. ΝΟΜΟΣ ΤΩΝ Lambert-Beer**

Σε μία κυψελίδα με πάχος στοιβάδας  $l$ , περιέχεται διάλυμα μιας ουσίας με συγκέντρωση  $C$ . Στο διάλυμα προσπίπτει κάθετα στα τοιχώματα της κυψελίδας παράλληλη μονοχρωματική δέσμη που έχει ένταση  $I_0$ . Η δέσμη περνά μέσα από το διάλυμα και βγαίνει με ένταση  $I$ , ενώ ένα ποσοστό της απορροφάται από το διάλυμα. Το ποσοστό αυτό εξαρτάται από το πάχος της στοιβάδας  $l$  και από τη συγκέντρωση της ουσίας  $C$ . Επειδή η απορρόφηση μιας ακτινοβολίας συνοδεύεται και από ορισμένες ηλεκτρονικές διεγέρσεις είναι επόμενο ότι το μήκος κύματος της ακτινοβολίας και εκείνο το ποσοστό της που απορροφάται από ένα διάλυμα εξαρτώνται από τη φύση της διαλυμένης ουσίας, δηλαδή από ένα συντελεστή  $\epsilon$ . (Πολυχρονιάδου-Αλιχανίδου, 1996)

Η μαθηματική σχέση που συνδέει την ένταση της προσπίπτουσας δέσμης  $I_0$  με την ένταση εκείνης που βγαίνει από το διάλυμα  $I$ , είναι γνωστή σαν νόμος των Lambert-Beer,

$$I = I_0 \cdot 10^{-\epsilon l C} \quad (1)$$

Αν λογαριθμίσουμε τη σχέση αυτή παίρνουμε τη σχέση,

$$- \log \frac{I}{I_0} = \varepsilon l C \quad (2)$$

Ο λόγος  $I/I_0$  ονομάζεται διαπερατότητα (transmittance) και συμβολίζεται με  $T$ .

Ο δεκαδικός λογάριθμος του αντίστροφου της διαπερατότητας ( $-\log T$ ) ονομάζεται οπτική πυκνότητα (optical density) και συμβολίζεται με  $D$ , η απορρόφηση (absorbance), οπότε συμβολίζεται με  $A$ . Στη διεθνή βιβλιογραφία επικράτησε τελικά ο όρος απορρόφηση. Έτσι η σχέση (2) υπάρχει και με τη μορφή,

$$A = - \log \frac{I}{I_0} = \varepsilon l C \quad (3)$$

Από τη σχέση αυτή προκύπτει: α) η απορρόφηση διαλύματος μιας ουσίας για ορισμένη συγκέντρωση και σε ορισμένο μήκος κύματος είναι γραμμική εξάρτηση τού πάχους της στοιβάδας  $l$  (νόμος του Lambert) και β) η απορρόφηση διαλύματος μιας ουσίας για ορισμένο πάχος στοιβάδας και σε ορισμένο μήκος κύματος είναι γραμμική εξάρτηση τής συγκεντρώσεως  $C$  (νόμος του Beer). Ο νόμος του Beer αποτελεί τη βάση τής φασματοφωτομετρίας. (Πολυχρονιαδου-Αλιχανίδου, 1996)

Ο συντελεστής  $\varepsilon$  ονομάζεται μοριακός συντελεστής αποσβέσεως (molar extinction coefficient). Ο συντελεστής  $\varepsilon$

παριστάνει την απορρόφηση διαλύματος μιας ουσίας, όταν η συγκέντρωσή της είναι 1 mole/L και το πάχος της στοιβάδας είναι 1cm. Οι φυσικοχημικές διαστάσεις του  $\epsilon$  είναι  $\text{mole}^{-1}\cdot\text{cm}^2$ . Η τιμή του  $\epsilon$  εξαρτάται από τη φύση της ουσίας και από το μήκος κύματος, στο οποίο γίνεται η μέτρηση της απορροφήσεως.

Όταν η ουσία, που απορροφά την ακτινοβολία, είναι άγνωστη και φυσικά δεν είναι γνωστό το μοριακό βάρος της, τότε στη θέση του συντελεστή  $\epsilon$  χρησιμοποιούμε τη σταθερά αναλογίας

$$A \frac{1\%}{1\text{ cm}}$$

Η σταθερά αυτή παριστάνει την απορρόφηση  $A$  ενός διαλύματος της ουσίας 1% (w/v) σε πάχος στοιβάδας 1cm. (Πολυχρονιάδου-Αλιχανίδου, 1996)

### 2.4.3. ΦΑΣΜΑΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΩΣ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ-ΟΡΑΤΟΥ

Η γραφική απεικόνιση της απορροφήσεως ενός διαλύματος σε σχέση με το μήκος κύματος της μονοχρωματικής δέσμης δίνει το φάσμα απορροφήσεως της διαλυμένης ουσίας. Η συγκέντρωση του διαλύματος και το πάχος της κυψελίδας εκλέγονται με τέτοιο τρόπο, ώστε οι μετρήσεις της απορροφήσεως να έχουν τη μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια. (Orie et al., 2007)

Στην ποιοτική ανάλυση προτιμώνται οι καμπύλες  $\log \epsilon$  σε σχέση με το μήκος κύματος επειδή η μορφή των καμπύλων αυτών είναι ανεξάρτητη από τη συγκέντρωση. Σε ορισμένες περιπτώσεις τα φάσματα δίνονται και σαν μεταβολή της διαπερατότητας.

Σε ορισμένα φασματοφωτόμετρα διπλής δέσμης υπάρχει αυτόματη διάταξη καταγραφής της πρώτης ή της δεύτερης παραγώγου των φασμάτων απορρόφησης. Οι παράγωγοι των φασμάτων χρησιμοποιούνται τόσο στην ποιοτική, όσο και στην ποσοτική χημική ανάλυση.

Το μήκος κύματος, στο οποίο παρατηρείται το μεγαλύτερο ποσοστό απορροφήσεως, ονομάζεται μήκος κύματος μέγιστης

απορρόφησης και συμβολίζεται με  $\lambda_{\max}$ . Η θέση που βρίσκεται το μέγιστο απορροφήσεως εξαρτάται από το ηλεκτρονικό σύστημα της ουσίας που συμμετέχει στη διέγερση. Στο  $\lambda_{\max}$  ο μοριακός συντελεστής αποσβέσεως έχει τη μέγιστη τιμή και συμβολίζεται με  $\epsilon_{\max}$ . (Orie et al., 2007)

#### **2.4.4. ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ**

Οι φασματοφωτομετρικοί προσδιορισμοί βασίζονται στο γνωστό νόμο του Beer. Τα δείγματα, στα οποία πρόκειται να γίνει ο προσδιορισμός ενός ή περισσοτέρων συστατικών, κατεργάζονται έτσι, ώστε στο τελικό στάδιο της κατεργασίας να έχουμε διάλυμα. Ο προσδιορισμός των συστατικών στο διάλυμα αυτό γίνεται, είτε με τη βοήθεια πρότυπων διαλυμάτων, ή με μία φασματοφωτομετρική ογκομέτρηση (Robertfroid et al., 1990)

#### **Προσδιορισμός ενός συστατικού-Καμπύλη αναφοράς**

Ο φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός ενός συστατικού σε ένα διάλυμα γίνεται με τον παρακάτω τρόπο:

Παρασκευάζεται μια σειρά πρότυπων διαλυμάτων στα οποία οι συγκεντρώσεις του συστατικού είναι γνωστές. Επίσης παρασκευάζεται και ένα διάλυμα αναφοράς στο οποίο η συγκέντρωση του συστατικού είναι μηδέν. Η χημική σύσταση των πρότυπων διαλυμάτων και του διαλύματος αναφοράς πρέπει να πλησιάζει όσο το δυνατό περισσότερο στη χημική σύσταση του άγνωστου διαλύματος. Η απορρόφηση των πρότυπων διαλυμάτων μετρείται σε ένα ορισμένο μήκος κύματος σε σχέση με το διάλυμα αναφοράς. Το μήκος κύματος στο οποίο γίνονται οι μετρήσεις ονομάζεται αναλυτικό μήκος κύματος. Η γραφική παράσταση των τιμών απορροφήσεως σε σχέση με τη συγκέντρωση δίνει την καμπύλη αναφοράς. Οι συγκεντρώσεις του συστατικού στα πρότυπα διαλύματα πρέπει να είναι τέτοιες, ώστε η απορρόφησή τους να κυμαίνεται από 0.2 μέχρι 0.8. Μετά γίνεται

η μέτρηση της απορροφήσεως στο άγνωστο διάλυμα. Η τιμή της συγκρίνεται με τις τιμές της καμπύλης αναφοράς και υπολογίζεται η άγνωστη συγκέντρωση του συστατικού στο διάλυμα. Αν η απορρόφηση στο άγνωστο διάλυμα είναι μεγαλύτερη από 0.8, το διάλυμα αραιώνεται. Αν η απορρόφηση είναι μικρότερη από 0.2, τότε γίνεται κατάλληλη ρύθμιση του οργάνου. (Κουιμτζής,1982)

Στις περιπτώσεις που δεν χρειάζεται μεγάλη ακρίβεια στον προσδιορισμό της συγκεντρώσεως του συστατικού, παρασκευάζεται ένα

μόνο πρότυπο διάλυμα. Έστω  $C_{\pi}$  η συγκέντρωση του πρότυπου διαλύματος και  $A_{\pi}$  η απορρόφηση του. Αν  $A_{\alpha}$  είναι η απορρόφηση του άγνωστου διαλύματος, η συγκέντρωσή του  $C_{\alpha}$  προκύπτει από τη σχέση:

$$C_{\alpha} = C_{\pi} \cdot \frac{A_{\alpha}}{A_{\pi}} \quad (4)$$

Για την εφαρμογή της σχέσεως 4 πρέπει να είναι γνωστό ότι το χημικό σύστημα υπακούει στο νόμο του Beer. (Κουιμτζής,1982)

### **Επιλογή του αναλυτικού μήκους κύματος**

Η μέτρηση της απορροφήσεως των διαλυμάτων που χρησιμοποιούνται για ποσοτικούς προσδιορισμούς, γίνεται στο  $\lambda_{\max}$ . Η επιλογή του  $\lambda_{\max}$  έχει τα παρακάτω πλεονεκτήματα: α) συνήθως, στο  $\lambda_{\max}$  το εύρος της ταινίας απορροφήσεως είναι μεγάλο. Έτσι τα μικρά σφάλματα στη ρύθμιση (θέση) του επιθυμητού μήκους κύματος δεν επηρεάζουν τις μετρήσεις απορροφήσεως. Επίσης οι αποκλίσεις από το νόμο του Beer που προέρχονται από το μεγάλο εύρος της μονοχρωματικής δέσμης είναι αμελητέες, β) η ευαισθησία και η ακρίβεια των προσδιορισμών έχουν τη μέγιστη τιμή στο  $\lambda_{\max}$  και γ) η επίδραση διαφόρων προσμείξεων, που μπορεί να υπάρχουν στα δείγματα ή στα αντιδραστήρια, ελαχιστοποιείται. (Κουιμτζής,1982)

Όταν στο άγνωστο διάλυμα υπάρχουν και άλλες ουσίες που απορροφούν στο  $\lambda_{\max}$ , τότε εκλέγεται ένα μήκος κύματος, όπου οι απορροφήσεις των ουσιών αυτών να είναι μηδέν. Αν δεν υπάρχει τέτοιο μήκος κύματος, τότε οι ουσίες αυτές παρεμποδίζουν τον προσδιορισμό του συστατικού, και πρέπει να απομακρυνθούν. Η απομάκρυνση των παρεμποδίσεων γίνεται συνήθως με μία από τις μεθόδους διαχωρισμού, δηλαδή εκχύλιση, ιοντοανταλλαγή, χρωματογραφία κ.α. Πολλοί προσδιορισμοί μπορούν να γίνουν χωρίς να απομακρυνθούν οι παρεμποδίσεις, αν χρησιμοποιηθεί η δεύτερη παράγωγος των φασμάτων απορροφήσεως (σχ. 6ε). Με τη βοήθεια της δεύτερης παραγώγου μπορούν να γίνουν ποσοτικοί προσδιορισμοί και σε θολά διαλύματα. Στις περιπτώσεις αυτές, σαν χαρακτηριστικό μέγεθος χρησιμοποιείται η κατακόρυφη απόσταση ανάμεσα σε ένα μέγιστο και σε ένα διπλανό ελάχιστο. Η απόσταση αυτή είναι γραμμική συνάρτηση της συγκεντρώσεως. Όταν υπάρχουν πολλά ζεύγη μέγιστου-ελάχιστου, τότε χρησιμοποιείται το ζεύγος που έχει τη μεγαλύτερη απόσταση.

## **Κυψελίδες**

Οι κυψελίδες που χρησιμοποιούνται στα φασματοφωτόμετρα κατασκευάζονται από απλό γυαλί (ορατή περιοχή) ή από χαλαζία (υπεριώδη και ορατή περιοχή). Η επιλογή του μεγέθους και του σχήματος των κυψελίδων εξαρτάται από τη φύση και την ποσότητα του δείγματος. (Κουιμτζής, 1982)

Οι κυψελίδες που χρησιμοποιούνται για το διάλυμα αναφοράς και για το διάλυμα του δείγματος πρέπει να έχουν το ίδιο ακριβώς πάχος στοιβάδας και την ίδια διαπερατότητα σε όλη την περιοχή του φάσματος. Ο έλεγχος αυτός γίνεται ως εξής: Προσθέτουμε στις δύο κυψελίδες νερό ή ένα οποιονδήποτε διαλύτη. Μετά τοποθετούμε τη μία κυψελίδα στη θέση του διαλύματος αναφοράς και την άλλη στη θέση του δείγματος. Στο σημείο αυτό η ένδειξη του οργάνου πρέπει να είναι ακριβώς 100%T ή A=0 σε όλη την περιοχή του φάσματος. Οι κυψελίδες πρέπει να καθαρίζονται πριν να χρησιμοποιηθούν. Ο καθαρισμός γίνεται με απορρυπαντικό και αποσταγμένο νερό. Αν πρόκειται να

χρησιμοποιηθούν για οργανικούς διαλύτες, ο καθαρισμός συνεχίζεται με αλκοόλη και αιθέρα. Αν οι κυψελίδες δεν καθαρίσουν με τον τρόπο αυτό, τότε χρησιμοποιείται μείγμα πυκνού υδροχλωρικού οξέος και αιθανόλης 1:1, ή θερμό νιτρικό οξύ. Αν παρόλα αυτά οι κυψελίδες δεν καθαρίσουν τότε βυθίζονται σε χρωμοθειϊκό οξύ για μικρό χρονικό διάστημα. (Κουιμτζής, 1982)

#### **2.4.5. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑΣ UV-vis**

Η φασματοφωτομετρία υπεριώδους-ορατού έχει πολλές εφαρμογές, τόσο στην ποιοτική όσο και στην ποσοτική ανάλυση. Έτσι η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται στη διευκρίνιση της δομής των μορίων, στην ταυτοποίηση ουσιών, στον ποσοτικό προσδιορισμό ανόργανων και οργανικών ενώσεων, στην μελέτη της κινητικής των αντιδράσεων, στην μελέτη της χημικής ισορροπίας των αμφίδρομων αντιδράσεων κ.ά.

Οι ποσοτικοί προσδιορισμοί βασίζονται στα φάσματα απορροφήσεως. Σαν χαρακτηριστικά μεγέθη χρησιμοποιούνται η θέση του  $\lambda_{\max}$  και η τιμή του  $\epsilon_{\max}$ . Όταν υπάρχουν και οι παράγωγοι των φασμάτων απορροφήσεως, τότε σαν χαρακτηριστικά μεγέθη χρησιμοποιούνται τα μήκη κύματος των μέγιστων - ελάχιστων και η ποσοτική σχέση ανάμεσα στα μέγιστα και στα ελάχιστα. (Πολυχρονιάδου-Αλιχανίδου, 1996)

Η χρησιμοποίηση των φασμάτων απορροφήσεως υπεριώδους-ορατού στη διευκρίνιση της δομής των μορίων και στην ταυτοποίηση των ουσιών δεν είναι τόσο εκτεταμένη, όσο άλλων φασματοσκοπικών μεθόδων π.χ. IR και NMR. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι, οι ταινίες απορροφήσεως που οφείλονται στις ηλεκτρονικές διεγέρσεις διευρύνονται από τις διεγέρσεις ταλαντώσεως και περιστροφής των μορίων. Σε πολλές όμως περιπτώσεις τα φάσματα αυτά είναι απαραίτητα για την



επιβεβαίωση δομών, που βρίσκονται με άλλες μεθόδους. Με τα φάσματα αυτά μπορεί να γίνει:

α) διάκριση ανάμεσα σε συζυγικά συστήματα.

β) διαπίστωση ταυτομερών δομών.

γ) ταυτοποίηση μίας ουσίας.

Οι ποσοτικοί προσδιορισμοί των διαφόρων ουσιών βασίζονται στο νόμο του Beer. Ο φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός μιας ουσίας παρουσιάζει δυσκολίες, όταν στο δείγμα συνυπάρχουν και άλλες ουσίες με παρόμοια φάσματα απορροφήσεως ή ο μοριακός συντελεστής αποσβέσεως της ουσίας είναι πολύ μικρός. Στις περιπτώσεις αυτές συνήθως χρησιμοποιούνται ειδικά αντιδραστήρια τα οποία μετατρέπουν την ουσία σε μία άλλη που απορροφά σε διαφορετική περιοχή τού φάσματος, και έχει μεγάλο μοριακό συντελεστή αποσβέσεως. Με τον τρόπο αυτό προσδιορίζονται σχεδόν όλα τα στοιχεία και πάρα πολλές οργανικές ενώσεις . (Πολυχρονιάδου-Αλιχανίδου, 1996)

### **3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι ο προσδιορισμός τόσο του ολικού φαινολικού περιεχομένου, όσο και της αντιοξειδωτικής ικανότητας λευκών οίνων της ποικιλίας «Ασύρτικο». Παράλληλα στόχος της εργασίας είναι και η εύρεση της μεθόδου προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης (μεταξύ ABTS και DPPH) η οποία συσχετίζεται καλύτερα με το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (Folin-Ciocalteu).

## **4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **4.1. ΔΕΙΓΜΑ ΛΕΥΚΟΥ ΚΡΑΣΙΟΥ**

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

Για το πειραματικό μέρος χρησιμοποιήθηκαν τα εξής κρασιά:

**A1:** Ασύρτικο (INO).Ελληνική ποικιλία καλλιεργημένη στις πλάγιες του Κιθαιρώνα 2008

**A2:** Ασύρτικο. Τοπικός οίνος Στέρας Ελλάδας, προέρχεται από αμπελώνες του νομού Βοιωτίας και από αμπελώνες μέσα από το νόμο Αττικής 2008

**A3:** Ασύρτικο (ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΚΕΛΛΑΡΙΑ). Οίνος ονομασία προέλευσης Σαντορίνη 2008

**A4:** Ασύρτικο (SANTO WINES ).Οίνος ονομασία προέλευσης Σαντορίνη ,προέρχεται από ορεινούς αμπελώνες του Πύργου και του Ημεροβιγλίου 2008

**A5:** Τοπικός οίνος Δράμας 2009

**A6:** Ασύρτικο Σαντορίνης Οινοποιείο Μπουτάρη Κάλλιστα 2007

**A7:** Σαντορίνη Σιγαλάς 2009

**A8:** Ασύρτικο και Αιδάνι των αμπελώνων Γαβαλά στο μεγαλοχώρι της Σαντορίνης

## **4.2. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**

Για την διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας παρασκευάστηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια:

- $\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$  1%
- Τρυγικό K – Na 2%
- $\text{Na}_2\text{CO}_3$
- NaOH
- Folin – Ciocalteu
- ABTS<sup>+</sup>
- DPPH
- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$
- Trolox ( $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ ,  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$ )

## **4.3. ΟΡΓΑΝΑ**

- Συσκευή ανάδευσης, Framo-geratechnik, M21/1
- Αναλυτικός ζυγός, Electronic Balance, ER-18 OA
- Μικροπιπέτες των 5-50  $\mu\text{l}$ , 50-200  $\mu\text{l}$  και 100-1000  $\mu\text{l}$  Socorex
- Υδρόλουτρο, Grant GR ISO
- Φασματοφωτόμετρο, Thermo Electron Corporation NICOLET evolution 100

## **4.4. ΣΚΕΥΗ**

- Σπάτουλα
- Ογκομετρικές φιάλες των 50, 100ml και του 1lit
- ποτήρια ζέσεως των 50 ml
- γυάλινη ράβδος
- Κωνικές φιάλες των 100 ml.
- Δοκιμαστικοί σωλήνες

## **4.5. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ**

### **4.5.1. ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ (FOLIN – CIOCALTEU)**

Το σύνολο των φαινολικών ενώσεων ενός εκχυλίσματος 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.

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην οξειδωση του συνόλου των φαινολικών συστατικών, σε αλκαλικό περιβάλλον από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Το αντιδραστήριο αυτό αποτελείται από ένα μίγμα φωσφοροβολφραϊμικού οξέος ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ), το οποίο ανάγεται κατά την οξειδωση των φαινολών, σε μίγμα κυανών οξειδίων του βολφραμίου ( $W_8O_{23}$ ) και του μολυβδαινίου ( $Mo_8O_{23}$ ). 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. (Tsimidou et al., 1992)

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. Επίσης έχει εξεταστεί η σταθερότητα των πρότυπων διαλυμάτων Trolox και έχει αποδειχτεί ότι αυτά χάνουν λιγότερο από το 5% της αξίας του σε χρονικό διάστημα άνω των δυο εβδομάδων, όταν διατηρούνται στεγανά κλεισμένα στο ψυγείο.

#### **4.5.1.1. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ**

Για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς και της ανάλυσης των δειγμάτων με τη μέθοδο Folin - Ciocalteu παρασκευάστηκαν τα παρακάτω διαλύματα:

- Solution 1

Για την παρασκευή αυτού του διαλύματος χρειαζόμαστε:

1ml διαλύματος (A)

1ml διαλύματος (B)

98ml διαλύματος (C)

(A) →  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  1%

Σε ογκομετρική φιάλη των 50ml προσθέτουμε 0,5g στερεού  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  και συμπληρώνουμε μέχρι τη χαραγή με αποσταγμένο νερό.

(B) → Τρυγικό K – Na 2%

Σε ογκομετρική φιάλη των 50ml προσθέτουμε 1,0g τρυγικού οξέος και συμπληρώνουμε μέχρι τη χαραγή με αποσταγμένο νερό.

(C) → Σε ογκομετρική φιάλη του 1lit προσθέτουμε 20g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  και 4g  $\text{NaOH}$ . Κατόπιν συμπληρώνουμε μέχρι τη χαραγή με αποσταγμένο νερό

- Folin – Ciocalteu

Πυκνό αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu αραιώνεται με αποσταγμένο νερό σε αναλογία 1:1

#### **4.5.1.2. ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΠΡΟΤΥΠΗΣ ΚΑΜΠΥΛΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ**

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα γαλλικού οξέος . Οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν, επιλέχτηκαν μετά από μια σειρά υπολογισμών και δοκιμών της αντίδρασης σε δείγμα κρασιου. Συνοπτικά η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής:

Σε αναλυτικό ηλεκτρονικό ζυγό ζυγίστηκαν οι έξι ποσότητες:

- I. 0,0025g → 50 mg/L
- II. 0,005g → 100 mg/L
- III. 0,0075g → 150 mg/L
- IV. 0,01g → 200 mg/L
- V. 0,0125g → 250 mg/L
- VI. 0,015g → 300 mg/L

Εν συνεχεία, τοποθετήθηκαν σε ογκομετρικές φιάλες των 50 ml, μαζί με την προσθήκη 6 ml αιθυλικής αλκοόλης, σε κάθε μια ογκομετρική φιάλη ώστε να διαλυθεί πλήρως η εκάστοτε ποσότητα γαλλικού οξέος, όπου και συμπληρώνεται με απεσταγμένο νερό μέχρι την χαραγή

. Από αυτά τα έξι πρότυπα αραιωμένα διαλύματα Trolox ελήφθησαν με πιπέτες ποσότητες 0,5 ml και τοποθετήθηκαν σε δύο δοκιμαστικούς σωλήνες αντίστοιχα. Κατόπιν προστέθηκαν 2,5 ml από το αντιδραστήριο FOLIN-CIOCALTEU σε κάθε σωλήνα και ακολούθησε έντονη ανάδευση. Αφού πέρασαν 10min προστέθηκαν 2ml Solution 1 ακολούθησε ξανά πολύ έντονη ανάδευση.

Στη συνέχεια οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετήθηκαν σε υδρόλουτρο θερμοκρασίας 50 °C για 5min.. μετά την παρέλευση των 5min έγινε ψύξη αυτών με κρύο νερό και συγχρόνως έντονη ανάδευση. Μετά την ψύξη ακολούθησε η μέτρηση της απορρόφησης των διαλυμάτων με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου στα 760nm. Ο μηδενισμός του οργάνου έγινε

με τυφλό δείγμα το οποίο παρασκευάστηκε με τον ίδιο ακριβώς τρόπο που περιγράφηκε παραπάνω με την μόνη διαφορά ότι στη θέση του γαλλικού οξέος προστέθηκε ίδια ποσότητα απεσταγμένου νερού.

Για την κατασκευή της καμπύλης, έγινε πρώτα ο υπολογισμός των mg γαλλικού οξέος που υπάρχουν στα έξι πρότυπα διαλύματα. Έτσι λοιπόν, για τα πρότυπα διαλύματα των 0.0025, 0.005, 0.0,0075, 0.01, 0.0125 και 0.015 ml Trolox υπολογίστηκαν ότι υπάρχουν 50, 100, 150, 200, 250 και 300 mg γαλλικού οξέος αντίστοιχα. Κατασκευάστηκε λοιπόν πρότυπη καμπύλη με άξονα Χ τα mg Trolox και άξονα Υ τις μετρούμενες απορροφήσεις στα 760nm

#### **4.5.1.3. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ**

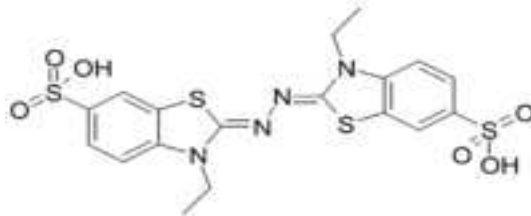
- Σε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 0,5ml από το αραιωμένο διάλυμα (δείγμα) και 2,5ml από το αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu. Ακολούθησε έντονη ανάδευση.
- Μετά την παραμονή 10min, προστέθηκαν στο σωλήνα 2ml διαλύματος Solution 1 και ακολούθησε έντονη ανάδευση.
- Στη συνέχεια οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετήθηκαν σε υδρόλουτρο θερμοκρασίας 50 °C για 5min.
- Ακολούθησε ψύξη των δειγμάτων με κρύο νερό και συγχρόνως ανάδευση.
- Τέλος, μέτρηση της απορρόφησης αυτών στα 760nm.

Ο μηδενισμός του οργάνου έγινε με το τυφλό δείγμα το οποίο παρασκευάστηκε με τον ίδιο ακριβώς τρόπο που περιγράφηκε παραπάνω με τη μόνη διαφορά ότι στη θέση του δείγματος προστέθηκε ίδια ποσότητα απεσταγμένου νερού



#### 4.5.2. ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ – ΜΕΘΟΔΟΣ ABTS

Το αντιδραστήριο αυτής της μεθόδου είναι το 2,2'azinobis-(3-ethylbenzothiazilone-6-sulfonate). Με οξείδωση αυτού του αντιδραστήριου παράγει κατιόν ABTS<sup>+</sup>, το οποίο έχει έντονο γαλαζοπράσινο χρώμα. Ο συντακτικός τύπος είναι:



Σχήμα 2. ABTS<sup>+</sup>

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στον αποχρωματισμό του παραπάνω σχηματιζόμενου ριζικού κατιόντος ABTS<sup>+</sup>, ο οποίος προκαλείται με την προσθήκη ενός δείγματος που περιέχει φαινολικό παράγοντα, λόγω της απομάκρυνσης των ελεύθερων ριζών.

Το ABTS<sup>+</sup> μπορεί να παραχθεί είτε από χημική αντίδραση π.χ. με οξείδιο του μαγγανίου (IV) (MnO<sub>2</sub>), με υπερθειικό κάλιο (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) ή από ενζυμικές αντιδράσεις (π.χ. μεθμυοσφαιρίνη, αιμοσφαιρίνη). Γενικά η χημική αντίδραση απαιτεί πολύ χρόνο (μέχρι και 16 ώρες για την παραγωγή υπερθειικού καλίου) ή υψηλές θερμοκρασίες, ενώ οι ενζυμικές αντιδράσεις είναι ταχύτερες και οι συνθήκες αντίδρασης ηπιότερες.

Η μέγιστη απορρόφηση του ABTS<sup>+</sup> αποδείχτηκε ότι είναι σε μήκη κύματος 415, 645, 734 και 815nm. Τα μήκη κύματος, τα οποία επιλέχτηκαν από τους περισσότερους ερευνητές για να ελέγξουν φασματοφωτομετρικά την αντίδραση μεταξύ των αντιοξειδωτικών και του ABTS<sup>+</sup> είναι 415 και 734nm.

#### **4.5.2.1. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ**

- Ζυγίζονται 0,0099gr K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> και ABTS 0,054gr
- Διαλύονται σε ένα ποτήρι ζέσεως με 20 ml νερό και στη συνέχεια το μεταγγίζουμε σε ογκομετρική φιάλη των 50ml.
- Τοποθετούνται για 12 -16 ώρες στο σκοτάδι.

#### **ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΡΑΙΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ABTS**

Μετρίεται η απορρόφηση του πυκνού διαλύματος, στα 734nm και αραιώνουμε μέχρι την απορρόφηση 0,7 nm.

#### **4.5.2.2. ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΠΡΟΤΥΠΗΣ ΚΑΜΠΥΛΗΣ**

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης αναφοράς μετρήθηκαν σε αναλυτικό ζυγό οι παρακάτω ποσότητες :

1000 μM Trolox →0,0125g

900 μM Trolox →0,0112g

800 μM Trolox →0,01g

700 μM Trolox →0,0087g

600 μM Trolox →0,0075g

Για τις υπόλοιπες συγκεντρώσεις ακολουθηθήκαν οι αντίστοιχες αραιώσεις. Έπειτα, οι συγκεκριμένες ποσότητες διαλύθηκαν μέσα σε ογκομετρικές φιάλες των 50 ml με την

προσθηκη 6 ml αιθυλικής αλκοόλης και συμπληρώθηκαν μεχρι την χαραγη με απεσταγμένο νερό.

Από τα πρότυπα αραιωμένα διαλύματα Trolox ελήφθησαν με μικροπιπέτα 50ml και τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες αντίστοιχα. Έπειτα προστέθηκαν 3,9ml από το διάλυμα ABTS<sup>+</sup>. Ακολούθησε ανάδευση και αναμονή 5min. έγινε μέτρηση της απορρόφησης τους στα 734nm με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου.

Η ποσότητα 3,9ml διαλύματος ABTS<sup>+</sup> υπολογίστηκε σε σχέση με το τυφλό δείγμα, το οποίο στη θέση του ABTS<sup>+</sup> περιείχε νερό και ήταν τέτοια ώστε στα 734nm να δίνει απορρόφηση 0,7. Δεν έγινε μηδενισμός του οργάνου, αλλά μετρώντας την απορρόφηση των δειγμάτων μετά το τυφλό είχαμε μείωση της μετρούμενης απορρόφησης (Minussi et al., 2002).

Κατασκευάστηκε λοιπόν πρότυπη καμπύλη με άξονα X τα μg Trolox και άξονα Y τις μετρούμενες απορροφήσεις στα 734nm. Τα δείγματα και οι μετρήσεις έγιναν τρεις φορές έτσι ώστε να έχουμε μια αξιόπιστη πρότυπη καμπύλη.

#### **4.5.2.3. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ**

- Σε 4 ογκομετρικές φιάλες των 50ml έγινε αραιώση δείγματος κρασιού σε 4 διαφορετικές συγκεντρώσεις (1:1,1:5,1:10,1:20) και συμπλήρωση μέχρι την χαραγή με απεσταγμένο νερό. Χρησιμοποιήθηκε η σχέση αραιώσης  $C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$
- Σε 4 δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν 100μl αραιωμένου δείγματος κρασιού και 3,9ml ABTS.
- Μέτρηση απορρόφησης σε UV στα 734 nm.

Η παραπάνω διαδικασία έγινε για να επιλεχθεί η κατάλληλη αραιώση του δείγματος κρασιού ώστε η απορρόφηση του δείγματος να εμπίπτει εντός των ορίων της πρότυπης καμπύλης.

Ως αποδεκτή αραίωση επιλέχθηκε η 1:1 η οποία και θα εφαρμοστεί σε όλα τα δείγματα κρασιών.

Για όλα τα δείγματα κρασιού με αραίωση 1:1 ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφεται στον παρακάτω πίνακα με την χρήση δοκιμαστικών σωλήνων. Οι μετρήσεις έγιναν εις τριπλούν για το καθένα από τα δείγματα μας.

#### Μέτρηση απορρόφησης δειγμάτων κρασιού

Παίρνουμε 100ml από το αραιωμένο λευκό κρασί (1:1) σε 2 σωλήνες για κάθε δείγμα μας.

Προσθέτουμε 3,9ml από το τελικό αραιωμένο διάλυμα ABTS.

Περιμένουμε 5-6min και μετράμε την απορρόφηση.

#### **4.5.3. ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΒΑΣΙΖΟΜΕΝΗ ΣΤΗ ΔΕΣΜΕΥΣΗ ΤΗΣ 1,1 ΔΙΦΑΙΝΥΛΟ-2- ΠΙΚΡΥΛΥΔΡΑΖΥΛΙΚΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ(DPPH)**

Τα φαινολικά συστατικά του κρασιού δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH και η μείωση της ελέγχεται με τη μείωση της απορρόφησης στα 517nm. Το χρώμα από μώβ στο αρχικό διάλυμα, μετατρέπεται σε κίτρινο, όταν όλο το ποσό της ελεύθερης ρίζας έχει δεσμευτεί από τα αντιοξειδωτικά του κρασιού.

#### **4.5.3.1. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ**

*ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ STOCK-ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ DPPH ΜΕ ΑΙΘΑΝΟΛΗ 12% (πυκνό διάλυμα)*

- Ζυγίζονται 0,0197gr DPPH με ακρίβειά 4<sup>ου</sup> δεκαδικού ψηφίου και τα διαλύσαμε με αιθανόλη 12% σε ογκομετρική φιάλη των 100ml .
- Η συγκέντρωση του πυκνού διαλύματος DPPH είναι 0,5mM

*ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ DPPH ΜΕ ΑΙΘΑΝΟΛΗ 12% (αραιό διάλυμα)*

Από το παραπάνω πυκνό αιθανολικό διάλυμα DPPH λαμβάνονται 5 ml και προστίθεται αιθανόλη 12% μέχρι τελικού όγκου 50ml (αραίωση 1:10) και μετράτε η απορρόφηση UV στα 517nm. Η συγκέντρωση του τελικού αραιού διαλύματος DPPH είναι 0,05mM.

#### **4.5.3.2. ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΠΡΟΤΥΠΗΣ ΚΑΜΠΥΛΗΣ**

Για την παρασκευή της πρότυπης καμπύλης ακολουθείτε η ίδια διαδικασία που εφαρμόστηκε και για την παρασκευή της πρότυπης καμπύλης για την μέθοδο ABTS.

### 4.5.3.3. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

- Σε 4 ογκομετρικές φιάλες των 50ml έγινε αραιώση δείγματος κρασιού σε 4 διαφορετικές συγκεντρώσεις (1:1,1:5,1:10,1:20) και συμπλήρωση μέχρι την χαραγή με απεσταγμένο νερό. Χρησιμοποιήθηκε η σχέση αραιώσης  $C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$
- Σε 4 δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν 100μl αραιωμένου δείγματος κρασιού και 3,9ml DPPH.
- Ισχυρή ανάδευση με vortex τοποθέτηση σε σκοτεινό μέρος για 30 λεπτά.
- Μέτρηση απορρόφησης σε UV στα 517nm.

Η παραπάνω διαδικασία έγινε για να επιλεγεί η κατάλληλη αραιώση του δείγματος κρασιού ώστε η απορρόφηση του δείγματος να εμπίπτει εντός των ορίων της πρότυπης καμπύλης. Ως αποδεκτή αραιώση επιλέχθηκε η 1:1 η οποία και θα εφαρμοστεί σε όλα τα δείγματα κρασιών.

- Παίρνουμε 100μl από το αραιωμένο λευκό κρασί (1:1) και προσθέτουμε 3,9ml από το τελικό αραιωμένο διάλυμα DPPH.

Οι μετρήσεις έγιναν εις διπλούν για το καθένα από τα δείγματα μας.

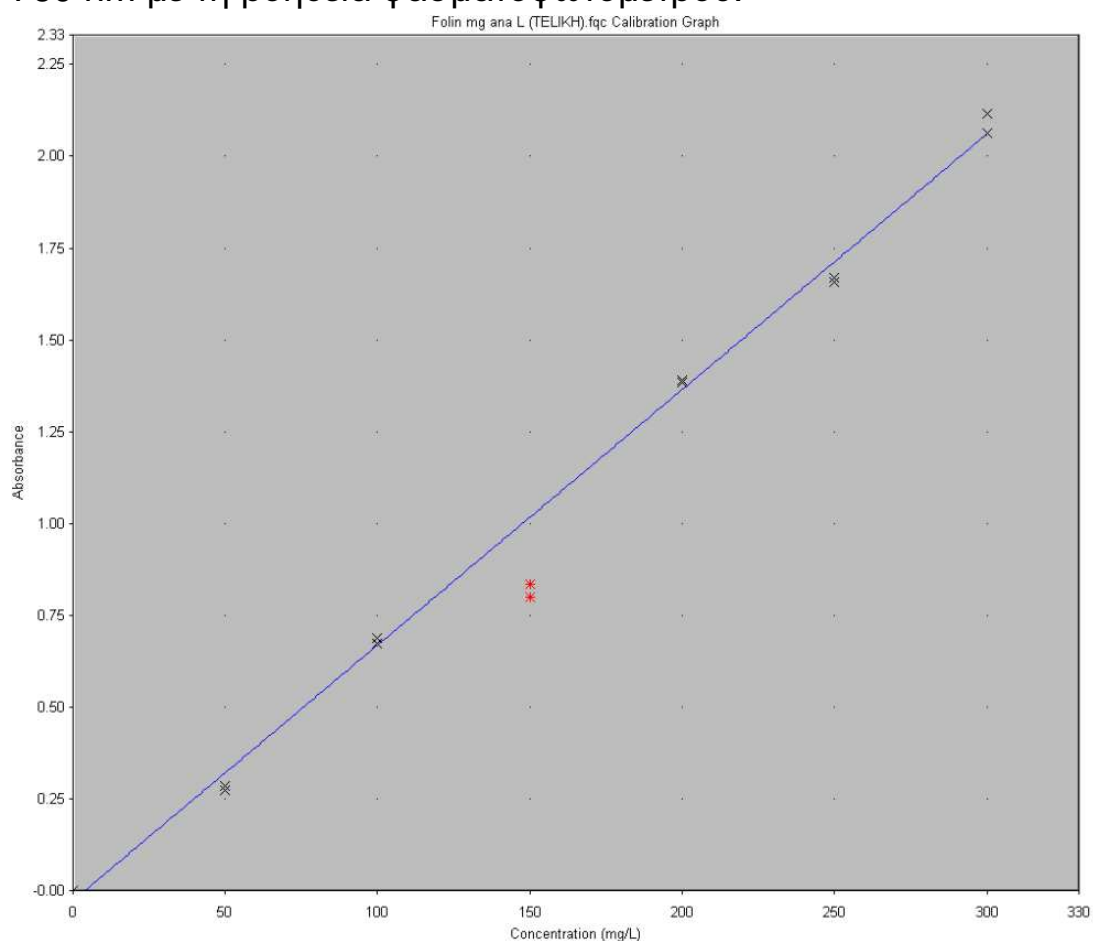
- Ακολουθεί ισχυρή ανάδευση και τοποθέτηση των δειγμάτων σε σκοτεινό μέρος για 30 λεπτά.
- Τα δείγματα τοποθετούνται σε κυψελίδες και ακολούθως φωτομετρούνται σε μήκος κύματος 517nm. Χρησιμοποιήθηκε λευκό δείγμα το οποίο περιείχε αιθανόλη 12% για μηδενισμό του φασματοφωτόμετρου.
- Τα αποτελέσματα μας καταγράφηκαν με το πρόγραμμα THERMO SPETRONIC~VISIONpro SOFTWARE V2.00.

## 5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 5.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

#### 5.1.1. ΠΡΟΤΥΠΗ ΚΑΜΠΥΛΗ FOLIN – CIOCALTEU

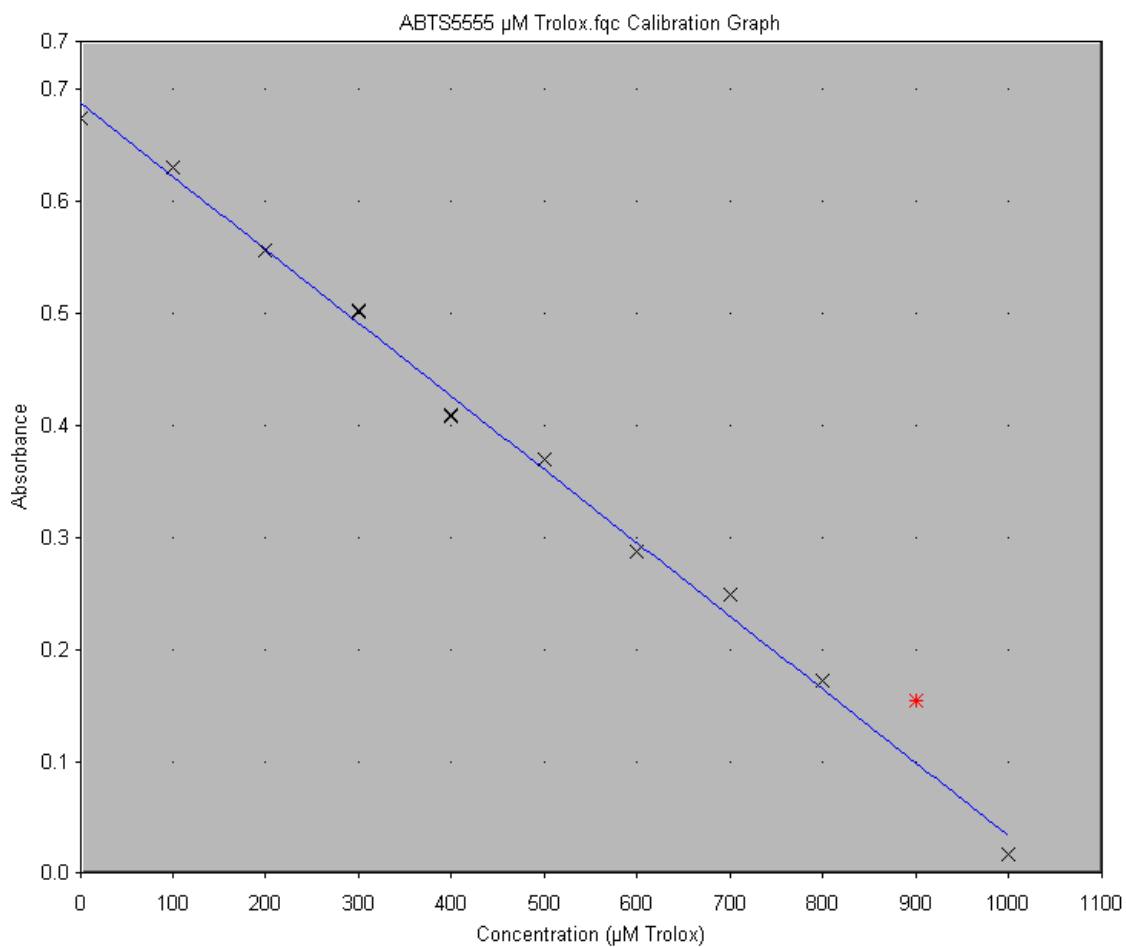
Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης, όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 4.5.1.2., έγινε μέτρηση της απορρόφησης διαφορετικών συγκεντρώσεων γαλλικού οξέος στα 760 nm με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου.



Σχήμα 3. Πρότυπη καμπύλη Folin - Ciocalteu

### 5.1.2. ΠΡΟΤΥΠΗ ΚΑΜΠΥΛΗ ABTS

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης, όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 4.5.2.2., έγινε μέτρηση της απορρόφησης διαφορετικών συγκεντρώσεων Trolox στα 734 nm με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου.

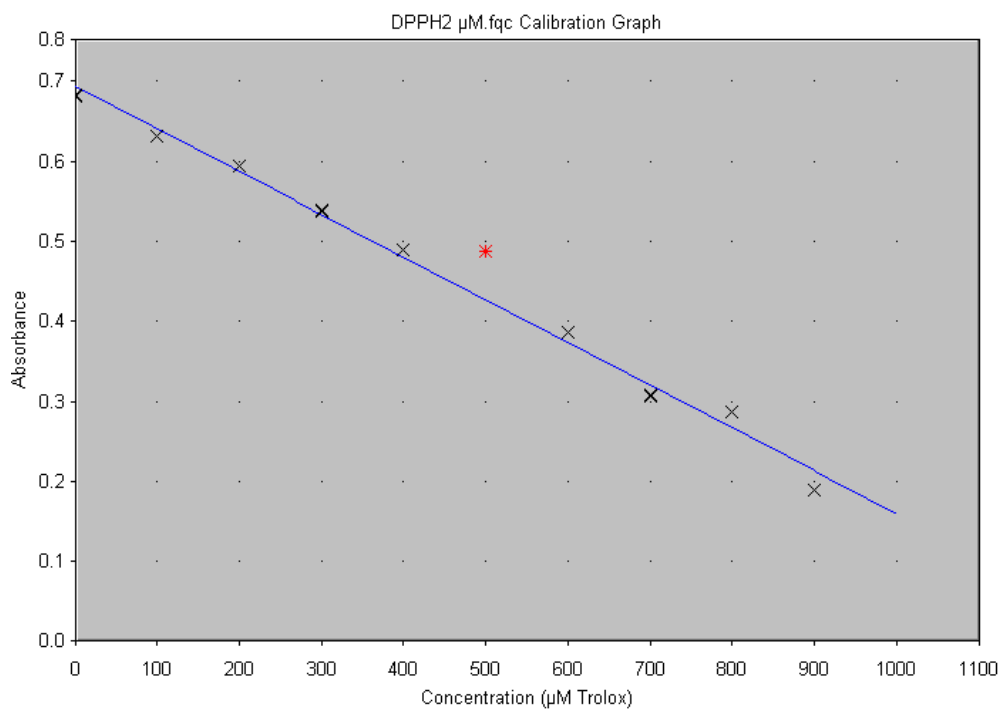


Σχήμα 4. Πρότυπη καμπύλη ABTS



### 5.1.3. ΠΡΟΤΥΠΗ ΚΑΜΠΥΛΗ DPPH

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης, όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 4.5.3.2., έγινε μέτρηση της απορρόφησης διαφορετικών συγκεντρώσεων Trolox στα 517 nm με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου.



Σχήμα 5. Πρότυπη καμπύλη DPPH

## 5.1.4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΡΑΣΙΟΥ

### 5.1.4.1. ΜΕΘΟΔΟΣ Folin –Ciocalteu

Τα αποτελέσματα των αναλύσεων με την μέθοδο Folin – Ciocalteu

Πίνακας 4. Αποτελέσματα προσδιορισμού φαινολικών ουσιών σε δείγματα κρασιού

<b>ΔΕΙΓΜΑΤΑ</b>	<b>760 nm</b>	<b>ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (mg/L)</b>
A1	0,425	129,87
	0,432	131,79
	0,428	130,83
A2	0,554	166,84
	0,539	162,75
	0,547	164,79
A3	0,651	194,78
	0,623	186,63
	0,637	190,71
A4	0,843	249,95
	0,826	245,18
	0,835	247,56
A5	0,343	106,30
	0,361	111,49
	0,352	108,89
A6	0,461	140,17
	0,472	143,25
	0,466	141,71
A7	0,465	141,35
	0,464	140,95
	0,464	141,15
A8	0,620	185,91
	0,619	185,48
	0,619	185,70

### 5.1.4.2. ΜΕΘΟΔΟΣ ABTS

Πίνακας 5. Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής ικανότητας σε δείγματα κρασιού

<b>ΔΕΙΓΜΑΤΑ</b>	<b>734 nm</b>	<b>ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (<math>\mu\text{M Trolox}</math>)</b>
A1	0,338	1068,86
	0,325	1106,93
	0,332	1087,90
A2	0,177	1562,38
	0,180	1551,94
	0,178	1557,16
A3	0,085	1842,34
	0,092	1820,38
	0,089	1831,36
A4	0,075	1817,03
	0,073	1878,75
	0,074	1876,39
A5	0,227	1438,27
	0,218	1463,58
	0,223	1450,92
A6	0,210	1489,19
	0,215	1473,85
	0,213	1481,52
A7	0,156	1661,82
	0,151	1675,20
	0,154	1668,51
A8	0,067	1941,53
	0,066	1943,88
	0,067	1942,71

### 5.1.4.3. ΜΕΘΟΔΟΣ DPPH

Πίνακας 6. Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής ικανότητας σε δείγματα κρασιού

<b>ΔΕΙΓΜΑΤΑ</b>	<b>517 nm</b>	<b>ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (<math>\mu\text{M Trolox}</math>)</b>
A1	0,513	678,172
	0,529	617,67
	0,521	647,92
A2	0,352	1279,00
	0,351	1284,24
	0,351	1281,62
A3	0,359	1253,15
	0,368	1221,16
	0,363	1237,15
A4	0,295	1491,37
	0,307	1447,28
	0,301	1469,33
A5	0,441	946,28
	0,452	903,67
	0,447	924,98
A6	0,416	1037,90
	0,424	1011,08
	0,420	1024,49
A7	0,429	992,60
	0,422	1016,29
	0,425	1004,44
A8	0,367	1221,76
	0,370	1212,52
	0,369	1217,14

### **5.1.5. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ**

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης ενός παραγόντα (one-way ANOVA) και γραμμική συσχέτιση με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος MINITAB 14.

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

- A. Να υπάρχει κανονικότητα. Αρχικά ο έλεγχος της κανονικότητας γίνεται για το κάθε δείγμα ξεχωριστά με τη χρήση του ελέγχου Ryan – Joiner.
- B. Οι διακυμάνσεις όλων των ομάδων θα πρέπει να είναι ίσες μεταξύ τους. Ο έλεγχος που χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο της ομοιογένειας των διακυμάνσεων, είναι ο έλεγχος του Lavene (Πετρίδης, 2000)

#### **5.1.5.1. 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. (Σχήματα 6-8 παραρτήματος).

#### **5.1.5.2. ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΜΟΙΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΕΩΝ**

Για τον έλεγχο της ομοιογένειας των διακυμάνσεων πραγματοποιήθηκε ο στατιστικός έλεγχος του Levene. Ενδεικτικά παραθέτονται τα γραφήματα:

Από τον έλεγχο της ομοιογένειας των διακυμάνσεων του Levene συμπεραίνουμε ότι η τιμή P είναι παντού μεγαλύτερη από 0,05, που αυτό σημαίνει ότι υπάρχει ομοιογένεια των διακυμάνσεων για όλα τα δείγματα. (Σχήματα 9 – 11 παραρτήματος).

### **5.1.5.3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΝΟΝΑ**

#### **5.1.5.3.1. ABTS**

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από την στατιστική επεξεργασία, όπως αυτά παρουσιάζονται παραπάνω, για τις μετρήσεις που πάρθηκαν με την μέθοδο του ABTS, ανάμεσα στα δείγματα παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεσών ορών,  $P < 0,05$ . Αυτό σημαίνει ότι οι μέσοι όροι δεν είναι όλοι ίσοι μεταξύ τους, όπως ήταν αναμενόμενο υπάρχει στατιστική διαφορά στους μέσους όρους (Πίνακας 7 παραρτήματος).

Για τον εντοπισμό των διαφορών των δειγμάτων εφαρμόστηκε Tukey test. Όπως προκύπτει από τον έλεγχο, τα δείγματα κατατάσσονται με αύξουσα σειρά αντιοξειδωτικής ικανότητας ως εξής :

$$A1 < \underline{A5 = A6} < A2 < A7 < \underline{A3 = A4} < A8$$

Το δείγμα A8 εμφανίζει την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα και έχει στατιστικά μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από όλα τα άλλα δείγματα .Το δείγμα A4 εμφανίζει στατιστικά ίδια αντιοξειδωτική ικανότητα με το δείγμα A3 και μεγαλύτερη από τα υπόλοιπα .Το A7 και το A2 εμφανίζουν στατιστικά μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τα προηγούμενα αλλά εμφανώς μεγαλύτερη από τα υπόλοιπα δείγματα .Τα δείγματα A5 και A6 παρουσιάζουν στατιστικά ίδια αντιοξειδωτική ικανότητα αλλά μικρότερη από τα υπόλοιπα και το A1 εμφανίζει στατιστικά την

μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από όλα τα δείγματα(Πίνακας 8 παραρτήματος).

Από το γράφημα των ορίων εμπιστοσύνης καταλήγουμε στο ίδιο συμπέρασμα που μας παρουσίασε ο έλεγχος Anova. (Σχήμα 12 παραρτήματος).

### **5.1.5.3.2. DPPH**

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από την στατιστική επεξεργασία, όπως αυτά παρουσιάζονται παραπάνω, για τις μετρήσεις που πάρθηκαν με την μέθοδο του ABTS, ανάμεσα στα δείγματα παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεσών ορών,  $P < 0,05$ . Αυτό σημαίνει ότι οι μέσοι όροι δεν είναι όλοι ίσοι μεταξύ τους, όπως ήταν αναμενόμενο υπάρχει στατιστική διαφορά στους μέσους όρους (Πίνακας 9 παραρτήματος).

Για τον εντοπισμό των διαφορών των δειγμάτων εφαρμόστηκε Tukey test. Όπως προκύπτει από τον έλεγχο, τα δείγματα κατατάσσονται με αύξουσα σειρά αντιοξειδωτικής ικανότητας ως εξής :

$$A1 < \underline{A5 = A7 = A6} < \underline{A8 = A3 = A2} < A4$$

Το δείγμα A4 εμφανίζει στατιστικά την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα .Το δείγμα A2 εμφανίζει στατιστικά την ίδια αντιοξειδωτική ικανότητα με το A3 και το A8 και μεγαλύτερη από τα υπόλοιπα .Το δείγμα A6 παρουσιάζει και αυτό στατιστικά την ίδια αντιοξειδωτική ικανότητα με το A7 και το A5 η οποία όμως είναι μικρότερη από τα προηγούμενα δείγματα. Τέλος το A1 παρουσιάζει στατιστικά την μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από όλα τα δείγματα. (Πίνακας 10 παραρτήματος).

Από το γράφημα των ορίων εμπιστοσύνης καταλήγουμε στο ίδιο συμπέρασμα που μας παρουσίασε ο έλεγχος Anova. (Σχήμα 13 παραρτήματος).

### **5.1.5.3.3. FOLIN – CIOCALTEU**

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από την στατιστική επεξεργασία, όπως αυτά παρουσιάζονται παραπάνω, για τις μετρήσεις που πάρθηκαν με την μέθοδο του ABTS, ανάμεσα στα δείγματα παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεσών ορών,  $P < 0,05$ . Αυτό σημαίνει ότι οι μέσοι όροι δεν είναι όλοι ίσοι μεταξύ τους, όπως ήταν αναμενόμενο υπάρχει στατιστική διαφορά στους μέσους όρους (Πίνακας 11 παραρτήματος).

Για τον εντοπισμό των διαφορών των δειγμάτων εφαρμόστηκε Tukey test. Όπως προκύπτει από τον έλεγχο, τα δείγματα κατατάσσονται με αύξουσα σειρά αντιοξειδωτικής ικανότητας ως εξής :

$$A5 < \underline{A1 = A7 = A6} < A2 < \underline{A8 = A3} < A4$$

Το δείγμα A4 εμφανίζει στατιστικά την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα .Το δείγμα A3 εμφανίζει στατιστικά την ίδια αντιοξειδωτική ικανότητα με το A8 και μεγαλύτερη από τα υπόλοιπα .Το δείγμα A2 εμφανίζει στατιστικά μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τα δείγματα A8 A3 και A4 .Το δείγμα A6 παρουσιάζει στατιστικά την ίδια στατιστική ικανότητα με το A7 και το A1 και μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από το δείγμα A5 που παρουσιάζει την μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα. (Πίνακας 12 παραρτήματος).

Από το γράφημα των ορίων εμπιστοσύνης καταλήγουμε στο ίδιο συμπέρασμα που μας παρουσίασε ο έλεγχος Anova. (Σχήμα 14 παραρτήματος)



#### **5.1.5.4. ΓΡΑΜΜΙΚΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ**

##### **5.1.5.4.1. ABTS-FOLIN ,DPPH- FOLIN**

Υπάρχει θετική γραμμική συσχέτιση μεταξύ των μεθόδων ABTS-FOLIN και DPPH-FOLIN. Η πιο ισχυρή ( $R-Sq = 71,7\%$ ) και παράλληλα η πιο σημαντική στατιστικά είναι η συσχέτιση που αναπτύσσεται μεταξύ των μεθόδων FOLIN-DPPH ( $p=0,008$ ). Επίσης ισχυρή και σημαντική, αλλά λιγότερο ισχυρή ( $R-Sq = 54,0\%$ ) από τις προηγούμενες είναι η συσχέτιση που αναπτύσσεται μεταξύ των μεθόδων ABTS –FOLIN ( $p=0,038$ ) . (Πίνακας 13-14 παραρτήματος , σχήμα 15-16 παραρτήματος).

## 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το δείγμα A4 εμφανίζεται να έχει το υψηλότερο φαινολικό περιεχόμενο, ενώ ακολουθούν τα δείγματα A3 και A8, κατόπιν το A2, τα A1, A7 και A6 και τέλος το A5.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων σύμφωνα με τη μέθοδο ABTS ακολουθεί τη σειρά  $A1 < \underline{A5 = A6} < A2 < A7 < \underline{A3 = A4} < A8$ , ενώ με τη μέθοδο DPPH τη σειρά  $A1 < \underline{A5 = A7 = A6} < \underline{A8 = A3 = A2} < A4$ .

Συμπερασματικά, τα δείγματα A3, A4 και A8 εμφανίζουν τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα και στις δύο μεθόδους σε συμφωνία με το ολικό φαινολικό περιεχόμενο, γεγονός αναμενόμενο, καθώς κατά κύριο λόγο η αντιοξειδωτική δράση οφείλεται στις φαινολικές ενώσεις.

Η μέθοδος προσδιορισμού αντιοξειδωτικής ικανότητας που εμφανίζει μεγαλύτερη συσχέτιση με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu είναι η DPPH, γεγονός που είναι σύμφωνο με το σύνολο των αποτελεσμάτων που έχει ληφθεί σε αντίστοιχους προσδιορισμούς σε τρόφιμα, αλλά και τη διεθνή βιβλιογραφία.

## **7. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ:**

- 1) Η αξιολόγηση περισσότερων δειγμάτων «Ασύρτικού».
- 2) Η σύγκριση με δείγματα άλλων ποικιλιών και ερμηνεία της πιθανής διαφοροποίησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας.
- 3) Η διευκρίνιση του φαινολικού προφίλ των δειγμάτων.
- 4) Η χρήση και άλλων μεθόδων προσδιορισμού αντιοξειδωτικής ικανότητας, κυρίως ενζυμικών.

## **8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

### ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

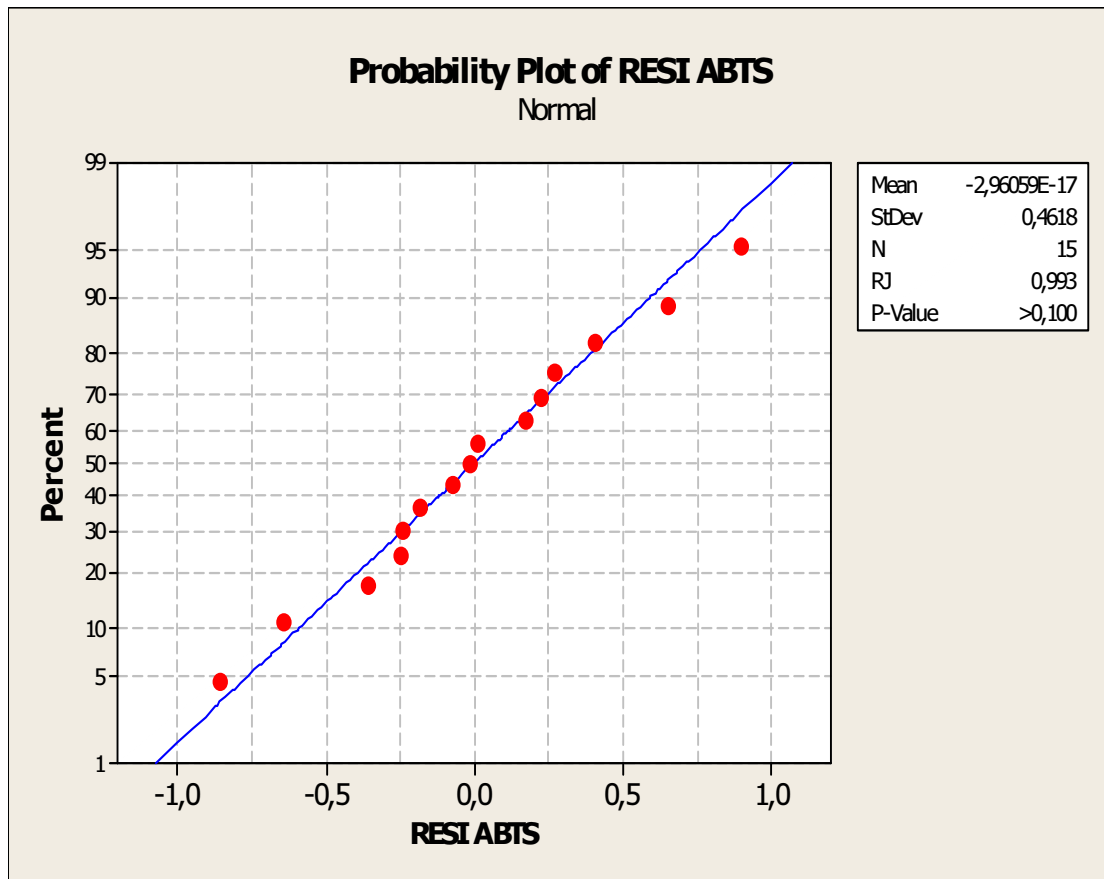
- Βαλαβανίδης Αθ., Ελεύθερες ρίζες στην οργανική χημεία (Φυσικοχημικές ιδιότητες, Φασματοσκοπία, Μηχανισμοί ελευθέρων ριζών, Σύνθεση οργανικών ενώσεων και εφαρμογές), Έκδοση: τμήμα Χημείας, Πανεπιστημίου Αθηνών 2006
- Γαλάρης Δ., Ελεύθερες Ρίζες, Χημεία Βιοχημεία, Ιατρική Σχολή Ιωαννίνων, 2001
- Κουιμτζής, 1982. Φασματομετρία Υπεριώδους-Ορατού.Ενόργανη χημική ανάλυση,σελ.89-102,Δεύτερη έκδοση Γραφικές τέχνες .Θεσσαλονίκη.
- Μπόσκος Δ., Χημεία Τροφίμων, 4<sup>η</sup> Έκδοση, Κεφ. ΙΧ, σελ 230, 231-232, Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη, 1997
- Πολυχρονιάδου-Αλιχανίδου,.Φασματοσκοπία.Ανάλυση τροφίμων,σελ.61-87,Ε΄Έκδοση,Εκδόσεις Γαρταγάνη,Θεσσαλονίκη 1996
- Σουφλερός Ε. Οινολογία Επιστήμη και Τεχνογνωσία, τόμος Ι, σελ 7, 119, 122, 191-194, 197-198, 203, Τυπογραφία Παπαγεωργίου, Θεσσαλονίκη, 1997
- Σταυρούλα Κουράκου-Δραγώνα,Θέματα οινολογίας ,Εκδόσεις Τροχαλία,1998.
- Φουρτουνόπουλος Δ.Επιστήμη τροφίμων ΙΙ, Τμήμα εκδόσεων Α.Τ.Ε.Ι.Θ. 2004

## ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

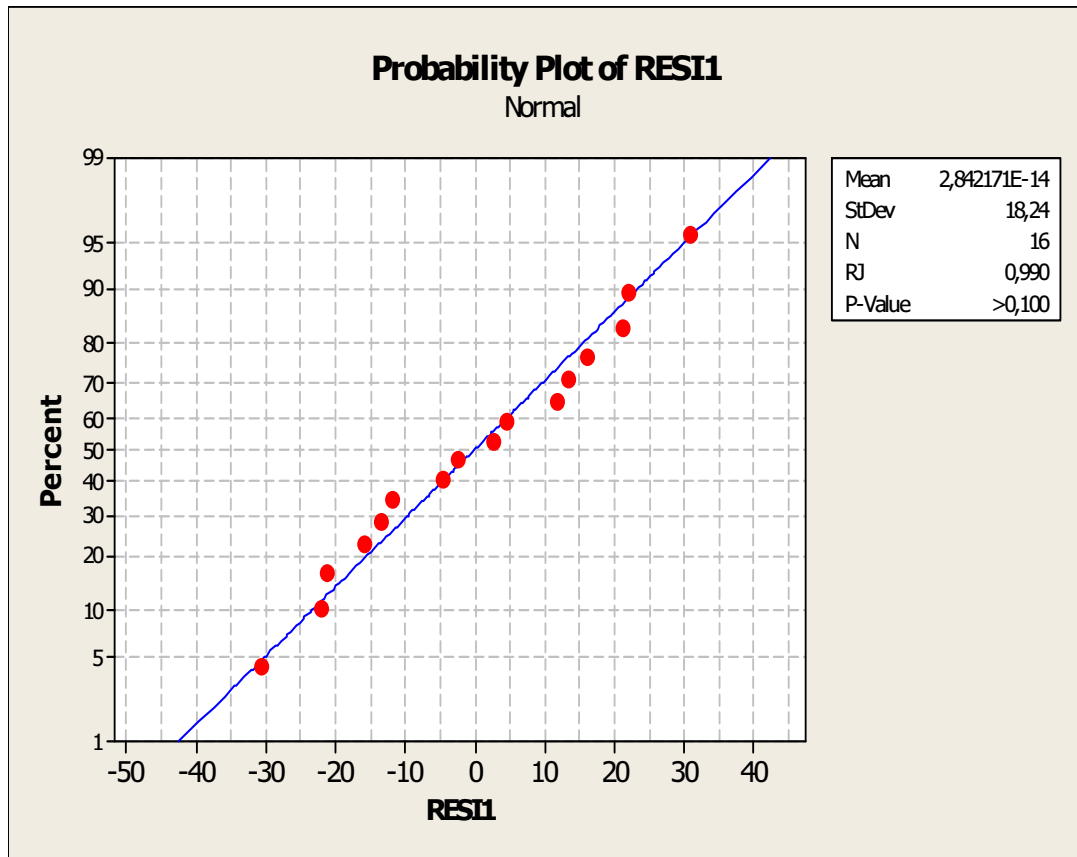
- Buc-Calderon, P. Sipe Jr., Flitter, W., Mason, R. P., Robertfroid, M. N-Acyl dehydroalanines scavenge oxygen radicals and inhibit in vitro free radical mediated processes, *Chemico-Biological Interactions*, **73**, 77-88, 1990
- Fereidoon S., *Natural antioxidants (Chemistry, Health effects, and applications)* AOCS press.
- Groff J. L. and Gropper S. S., *Advanced Nutrition and Human Metabolism* Wadsworth Thompson Learning, 2000
- He G., Samouilov A., Kuppusamy P. and Zweier J.L. "In vivo imaging of free radicals: Applications from mouse to man", *Mol. Cell. Biochem*, **234**, 359-367, 2002.
- Opie L., Lecour S. The red wine hypothesis: from concepts to protective signalling molecules. *Eur Heart J.* Jul 28(14)1683-93, 2007 .
- Packer L (ed.). *Methods in Enzymology Vol 299, Oxidants and Antioxidants (Part A)*, Academic Press, San Diego. 1999.
- Papas Andreas M., *Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health*, (5,6), 1999.
- phenolic content of red, rose and white wine. *Food Chem.* 105, 204-214, 2007.

- Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M. Antioxidants in Food Practical Applications, Woodhead Publishing Limited, 2001.
- Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M. Antioxidants in Food Practical Applications, Woodhead Publishing Limited, 2001.
- Rixao N., Perestrelo R., Marques J.C., Camara J.S. Relationship between antioxidant capacity and total
- 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.
- Roussis I.G., Lampropoulos I., Tzimas P., Gkoulioti A., Marinos V., Tsoupeis D., Boutaris I., Antioxidant activities of some Greek wines and wine phenolic extracts, *J. Food Comp. Anal.*, 21, 614-621, 2008.
- 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.
- Singh B.R., Wecheter M.A., Hu Y., Lafontaine C., Determination of caffeine content in coffee using Fourier transform infra-red spectroscopy in combination with attenuated total reflectance technique: a biochemists. *Biochemical Education*, 26, 243-247, USA, 1998.
- Vaya J. and Aviram M. Nutritional antioxidants: mechanisms of action and medical applications. *Current Medicinal Chemistry-Immunology Endocrinology and Metabolic Agents*, 1, 99-117, 2001.

## 10. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

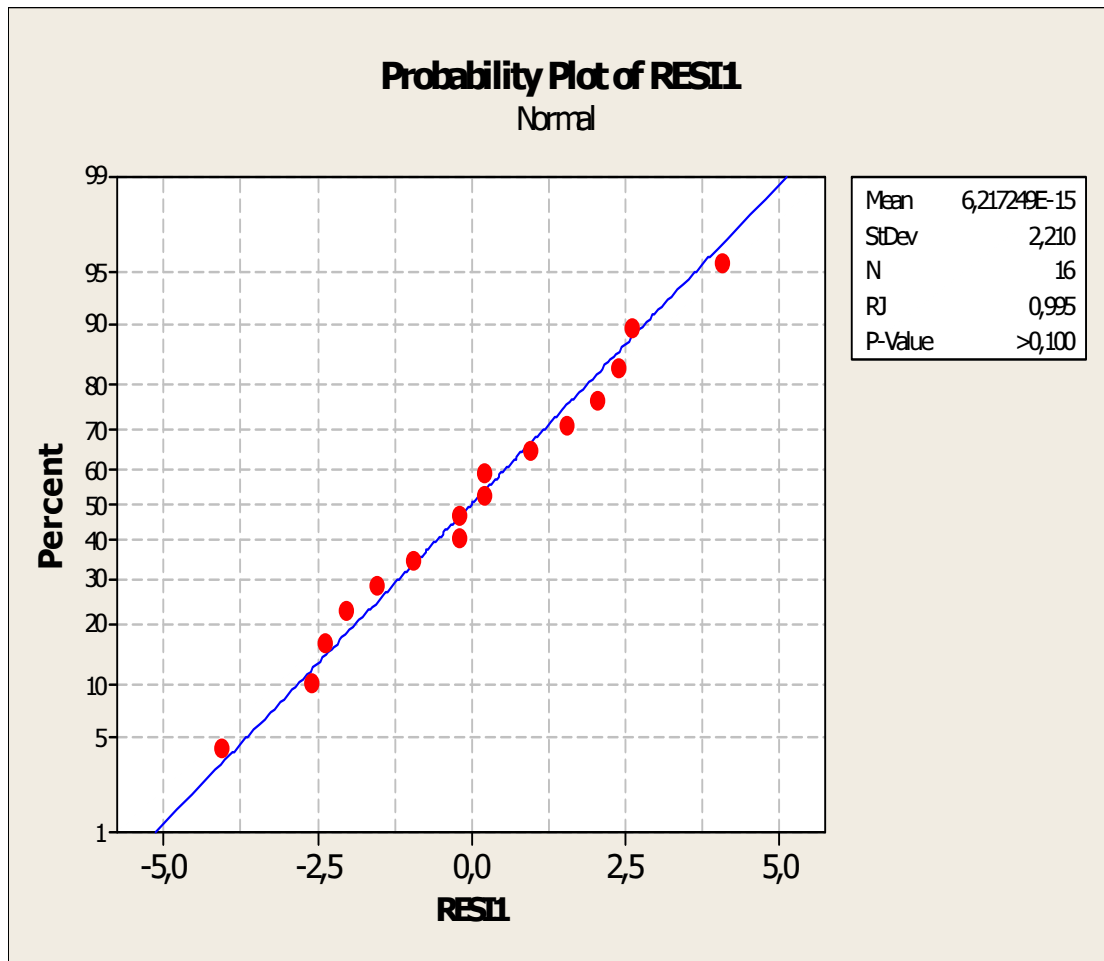


Σχήμα 6. Έλεγχος κανονικότητας των δειγμάτων κρασιού που αναλύθηκαν με τη μέθοδο του ABTS

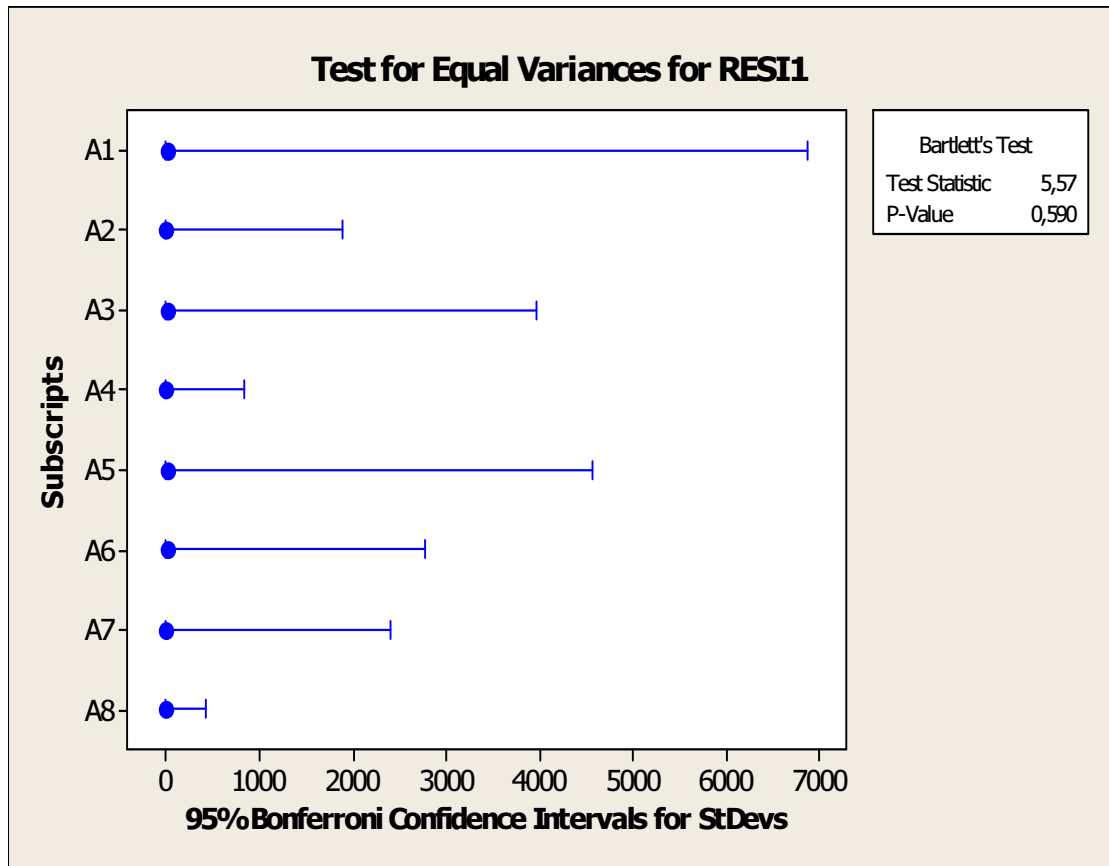


Σχήμα 7. Έλεγχος κανονικότητας των δειγμάτων κρασιού που αναλύθηκαν με τη μέθοδο του DPPH

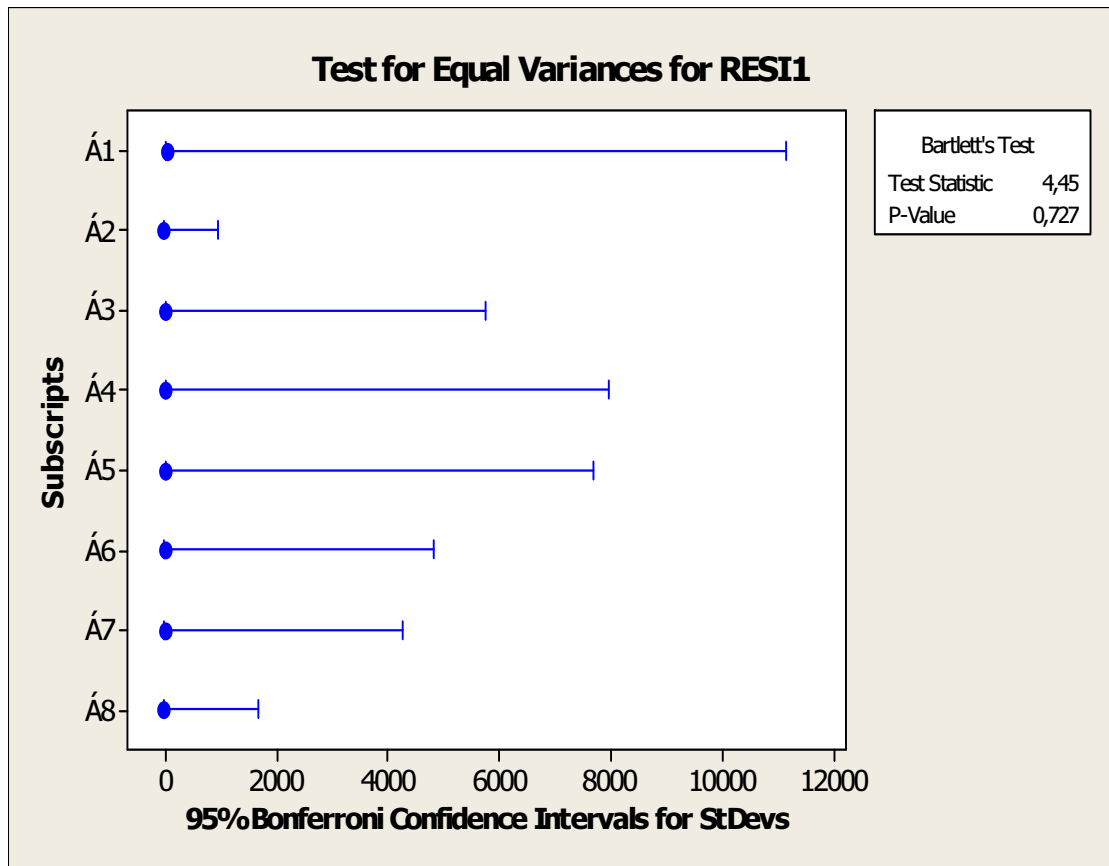




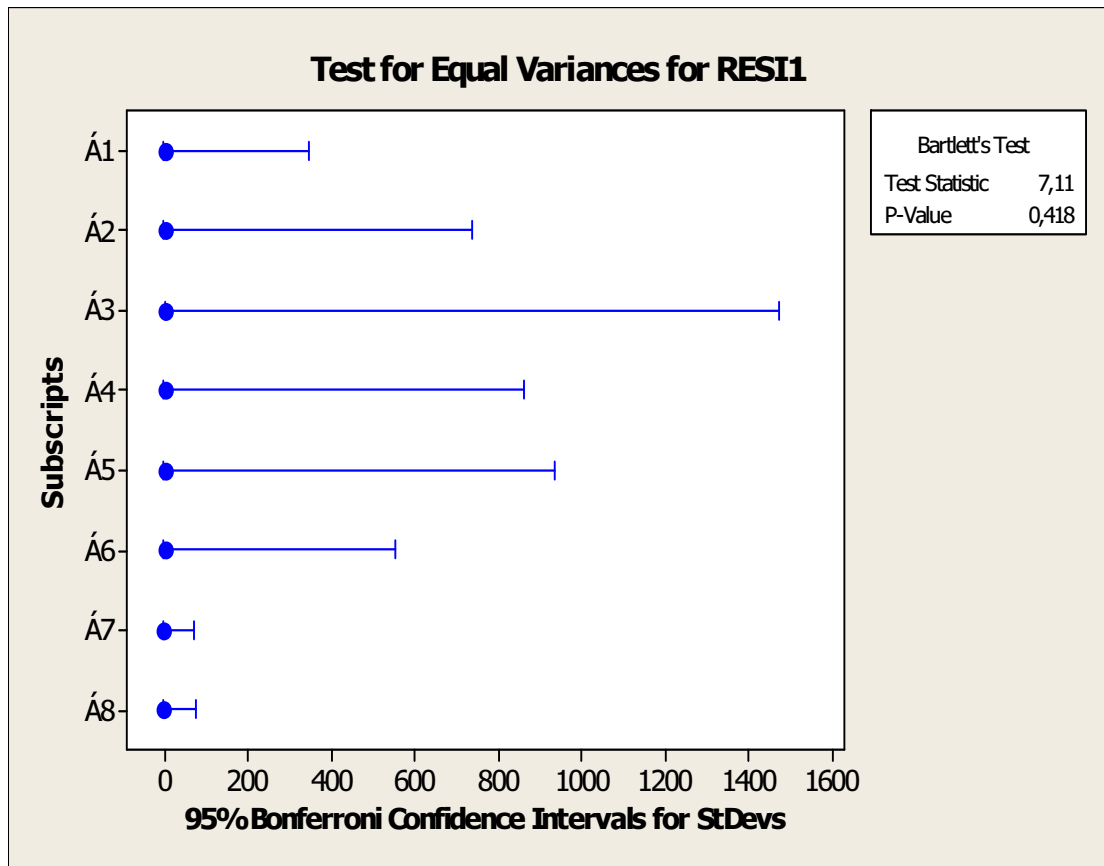
Σχήμα 8. Έλεγχος κανονικότητας των δειγμάτων κρασιού που αναλύθηκαν με τη μέθοδο του Folin – Ciocalteu



Σχήμα 9: Έλεγχος της ομοιογένειας των διακυμάνσεων των δειγμάτων κρασιού που αναλύθηκαν με τη μέθοδο του ABTS



Σχήμα 10: Έλεγχος της ομοιογένειας των διακυμάνσεων των δειγμάτων κρασιού που αναλύθηκαν με τη μέθοδο του DPPH



Σχήμα 11: Έλεγχος της ομοιογένειας των διακυμάνσεων των δειγμάτων κρασιού που αναλύθηκαν με τη μέθοδο του Folin – Ciocalteu

Πίνακας 7: αποτελέσματα ONE-WAY ANOVA για την μέθοδο ABTS σε δείγματα κρασιού

**One-way ANOVA: C2 versus Subscripts**

Source	DF	SS	MS	F	P
Subscripts	7	1102479	157497	806,82	0,000
Error	8	1562	195		
Total	15	1104040			

S = 13,97    R-Sq = 99,86%    R-Sq(adj) = 99,73%

Πίνακας 8: αποτελέσματα από την εφαρμογή του tukey test για την μέθοδο ABTS σε δείγματα κρασιών

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals

All Pairwise Comparisons among Levels of Subscripts

Individual confidence level = 99,58%

**Subscripts = A1 subtracted from:**

Subscripts	Lower	Center	Upper	
A2	413,93	469,26	524,58	(-*)
A3	688,13	743,46	798,78	(-*)
A4	733,16	788,49	843,81	(-*)
A5	307,70	363,03	418,35	(*)
A6	338,30	393,62	448,94	(-*)
A7	525,29	580,61	635,94	(-*)
A8	799,48	854,81	910,13	(* -)

-----+-----+-----+-----+-----  
 -400                      0                      400                      800

**Subscripts = A2 subtracted from:**

Subscripts	Lower	Center	Upper	
A3	218,88	274,20	329,52	(-*)
A4	263,91	319,23	374,55	(*)
A5	-161,56	-106,23	-50,91	(* -)
A6	-130,96	-75,64	-20,31	(*)
A7	56,03	111,35	166,68	(-*)
A8	330,22	385,55	440,87	(-*)

-400      0      400      800

**Subscripts = A3 subtracted from:**

Subscripts	Lower	Center	Upper	
A4	-10,29	45,03	100,35	(* -)
A5	-435,76	-380,43	-325,11	(* -)
A6	-405,16	-349,84	-294,51	(* -)
A7	-218,17	-162,85	-107,52	(*)
A8	56,02	111,35	166,67	(-*)

-400      0      400      800

**Subscripts = A4 subtracted from:**

Subscripts	Lower	Center	Upper	
A5	-480,79	-425,46	-370,14	(* -)
A6	-450,19	-394,87	-339,54	(* -)
A7	-263,20	-207,88	-152,55	(-*)
A8	10,99	66,32	121,64	(-*)

-400                      0                      400                      800

**Subscripts = A5 subtracted from:**

Subscripts	Lower	Center	Upper	
A6	-24,73	30,59	85,92	(-*)
A7	162,26	217,59	272,91	(* -)
A8	436,46	491,78	547,11	(* -)

-400                      0                      400                      800

**Subscripts = A6 subtracted from:**

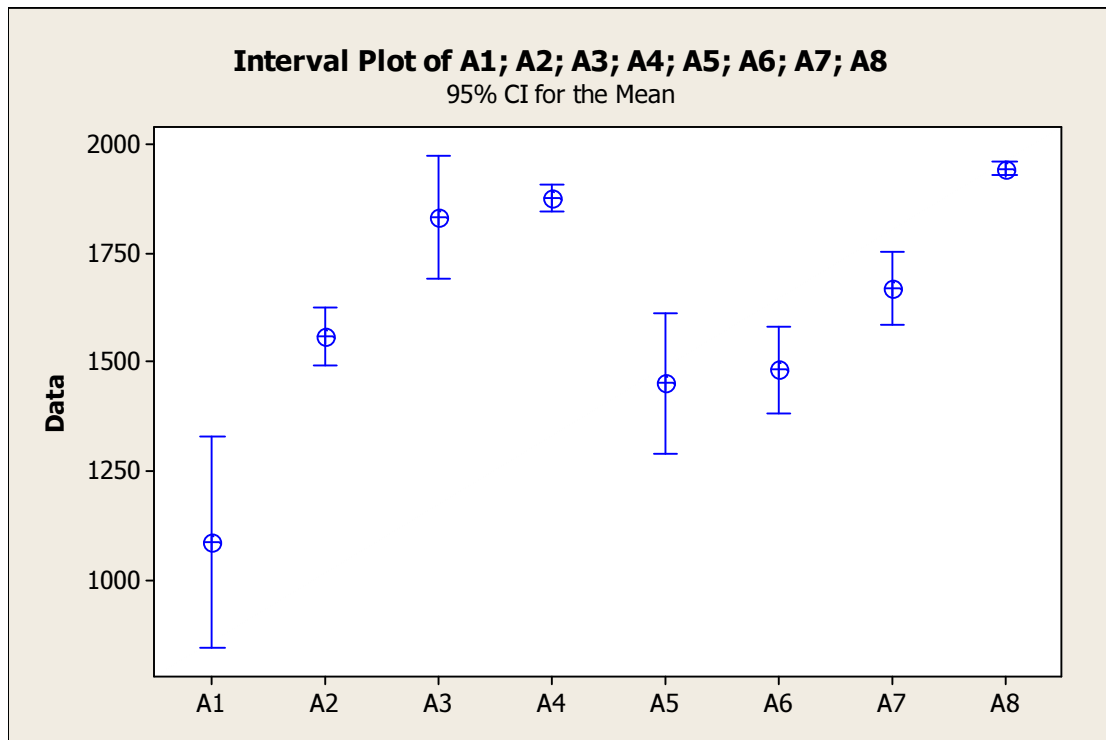
Subscripts	Lower	Center	Upper	
A7	131,67	186,99	242,32	(-*)
A8	405,86	461,19	516,51	(-*)

-400                      0                      400                      800

Subscripts = A7 subtracted from:

Subscripts	Lower	Center	Upper	
A8	218,87	274,19	329,52	(-*)

-400                      0                      400                      800



Σχήμα 12: Γράφημα ορίων εμπιστοσύνης 95% για την μέθοδο του ABTS για τα δείγματα κρασιών



Πίνακας 9. αποτελέσματα ONE-WAY ANOVA για την μέθοδο  
DPPH σε δείγματα κρασιών

**One-way ANOVA: C2 versus Subscripts**

Source	DF	SS	MS	F	P
Subscripts	7	904623	129232	207,20	0,000
Error	8	4990	624		
Total	15	909613			

S = 24,97    R-Sq = 99,45%    R-Sq(adj) = 98,97%

Πίνακας 10: αποτελέσματα από την εφαρμογή του tukey test για  
την μέθοδο DPPH σε δείγματα κρασιών

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals

All Pairwise Comparisons among Levels of  
Subscripts

Individual confidence level = 99,58%

**Subscripts = A 1 subtracted from:**

Subscripts	Lower	Center	Upper	
A 2	535,41	634,30	733,19	(--*-)
A 3	490,94	589,84	688,73	(--*-)
A 4	723,12	822,01	920,90	(--*-)
A 5	178,74	277,63	376,52	(--*-)
A 6	278,28	377,17	476,06	(-*--)
A 7	258,24	357,13	456,02	(--*-)
A 8	470,93	569,82	668,71	(-*--)

-----+-----+-----+-----+-----  
 -400                      0                      400                      800

**Subscripts = A 2 subtracted from:**

Subscripts	Lower	Center	Upper	
A 3	-143,36	-44,47	54,42	(--*-)
A 4	88,81	187,70	286,60	(--*-)
A 5	-455,56	-356,67	-257,78	(-*--)
A 6	-356,02	-257,13	-158,24	(--*-)
A 7	-376,07	-277,18	-178,28	(-*--)
A 8	-163,37	-64,48	34,41	(-*--)

-----+-----+-----+-----+-----  
 -400                      0                      400                      800

**Subscripts = A 3 subtracted from:**

Subscripts	Lower	Center	Upper	
A 4	133,28	232,17	331,06	(--*-)
A 5	-411,10	-312,20	-213,31	(-*--)
A 6	-311,56	-212,66	-113,77	(--*-)
A 7	-331,60	-232,71	-133,82	(-*--)
A 8	-118,91	-20,01	78,88	(-*--)

-----+-----+-----+-----  
 -400                    0                    400                    800

**Subscripts = A 4 subtracted from:**

Subscripts	Lower	Center	Upper	
A 5	-643,27	-544,38	-445,49	(-*--)
A 6	-543,73	-444,84	-345,95	(--*-)
A 7	-563,77	-464,88	-365,99	(-*--)
A 8	-351,08	-252,19	-153,30	(--*-)

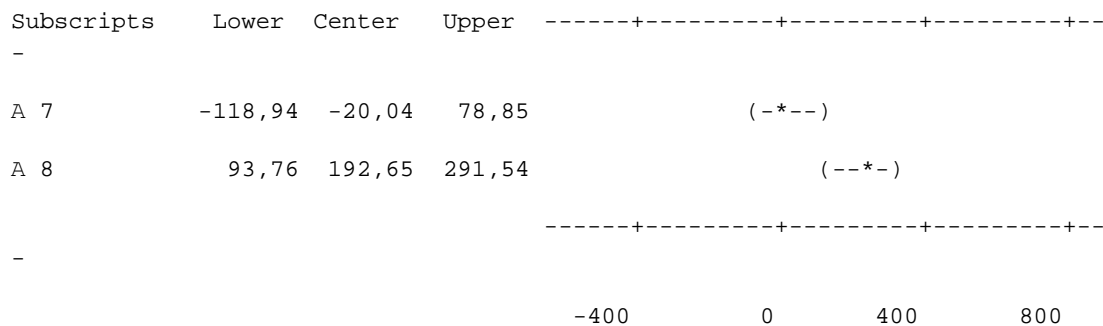
-----+-----+-----+-----  
 -400                    0                    400                    800

**Subscripts = A 5 subtracted from:**

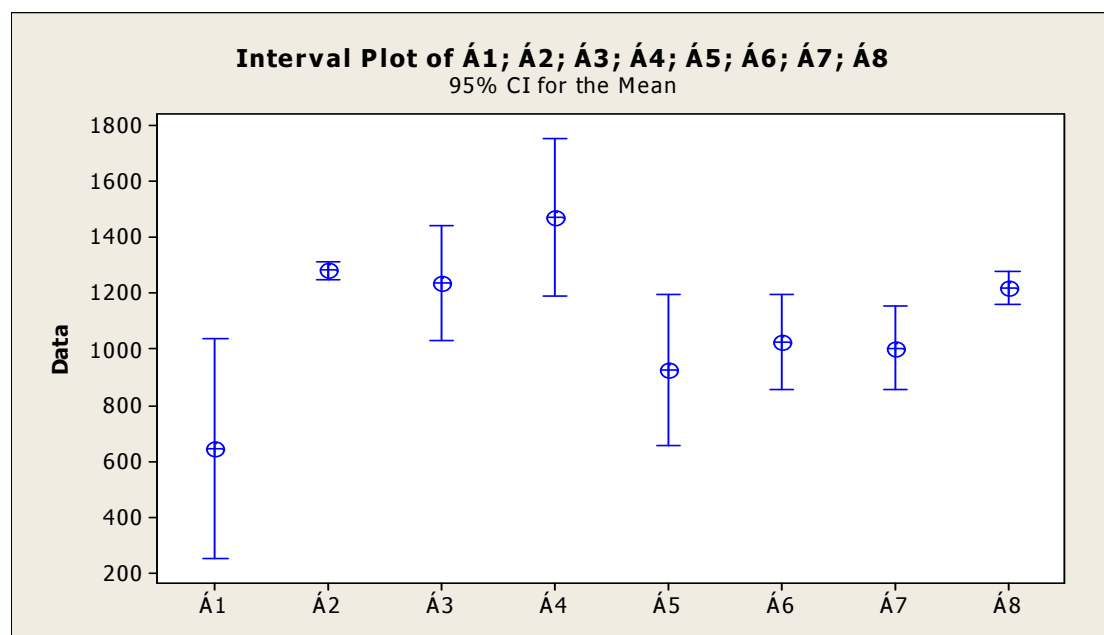
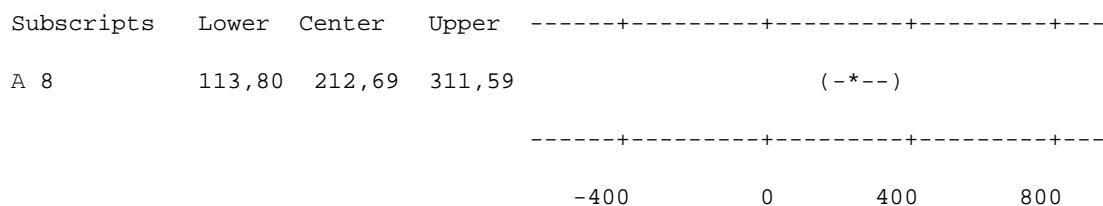
Subscripts	Lower	Center	Upper	
A 6	0,65	99,54	198,43	(-*--)
A 7	-19,40	79,50	178,39	(-*--)
A 8	193,30	292,19	391,08	(-*--)

-----+-----+-----+-----  
 -400                    0                    400                    800

**Subscripts = A 6 subtracted from:**



**Subscripts = A 7 subtracted from:**



**Σχήμα 13: Γράφημα ορίων εμπιστοσύνης 95% για την μέθοδο του DPPH για τα δείγματα κρασιών**

Πινάκας 11. αποτελέσματα ONE-WAY ANOVA για την μέθοδο Folin-ciocalteu σε δείγματα κρασιών

**One-way ANOVA: C2 versus Subscripts**

Source	DF	SS	MS	F	P
Subscripts	7	26646,42	3806,63	415,81	0,000
Error	8	73,24	9,15		
Total	15	26719,66			

S = 3,026    R-Sq = 99,73%    R-Sq(adj) = 99,49%

Πινάκας 12: αποτελέσματα από την εφαρμογή του tukey test για την μέθοδο Folin -ciocalteu σε δείγματα κρασιών

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals

All Pairwise Comparisons among Levels of Subscripts

Individual confidence level = 99,58%

**Subscripts = A 1 subtracted from:**

Subscripts	Lower	Center	Upper	
A 2	21,98	33,96	45,94	(*-)
A 3	47,90	59,88	71,86	(*-)
A 4	104,75	116,74	128,72	(-*)
A 5	-33,92	-21,94	-9,95	(*-)
A 6	-1,10	10,88	22,86	(*-)
A 7	-1,66	10,32	22,31	(*-)
A 8	42,89	54,87	66,85	(-*)

-----+-----+-----+-----+  
 -80                    0                    80                    16

**Subscripts = A 2 subtracted from:**

Subscripts	Lower	Center	Upper	
A 3	13,93	25,91	37,90	(*-)
A 4	70,79	82,77	94,75	(*-)
A 5	-67,88	-55,90	-43,92	(*-)
A 6	-35,06	-23,08	-11,10	(*-)
A 7	-35,62	-23,64	-11,66	(*-)
A 8	8,92	20,90	32,89	(-*)

-----+-----+-----+-----+  
 -80                    0                    80                    160

**Subscripts = A 3 subtracted from:**

Subscripts	Lower	Center	Upper	
A 4	44,88	56,86	68,84	(* -)
A 5	-93,79	-81,81	-69,83	(-*)
A 6	-60,98	-48,99	-37,01	(-*)
A 7	-61,53	-49,55	-37,57	(-*)
A 8	-16,99	-5,01	6,97	(* -)

-----+-----+-----+-----+  
 -80                    0                    80                    160

**Subscripts = A 4 subtracted from:**

Subscripts	Lower	Center	Upper	
A 5	-150,65	-138,67	-126,69	(-*)
A 6	-117,83	-105,85	-93,87	(-*)
A 7	-118,39	-106,41	-94,43	(-*)
A 8	-73,85	-61,87	-49,89	(* -)

-----+-----+-----+-----+  
 -80                    0                    80

**Subscripts = A 5 subtracted from:**

Subscripts	Lower	Center	Upper	
A 6	20,84	32,82	44,80	(* -)
A 7	20,28	32,26	44,24	(* -)
A 8	64,82	76,80	88,78	(-*)

-----+-----+-----+-----+  
 -80                    0                    80                    160

**Subscripts = A 6 subtracted from:**

Subscripts	Lower	Center	Upper	
A 7	-12,54	-0,56	11,42	(-*)
A 8	32,00	43,98	55,97	(* -)

-----+-----+-----+-----+

-80            0            80            160

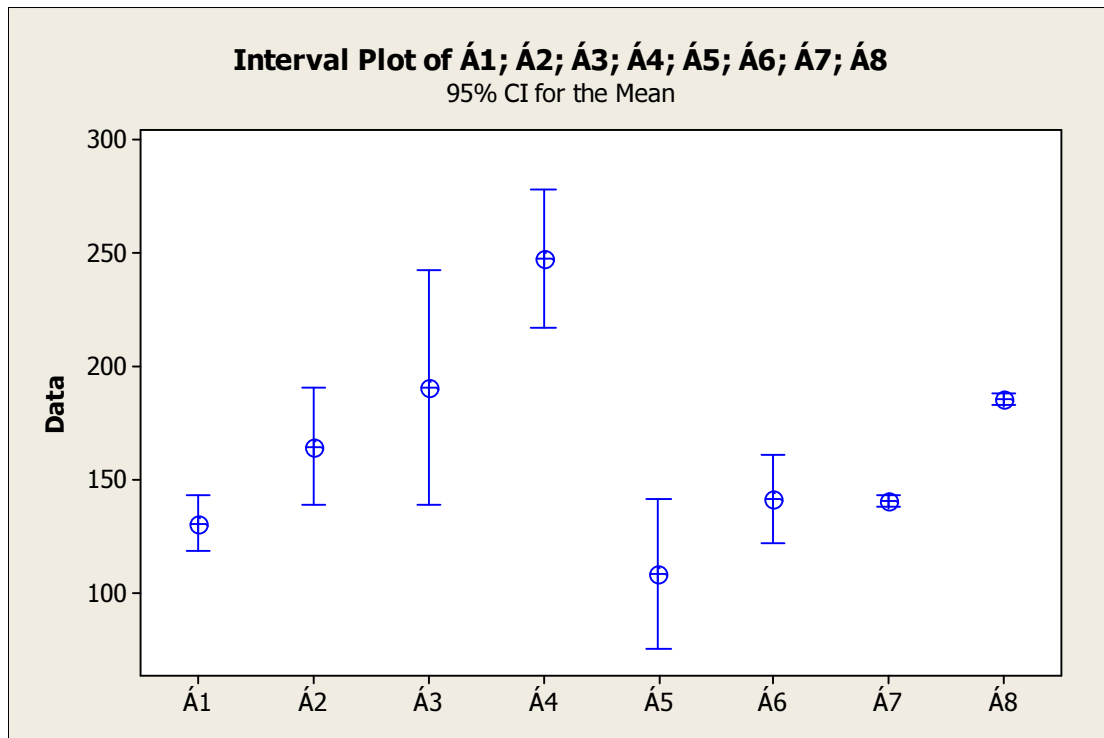
**Subscripts = A 7 subtracted from:**

Subscripts	Lower	Center	Upper	
A 8	32,56	44,54	56,52	(-*)

-----+-----+-----+-----+

-80            0            80            160





Σχήμα 14: Γράφημα ορίων εμπιστοσύνης 95% για την μέθοδο του Folin-ciocalteu για τα δείγματα κρασιών

Πινάκας 13. Αποτελέσματα γραμμικής παλινδρόμησης μεταξύ ABTS-FOLIN

### Regression Analysis: DPPH versus FOLIN

The regression equation is

$$\text{DPPH} = 292,4 + 4,932 \text{ FOLIN}$$

$$S = 145,882 \quad R\text{-Sq} = 71,7\% \quad R\text{-Sq}(\text{adj}) = 67,0\%$$

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	324069	324069	15,23	0,008
Error	6	127689	21282		
Total	7	451759			

Πινάκας 14. Αποτελέσματα γραμμικής παλινδρόμησης μεταξύ  
ABTS-FOLIN

**Regression Analysis: ABTS versus FOLIN**

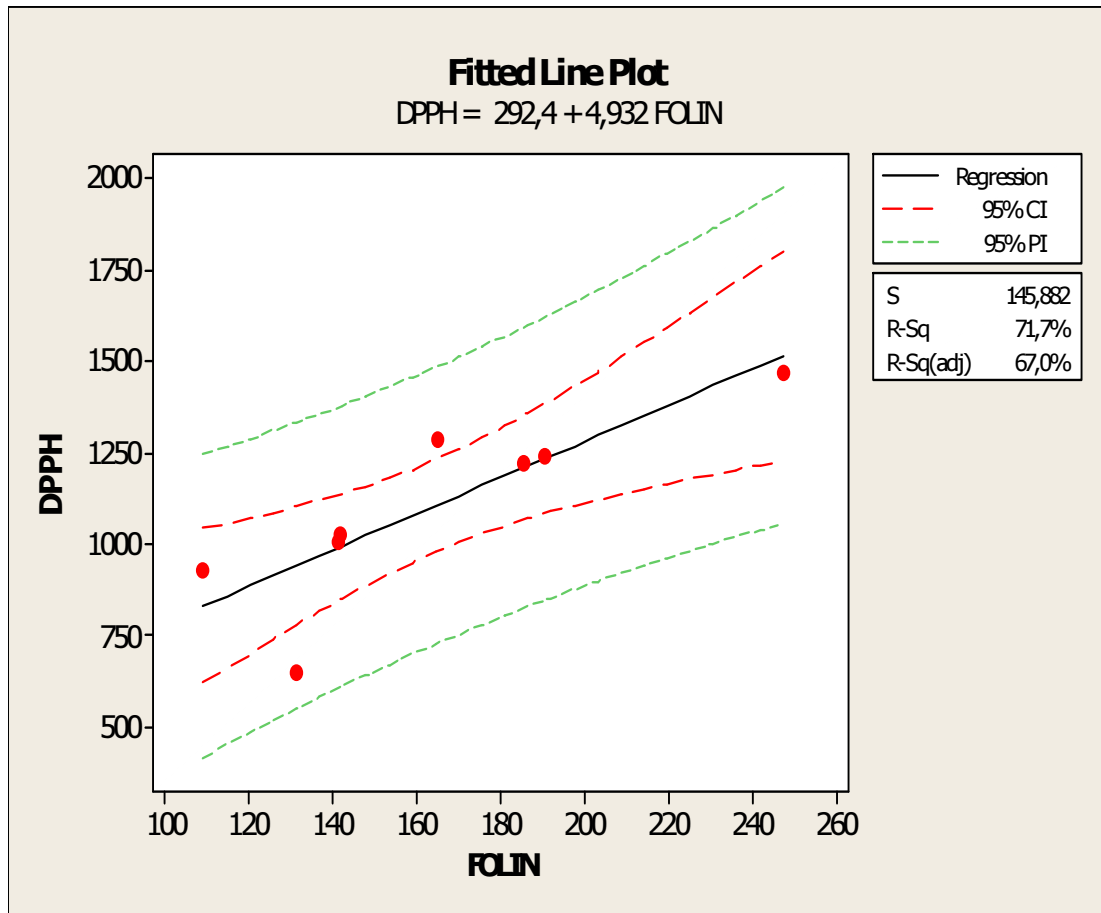
The regression equation is

$$\text{ABTS} = 837,5 + 4,725 \text{ FOLIN}$$

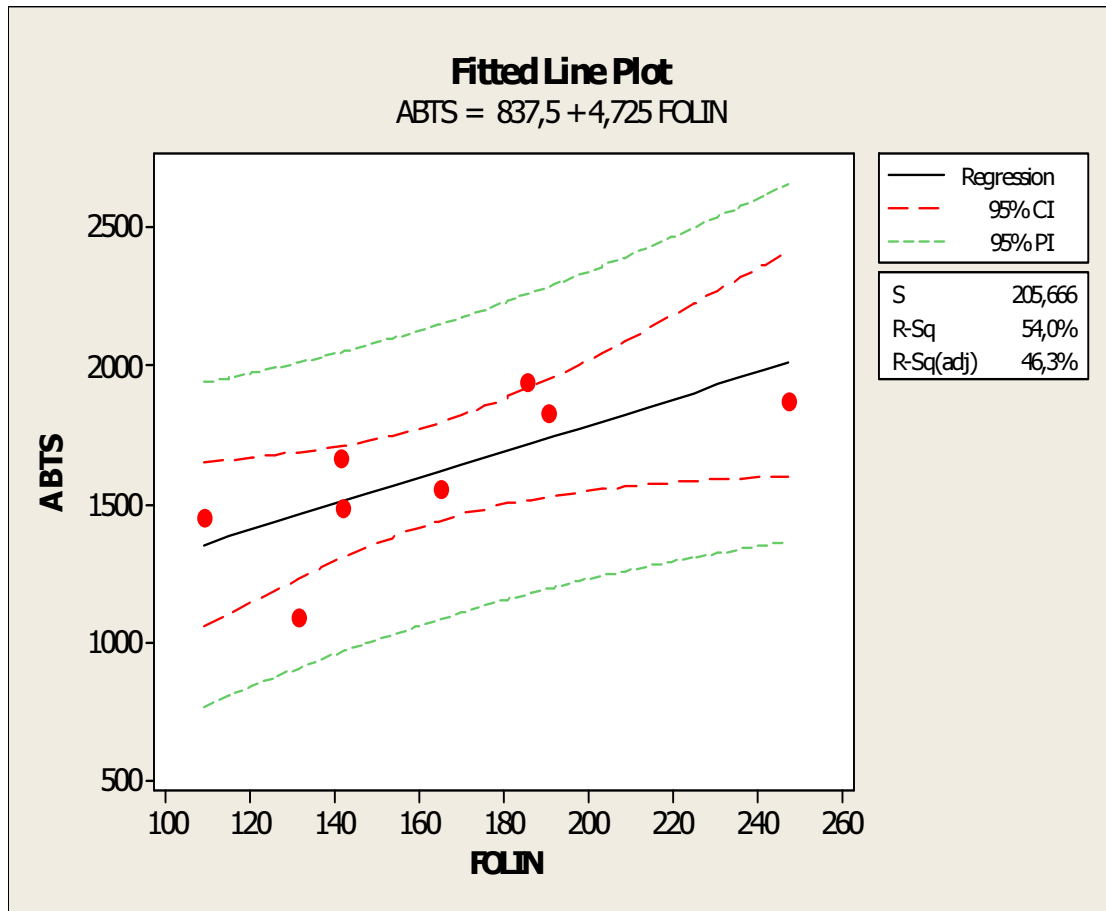
$$S = 205,666 \quad R\text{-Sq} = 54,0\% \quad R\text{-Sq}(\text{adj}) = 46,3\%$$

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	297452	297452	7,03	0,038
Error	6	253792	42299		
Total	7	551243			



Σχήμα 15. Γράφημα γραμμικής συσχέτισης μεταξύ DPPH-FOLIN



Σχήμα 16. Γράφημα γραμμικής συσχέτισης μεταξύ ABTS –FOLIN





