



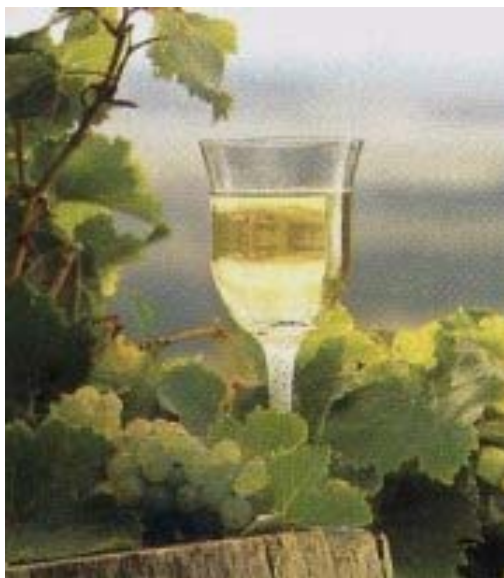
**ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ**  
**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ**  
**ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ, ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ  
ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

---

**Μεταβολές στο αντιοξειδωτικό περιεχόμενο και στην  
αντιοξειδωτική δράση ελληνικών λευκών κρασιών  
κατά την ωρίμανση**

**Πτυχιακή Μελέτη**  
**Χρυσάνθη Συρίμπεη**



**Τριμελής επιτροπή:**

Καραθάνος Βάιος, Αναπληρωτής Καθηγητής  
Χίου Αντωνία, Λέκτορας  
Καλιώρα Ανδριάννα, Επιστημονική Συνεργάτης

**Επιβλέπων Καθηγητής:**

Καραθάνος Βάιος, Αναπληρωτής Καθηγητής

**ΑΘΗΝΑ 2006**

# Περιεχόμενα

|                | σελ. |
|----------------|------|
| Πρόλογος ..... | 5    |
| Περίληψη ..... | 7    |
| Abstract ..... | 9    |
| Σκοπός .....   | 11   |

## Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup> ΤΟ ΚΡΑΣΙ

|                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.1 Γενικά.....                                                                | 12 |
| 1.2 Έκταση αμπελοκαλλιέργειας, μέγεθος οινοπαραγωγής και οινοκατανάλωσης ..... | 13 |
| 1.3 Η σύσταση του σταφυλίου.....                                               | 15 |
| 1.3.1 Ο βόστρυχος .....                                                        | 15 |
| 1.3.2 Η ρώγα .....                                                             | 15 |
| 1.4 Η σύσταση του κρασιού .....                                                | 16 |
| 1.5 Τύποι ελληνικών κρασιών .....                                              | 19 |
| 1.6 Οινοποίηση .....                                                           | 20 |
| 1.6.1 Ερυθρή .....                                                             | 20 |
| 1.6.2 Λευκή.....                                                               | 21 |
| 1.7 Βαρέλι και παλαίωση του κρασιού.....                                       | 23 |
| 1.8 Θέση του κρασιού στη Μεσογειακή διατροφή.....                              | 25 |
| 1.9 Το Γαλλικό παράδοξο.....                                                   | 26 |

## Κεφάλαιο 2<sup>ο</sup> ΟΙ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ

|                                                    |    |
|----------------------------------------------------|----|
| 2.1 Γενικά.....                                    | 27 |
| 2.2 Κατηγορίες και χημικοί τύποι.....              | 27 |
| 2.3 Πηγές πολυφαινολών .....                       | 30 |
| 2.4 Απορρόφηση και μεταβολισμός πολυφαινολών ..... | 31 |
| 2.5 Βιοδιαθεσιμότητα πολυφαινολών .....            | 32 |
| 2.6 Φυσιολογικές δράσεις πολυφαινολών .....        | 33 |
| 2.7 Τα αντιοξειδωτικά στο σταφύλι.....             | 34 |
| 2.8 Τα αντιοξειδωτικά στο κρασί .....              | 36 |

|                                                                                           |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>2.9 Διαφοροποιήσεις στην πολυφαινολική σύσταση του κρασιού κατά την παλαίωση .....</b> | <b>37</b> |
| <b>2.10 Φυσιολογικές δράσεις των πολυφαινολών του κρασιού .....</b>                       | <b>39</b> |

## Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup> ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

|                                                                                                                                                    |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>3.1 Περιγραφή δειγμάτων .....</b>                                                                                                               | <b>41</b> |
| <b>3.2 Επεξεργασία δειγμάτων .....</b>                                                                                                             | <b>43</b> |
| <b>3.3 Προσδιορισμός του συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin- Ciocalteu .....</b>                                                 | <b>43</b> |
| <b>3.4 Εκχύλιση στερεής φάσης (SPE) .....</b>                                                                                                      | <b>44</b> |
| <b>3.5 Ποιοτικός προσδιορισμός ταυτοποιημένων πολυφαινολών με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας (GC-MS) .....</b>                                | <b>45</b> |
| <b>3.6 Προσδιορισμός ολικών φλαβονολών με τη μέθοδο της p-διμεθυλαμινοκινναμαλδεϋδης .....</b>                                                     | <b>47</b> |
| <b>3.7 Δοκιμές της αντιοξειδωτικής δράσης .....</b>                                                                                                | <b>48</b> |
| <b>3.7.1 Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1 διφαινύλο-2-πικρύλοϋδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH*) .....</b>         | <b>48</b> |
| <b>3.7.2 Μέτρηση της αναγωγικής δύναμης (P<sub>R</sub>: Reducing Power) .....</b>                                                                  | <b>49</b> |
| <b>3.7.3 Προσδιορισμός της ικανότητας δέσμευσης ελευθέρων ριζών υδροξυλίου (SA<sub>HFR</sub>: Hydroxyl Free Radical Scavenging Activity) .....</b> | <b>50</b> |

## Κεφάλαιο 4<sup>ο</sup> ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

|                                                                                              |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>4.1 Συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο .....</b>                                          | <b>52</b> |
| <b>4.2 Ανάλυση των δειγμάτων κρασιού με GC-MS χρωματογραφία-Επιμέρους πολυφαινόλες .....</b> | <b>53</b> |
| <b>4.3 Ολικές φλαβανόλες .....</b>                                                           | <b>56</b> |
| <b>4.4 Αντιοξειδωτική ικανότητα .....</b>                                                    | <b>57</b> |
| <b>4.5 Αναγωγική δύναμη .....</b>                                                            | <b>59</b> |
| <b>4.6 Ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών υδροξυλίου .....</b>                              | <b>60</b> |

## Κεφάλαιο 5<sup>ο</sup>

## ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

|                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.1 Συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο και διακύμανση της αντιοξειδωτικής ικανότητας.....                                                        | 62 |
| 5.2 Επιμέρους πολυφαινόλες- Αποτελέσματα GC-MS .....                                                                                             | 64 |
| 5.3 Συνολικό φλαβονολικό περιεχόμενο .....                                                                                                       | 66 |
| 5.4 Αναγωγική Δύναμη ( $P_R$ ) .....                                                                                                             | 67 |
| 5.5 Ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου ( $SA_{HFR}$ ) .....                                                                          | 67 |
| 5.6 Συσχέτιση πολυφαινολών και φλαβονολών με αντιοξειδωτική ικανότητα, αναγωγική δύναμη και ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου ..... | 68 |

## Κεφάλαιο 6<sup>ο</sup>

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

|                                                            |    |
|------------------------------------------------------------|----|
| 6.1 Γενικά συμπεράσματα .....                              | 70 |
| 6.2 Διατροφική Αξιολόγηση παλαιωμένου λευκού κρασιού ..... | 71 |

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

72

# Πρόλογος

Η μελέτη αυτή εκπονήθηκε από τη φοιτήτρια Χρυσάνθη Συρίμπεη στα πλαίσια του προπτυχιακού κύκλου σπουδών του τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Το σύνολο των πειραματικών δοκιμασιών διεξήχθησαν στο Εργαστήριο Χημείας- Φυσικοχημείας- Βιοχημείας Τροφίμων κατά το ακαδημαϊκό έτος 2005-2006 υπό την επίβλεψη του Αναπληρωτή καθηγητή του τμήματος κ. Καραθάνου Βάιου.

Καταρχήν θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κύριο Ανδρικόπουλο για την πολύτιμη ευκαιρία που μου προσέφερε να συνεργαστώ με το εργαστήριο Χημείας, Φυσικοχημείας και Βιοχημείας τροφίμων. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα να έρθω σε επαφή με το αξιόλογο προσωπικό του εργαστηρίου και να ασχοληθώ με θέματα πρωτόγνωρα για μένα.

Στον κύριο Καραθάνο απευθύνω τις θερμές ευχαριστίες μου για την εμπιστοσύνη που έδειξε στις δυνατότητές μου με την ανάθεση μιας τόσο σημαντικής εργασίας, καθώς επίσης και για την άψογη συνεργασία που είχαμε. Ήταν πάντα πρόθυμος να λύσει τις απορίες μου και να με βοηθήσει στις δυσκολίες που προέκυπταν. Επιπλέον, τον ευχαριστώ για την κατανόηση που έδειξε στις επαγγελματικές μου ανησυχίες και για την ψυχολογική υποστήριξη που μου προσέφερε.

Στη συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω την κυρία Χίου για την ανεκτίμητη βοήθειά της στο σχεδιασμό και την υλοποίηση της παρούσας μελέτης. Η συνεργασία μου μαζί της μου μετέφερε πολλές γνώσεις και κυρίως με έβαλε στο κλίμα της επιστημονικής έρευνας. Την ευχαριστώ για το αμείωτο ενδιαφέρον της και τον πολύτιμο χρόνο που αφιέρωσε σε όλα τα στάδια της έρευνας.

Ευχαριστώ ακόμα τη διδάκτορα Καλιώρα Ανδριάννα για τη συμμετοχή της στην τριμελή επιτροπή αξιολόγησης της παρούσας εργασίας και για το ενδιαφέρον που έδειξε για την πραγματοποίηση περαιτέρω βιολογικών πειραμάτων.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κύριο Μακρή για το ιδιαίτερο ενδιαφέρον που έδειξε για τη συγκεκριμένη μελέτη, την συμμετοχή του στο σχεδιασμό της πειραματικής διαδικασίας, την διεξαγωγή πρόσθετων αναλύσεων και την συμβολή του στην ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Επιπλέον, ευχαριστώ την εταιρία Ευάγγελος Τσάνταλης Α.Ε. για την προσφορά των δειγμάτων, χωρίς τα οποία θα ήταν ανέφικτη η υλοποίηση της

παρούσας έρευνας. Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στον κύριο Καραθάνο Θανάση, χημικό οινολόγο της εταιρίας, για τη συνεργασία και για το πολύτιμο υλικό που προσέφερε για τη συγγραφή της εργασίας αυτής.

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω την υποψήφια διδάκτορα Σάλτα Φωτεινή για την ανεκτίμητη και ταυτόχρονα ουσιαστική βοήθειά της στη διεξαγωγή του πειραματικού μέρους και στην ανάλυση των αποτελεσμάτων. Οι υποδείξεις και οι εύστοχες παρατηρήσεις της συνέβαλαν σε μεγάλο βαθμό στο τελικό αποτέλεσμα.

Ακόμα, ευχαριστώ την υποψήφια διδάκτορα Κουντούρη Αγγελική για τη συμμετοχή της στη διεξαγωγή μέρους των πειραματικών δοκιμασιών και για τη βοήθεια που προσέφερε στα διάφορα στάδια της μελέτης.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω προς την οικογένειά μου για τις ευκαιρίες που μου προσφέρει και για την συμπαράστασή της σε όλες τις αποφάσεις μου. Ακόμα, ευχαριστώ τα άτομα του στενού φιλικού περιβάλλοντός μου για την ενθάρρυνση και τη στήριξή τους.

Τέλος, ευχαριστώ το Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο για το επίπεδο των σπουδών που μου προσέφερε, τη διάθεση των ερευνητικών χώρων και την παραχώρηση των οργάνων για την εκτέλεση του πειραματικού μέρους, καθώς επίσης και όλο το προσωπικό του εργαστηρίου.

**Χρυσάνθη Συρίμπεη**

## Περίληψη

Το κρασί αποτελεί αδιαμφισβήτητα βασικό στοιχείο της παραδοσιακής Μεσογειακής διατροφής και του ελληνικού πολιτισμού. Τα τελευταία χρόνια έχουν διεξαχθεί πολλές μελέτες που διερευνούν την ευεργετική επίδραση της κατανάλωσης κρασιού, κυρίως κόκκινου, στην υγεία του ανθρώπου. Μεταξύ των ερμηνειών που έχουν διατυπωθεί είναι και η αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολικών συστατικών του κρασιού, των οποίων η δράση δεν είναι πλήρως διευκρινισμένη. Οι πολυφαινόλες φαίνεται ότι εμπλέκονται σε προστατευτικούς μηχανισμούς έναντι διαφόρων παθολογικών καταστάσεων, όπως τα καρδιαγγειακά νοσήματα (Γαλλικό Παράδοξο, French Paradox), ο καρκίνος και οι μικροβιακές λοιμώξεις.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν ο προσδιορισμός των αντιοξειδωτικών συστατικών και της αντιοξειδωτικής δράσης δύο ποικιλιών λευκού κρασιού, καθώς επίσης και η ταυτοποίηση συγκεκριμένων πολυφαινολών κατά τη διάρκεια της παλαίωσης σε δρύινο βαρέλι. Οι ποικιλίες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν Chardonnay και Ασύρτικο βιολογικής καλλιέργειας που προέρχονταν από σταφύλια αμπελώνων του Αγίου Όρους της εταιρείας Ευάγγελος Τσάνταλης Α.Ε. Ο λόγος που επιλέχθηκαν λευκές ποικιλίες είναι το γεγονός ότι υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα γι' αυτές αφού η πλειοψηφία των προγενέστερων μελετών ασχολήθηκαν με το κόκκινο κρασί.

Τα δείγματα κρασιού ελήφθησαν μετά από 0, 33, 54, 84, 98, 130, 160 και 197 ημέρες παραμονής σε δρύινο βαρέλι. Αναλύθηκαν ως προς το συνολικό πολυφαινολικό τους περιεχόμενο με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu ενώ έγινε εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1-διφαινόλο-2-πικρύλοϋδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH\*). Ακόμη, εκτιμήθηκε το συνολικό φλαβονολικό περιεχόμενο με τη μέθοδο της p-διμεθυλαμινοκιναμαλδεϋδης (μέθοδος DMACA), η αναγωγική δύναμη ( $P_R$ : Reducing Power) με βάση την αναγωγική/ αντιοξειδωτική δύναμη του σιδήρου (ferric reducing/ antioxidant power: FRAP) και η ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών υδροξυλίου ( $SA_{HFR}$ : Hydroxyl Free Radical Scavenging Activity). Τέλος, πραγματοποιήθηκε ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός συγκεκριμένων πολυφαινολών με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας/ φασματομετρίας μάζας (GC-MS), αφού προηγήθηκε ένα στάδιο εκχύλισης στερεάς φάσης.

Το συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο υπολογίστηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu και κυμάνθηκε από 408 έως 523mgL<sup>-1</sup> GAE στο Ασύρτικο και από 206 έως

298mgL<sup>-1</sup> GAE στο Chardonnay, ενώ παρουσίασε μέγιστη τιμή κατά τις 98 ημέρες παλαίωσης. Το συνολικό φλαβανολικό περιεχόμενο κυμάνθηκε στα 61,4- 79,8mgL<sup>-1</sup> CTE στο Ασύρτικο και στα 7-11mgL<sup>-1</sup> CTE στο Chardonnay. Στη μελέτη αυτή ανιχνεύτηκαν και ταυτόχρονα προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις 20 πολυφαινολικών συστατικών. Η πολυφαινόλη που υπερείχε ποσοτικά σε όλες τις περιπτώσεις ήταν η τυροσόλη. Ακολούθησαν κατά σειρά η κατεχίνη, το καφεϊκό οξύ, το p-κουμαρικό οξύ, η επικατεχίνη και το γαλλικό οξύ.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα ήταν 1,09- 2,83mM TRE για το Ασύρτικο Βιολογικό και 0,80- 1,48mM TRE για το Chardonnay και η αναγωγική δύναμη για το Ασύρτικο Βιολογικό κυμάνθηκε από 3,03- 5,57 AAE και για το Chardonnay από 1,96- 3,81 AAE. Επιπλέον, η ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου κυμάνθηκε στα 13,4- 42,2%ΔCL στο Ασύρτικο Βιολογικό και στα 11,7-35,1%ΔCL στο Chardonnay. Η παλαίωση έως την 98<sup>η</sup> ημέρα επέφερε σταδιακή αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας και στα δύο δείγματα. Η ίδια αυξητική τάση εντοπίστηκε και στην αναγωγική δύναμη αλλά και στην ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου μέχρι τις 130-160 ημέρες.

Συνεπώς, η κατανάλωση λευκού παλαιωμένου κρασιού στα πλαίσια μιας ισορροπημένης Μεσογειακής διατροφής μπορεί να συνεισφέρει σημαντικά στην ενίσχυση του οργανισμού με αντιοξειδωτικά συστατικά.



# Abstract

Undoubtedly wine can be considered an integral part of the Mediterranean diet and the Greek civilization. In recent years many studies have focused on the beneficial health effects of a moderate wine, especially red wine, consumption. Among the several factors that have been proposed to explain this protective action is the antioxidant capacity of wine polyphenols, whose role is not completely defined. Polyphenols are supposed to have cardioprotective (French Paradoxe), anticarcinogenic and antimicrobial action.

The objective of this study is the determination of the antioxidant polyphenolic compounds and the antiradical activity of two white wine varieties, as well as the identification and quantification of individual polyphenols during wine aging in oak barrel. The varieties used were Chardonnay and Asyrtiko of ecological cultivation coming from the vineyards of the Mount Athos which belong to the company Tsantali. The reason for which white varieties were chosen is the fact that white wine is less investigated compared with red.

Wine samples were collected after remaining 0, 33, 54, 84, 98, 130, 160 and 197 days in oak barrel. Their total phenolic content was determined by Folin Ciocalteu assay and their antioxidant activity was estimated by DPPH radical scavenging method. Furthermore, their flavanol content was estimated with the p-dimethylaminocinnamaldehyde (DMACA) method, the measurement of the reducing ability of wines was based on the ferric reducing/ antioxidant power (FRAP) assay and for the measurement of Hydroxyl Free Radical Scavenging Activity ( $SA_{HFR}$ ) a chemiluminescence method was used. Finally, polyphenolic composition of the above wine varieties was determined and quantified by GC MS.

The total polyphenolic content was found to vary between 408 and 523mgL<sup>-1</sup> GAE in Asyrtiko and 206-298mgL<sup>-1</sup> GAE in Chardonnay, while it reach the maximum after 98 days of aging. Flavanols varied from 61,4 to 79,8mgL<sup>-1</sup> CTE in Asyrtiko and from 7-11mgL<sup>-1</sup> CTE in Chardonnay. Moreover, the major polyphenol determined and quantified by GC MS was tyrosol, followed by catechin, caffeic acid, p-coumaric acid, epicatechin and gallic acid.

Antiradical activity ( $A_{AR}$ ) was between 1,09- 2,83mM TRE in Asyrtiko and 0,80- 1,48mM TRE in Chardonnay while, reducing power ( $P_R$ ) was between 3,03- 5,57 AAE in Asyrtiko and 1,96- 3,81 AAE in Chardonnay. Then, hydroxyl free radical scavenging

activity ( $SA_{HFR}$ ) was from 13,4 to 42,2% $\Delta$ CL in Asyrtiko and from 11,7 to 35,1% $\Delta$ CL in Chardonnay. Aging until the 98<sup>th</sup> day resulted in increase of the  $A_{AR}$  in both varieties. The same increasing trend was observed for the  $P_R$  and the  $SA_{HFR}$  until the 130-160 days of aging process.

Consequently, the moderate consumption of aged white wine may contribute to the daily dietary intake of antioxidants in a balanced Mediterranean diet.

## Σκοπός

Η συχνή κατανάλωση κρασιού αποτελεί αναπόσπαστο χαρακτηριστικό στοιχείο της ελληνικής παράδοσης και της Μεσογειακής Διατροφής. Πλήθος ερευνών έχουν επιτύχει να εντοπίσουν σε αυτό ευεργετικές ή ακόμα και προστατευτικές δράσεις. Η μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης του κρασιού κάτω από διάφορες συνθήκες, μεταξύ των οποίων και η παλαίωση, έχει αποτελέσει αντικείμενων διάφορων μελετών. Ωστόσο, οι περισσότερες από αυτές έχουν επικεντρωθεί στην ανάλυση του κόκκινου κρασιού, το οποίο είναι γνωστό ότι έχει σημαντική περιεκτικότητα σε αντιοξειδωτικές ουσίες. Όπως προέκυψε από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, λιγότερες ερευνητικές μελέτες αναφέρονται στην ανάλυση του λευκού κρασιού, ενώ όσον αφορά στην επίδραση της παλαίωσης στο πολυφαινολικό περιεχόμενο του υπάρχει ένα ερευνητικό κενό.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι ο προσδιορισμός της επίδρασης της παλαίωσης σε δρύινο βαρέλι στο αντιοξειδωτικό περιεχόμενο και την αντιοξειδωτική δράση δύο λευκών ποικιλιών κρασιού. Για το σκοπό αυτό επιλέχθηκαν δύο ποικιλίες, Ασύρτικο βιολογικής καλλιέργειας και Chardonnay, στις οποίες μελετήθηκε η διακύμανση των αντιοξειδωτικών και της αντιοξειδωτικής δράσης προκειμένου να καθοριστεί το κατά πόσον υφίσταται εμπλουτισμός ή μη του παλαιωμένου κρασιού με αντιοξειδωτικά, έχοντας ως γνώμονα τη διατροφική του αξιολόγηση.

## ΤΟ ΚΡΑΣΙ

### 1.1 Γενικά

Η καλλιέργεια της αμπέλου και η παραγωγή οίνου αποτελούν χαρακτηριστικές δραστηριότητες του Ελληνικού λαού από την αρχαιότητα. Η ανάπτυξη της αμπελοκαλλιέργειας και της οινοποίησης θεωρούνται αποτέλεσμα της μετανάστευσης ανατολικών λαών στον ελλαδικό χώρο και τοποθετούνται χρονολογικά γύρω στην 3η π.Χ. χιλιετηρίδα.

Το κρασί διατηρούσε εξέχουσα θέση σε πολλές γιορτές της αρχαιότητας όπως τα Ανθεστήρια, τα Λήναια και τα Διονύσια λόγω της θεϊκής προέλευσης που του είχε αποδοθεί. Διάφορες πόλεις φέρονται να έχουν ονομασίες συναφείς με τον οίνο ενώ το θέμα της αμπελουργίας- οινοποιίας ήταν μεταξύ των παραστάσεων που κοσμούσαν αρχαία ελληνικά νομίσματα και αγγεία. Όλα αυτά τα στοιχεία που προέρχονται από φιλολογικά ή επιγραφικά κείμενα και αρχαιολογικά ευρήματα αποδεικνύουν τη μεγάλη σημασία που είχαν το αμπέλι και το κρασί στη ζωή των αρχαίων Ελλήνων (4). Στο πέρασμα του χρόνου παρέμεινε άρρηκτα συνδεδεμένο με τον ελληνικό πολιτισμό αφού αποτέλεσε διατροφικό σύμβολο και λατρευτικό στοιχείο του χριστιανισμού. Τα ψωμί, το κρασί και το λάδι απέκτησαν το ρόλο των κατ' εξοχήν ιερών τροφίμων στα οποία οι χριστιανοί αποδίδουν εξαιρετικά έντονη συμβολική βαρύτητα (7).

Στις μέρες μας, το κρασί θεωρείται αναπόσπαστο κομμάτι της Ελληνικής παράδοσης και της Μεσογειακής διατροφής γενικότερα. Η κατανάλωσή του από την ελληνική οικογένεια είναι καθημερινή και σε αυτήν αποδίδονται πιθανές ευεργετικές επιπτώσεις στην υγεία, όπως η προστασία από καρδιαγγειακά νοσήματα. Τα τελευταία χρόνια έχουν διεξαχθεί εκτεταμένες έρευνες αποσκοπώντας τόσο στην κατανόηση των πιθανών προστατευτικών μηχανισμών όσο και στον εντοπισμό των πιθανών ωφέλιμων συστατικών του.



## 1.2 Έκταση αμπελοκαλλιέργειας, μέγεθος οινοπαραγωγής και οινοκατανάλωσης

Σύμφωνα με τα στοιχεία του Διεθνούς Γραφείου Αμπέλου και Οίνου (O.I.V.) (Bull O.I.V., 1981), στο χρονικό διάστημα που μεσολάβησε μεταξύ των δύο παγκοσμίων πολέμων η έκταση της παγκόσμιας αμπελοκαλλιέργειας ανερχόταν στα 65 εκατομμύρια στρέμματα. Το 1962 και για την επόμενη εικοσαετία η έκταση του παγκόσμιου αμπελώνα ήταν περίπου 100 εκατομμύρια στρέμματα ενώ κατά τη δεκαετία 1981-1991, η έκταση των αμπελώνων περιορίστηκε στα 85 εκατομμύρια στρέμματα (1). Τα πιο πρόσφατα στοιχεία σχετικά με την έκταση που καλύπτει η αμπελοκαλλιέργεια στην Ελλάδα φαίνονται στον Πίνακα 1.1.



Τη χρονική περίοδο 1986-1990 παρουσιάστηκε μείωση στην παγκόσμια και στην ελληνική παραγωγή κρασιού σε σύγκριση με τις αρχές της δεκαετίας του 1980. Την επόμενη 5ετία η παγκόσμια οινοπαραγωγή εμφάνισε πτώση 13%. Από το 1995 και μετά το φαινόμενο ανεστράφη με αποτέλεσμα την αύξηση του παραγόμενου οίνου.

Από τις αρχές της δεκαετίας του 1980 μέχρι τα μέσα της δεκαετίας του 1990 η κατανάλωση κρασιού ακολούθησε φθίνουσα πορεία. Σε αντιστοιχία με την οινοπαραγωγή, το επόμενο χρονικό διάστημα εμφανίστηκαν αυξητικές τάσεις. Σε παγκόσμιο επίπεδο, η μεγαλύτερη κατανάλωση κρασιού παρατηρείται στους Ευρωπαίους ( 69,5% της παγκόσμιας κατανάλωσης το 2001). Ανάμεσα στις χώρες με τη μεγαλύτερη κατανάλωση συγκαταλέγονται η Γαλλία ( 57 L/ κάτοικο το 2001) και η Ιταλία (53 L/ κάτοικο το 2001), ενώ η χαμηλότερη κατανάλωση συναντάται σε χώρες όπως η Ρουμανία(21 L/ κάτοικο το 2001) και η Μολδαβία (14 L/ κάτοικο το 2001). Όσον αφορά την Ελλάδα, ανήκει στις χώρες με μεσαία κατανάλωση κρασιού (25-30 L/ κάτοικο το 2001), παρά το γεγονός ότι είναι ανάμεσα στις χώρες με παραδοσιακή οινοπαραγωγή (23).

**Πίνακας 1.1** Απογραφή αμπελουργικών εκτάσεων 2003-2004

| <b>Διευθύνσεις<br/>Γεωργίας</b> | <b>Οινοποιήσιμα<br/>(στρεμ.)</b> | <b>Επιτραπέζια<br/>(στρεμ.)</b> | <b>Σταφίδα<br/>(στρεμ.)</b> | <b>Συνολικά<br/>στρέμματα</b> |
|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| Αν. Μακεδ.-<br>Θράκης           | 18.145                           | 22.727                          | 0                           | 40.872                        |
| Κ. Μακεδονίας                   | 43.161,5                         | 14.088,5                        | 0                           | 57.250                        |
| Δ. Μακεδονίας                   | 24.469                           | 1.475                           | 0                           | 25.944                        |
| Ηπείρου                         | 7.437,6                          | 690,4                           | 0                           | 8.128                         |
| Θεσσαλίας                       | 26.582                           | 22.249                          | 0                           | 48.831                        |
| Ιονίων νήσων                    | 28.453                           | 790,8                           | 12.590,2                    | 41.843                        |
| Δυτ. Ελλάδα                     | 105.884                          | 2999,3                          | 77.803,7                    | 186.687                       |
| Στερεάς Ελλάδας                 | 80.643,9                         | 2.374,1                         | 0                           | 83.018                        |
| Πελοποννήσου                    | 125.843,2                        | 49.630,9                        | 89.098,9                    | 264.573                       |
| Αττικής                         | 58.951                           | 558                             | 0                           | 59.509                        |
| Β. Αιγαίου                      | 27.724                           | 4.172                           | 0                           | 31.896                        |
| Ν. Αιγαίου                      | 40.894                           | 2.388                           | 0                           | 43.282                        |
| Κρήτης                          | 74.654                           | 16.921,7                        | 126.088,3                   | 217.664                       |
| <b>Σύνολο Χώρας</b>             | <b>662.842,2</b>                 | <b>141.064,7</b>                | <b>305.590,1</b>            | <b>1.109.497</b>              |

**Πίνακας 1.2** Παγκόσμια παραγωγή και κατανάλωση οίνου σε hl (Πηγή: ΟΙΥ)

| <b>Χρονικό διάστημα</b> | <b>Παραγωγή</b> | <b>Κατανάλωση</b> |
|-------------------------|-----------------|-------------------|
| 1971-1975               | 313.115.000     | 280.356.000       |
| 1976-1980               | 326.046.000     | 285.746.000       |
| 1981-1985               | 333.552.000     | 280.718.000       |
| 1986-1990               | 304.202.000     | 239.853.000       |
| 1991-1995               | 264.601.000     | 225.571.000       |
| 1996-2000               | 272.269.000     | 225.086.000       |
| 1997                    | 265.944.000     | 223.608.000       |
| 1998                    | 261.575.000     | 227.569.000       |
| 1999                    | 281.039.000     | 227.230.000       |
| 2000                    | 280.415.000     | 226.564.000       |
| 2001                    | 264.730.000     | 227.703.000       |

### **1.3 Η σύσταση του σταφυλιού (1)**

Ο τύπος και η ποιότητα του οίνου εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τα χαρακτηριστικά της πρώτης ύλης από την οποία προέρχεται, δηλαδή του σταφυλιού. Ο βότρυς του σταφυλιού αποτελείται από δύο κύρια μέρη:

- Το ξυλώδες μέρος (βότρυς ή τσαμπί), σε αναλογία 30% κατ' όγκο
- Το εδώδιμο και οινοποιήσιμο μέρος (ρώγες), σε αναλογία 70% κατ' όγκο

#### **1.3.1 Ο βότρυς**

Το νερό είναι το συστατικό που περιέχεται σε μεγαλύτερη αναλογία στο βόστρυχο. Αρχικά, το ποσοστό του αποτελεί το 90% κατά βάρος ενώ σταδιακά μειώνεται λόγω της αυξανόμενης ξηρής ουσίας. Η τελευταία συγκροτείται κυρίως από ξυλώδεις ουσίες και σε μικρότερο ποσοστό από τα ακόλουθα συστατικά:

- Ταννίνες: 2-4% κατά βάρος
- Ρητίνες: 1% κατά βάρος
- Αζωτούχες ουσίες: 1-2% κατά βάρος
- Ανόργανα συστατικά: 2-3% κατά βάρος
- Οργανικά οξέα (ελεύθερα και ενωμένα): 1-2% κατά βάρος
- Σάκχαρα: 1% κατά βάρος

#### **1.3.2 Η ρώγα**

Είναι ο κύριος καρπός της αμπέλου και η βασική πρώτη ύλη για την παραγωγή του κρασιού. Τα επιμέρους τμήματα της ρώγας είναι ο φλοιός (10-20%), η σάρκα (74-87%) και τα γίγατρα (3-6%) που σε ορισμένες ποικιλίες μπορεί να απουσιάζουν.

Ο φλοιός αποτελείται σε ποσοστό 75-80% κατά βάρος από νερό, ενώ περιέχει και τα ακόλουθα συστατικά:

- Ταννίνες: 1-2% κατά βάρος
- Όξινες ενώσεις: 1-1,5% κατά βάρος
- Ανόργανες ενώσεις: 1,5-2% κατά βάρος
- Αζωτούχες ενώσεις: 1,5-2% κατά βάρος
- Λοιπές ουσίες: 10-15% κατά βάρος

Η σάρκα αποτελεί το κύριο συστατικό του γλεύκους και τα σημαντικότερα συστατικά της είναι:

- Νερό: 65-80% κατά βάρος
- Σάκχαρα: 10-30% κατά βάρος

- Άλλες ουσίες: 5-6% κατά βάρος, μεταξύ των οποίων οργανικά οξέα, ανόργανα συστατικά, αζωτούχες ουσίες, πηκτινικές ύλες, αρωματικές ουσίες, χρωστικές και ταννίνες.

Τα γίγαρτα (κουκούτσια) είναι τα όργανα αναπαραγωγής της αμπέλου. Αποτελούνται από:

- Νερό: 25-45% κατά βάρος
- Υδρογονάνθρακες: 34-36% κατά βάρος
- Ελαιώδεις ουσίες: 13-20% κατά βάρος
- Ταννίνες: 4-6% κατά βάρος
- Αζωτούχες ουσίες: 4-6,5% κατά βάρος
- Ανόργανες ουσίες: 2-4% κατά βάρος
- Λιπαρές ουσίες: 1%

#### 1.4 Η σύσταση του κρασιού

Το κρασί αποτελείται από μια σειρά χημικών ενώσεων των οποίων η πρωταρχική μορφή βρίσκεται ήδη στους χυμούς της ρώγας του σταφυλιού (10). Πιο αναλυτικά, τα συστατικά του κρασιού μπορούν να διακριθούν σε 3 επιμέρους κατηγορίες (1):

- Το νερό (80-85%)
- Τα οργανικά συστατικά

Οργανικά οξέα (τρυγικό οξύ, μηλικό οξύ, κιτρικό οξύ, ουρονικά οξέα, γαλακτουρονικό οξύ, γλυκουρονικό οξύ, γλυκονικό οξύ, οξαλικό οξύ, ασκορβικό οξύ, ηλεκτρικό οξύ, γαλακτικό οξύ, κιτρομηλικό οξύ, διμεθυλο-γλυκερικό οξύ, κετονικά οξέα, οξικό οξύ, μυρμηγκικό οξύ)

Αλκοόλες (μεθανόλη, αιθανόλη, ανώτερες μονο-αλκοόλες, πολυαλκοόλες). Οι αλκοόλες σε συνδυασμό με τα οργανικά οξέα καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό τη γεύση του κρασιού και συμβάλλουν στη διατηρησιμότητά του (10).

Αρωματικές ενώσεις (οξικός αιθυλεστέρας, ακεταλδεΐδη, ακετάλη, υδροξυ-μεθυλο-φουρφουράλη, ακετοΐνη, διακετύλιο, τερπενικές ενώσεις)

Σάκχαρα (αναγωγικά και μη αναγωγικά)

Πολυζαχαρίτες (πηκτίνες, κόμμεα, δεξτράνη)

Φαινολικές ενώσεις (φαινολικά οξέα, φλαβόνες, ανθοκυανίνες, ταννίνες)

Αζωτούχες ενώσεις (πρωτεΐνες, πολυπεπτίδια, αμινοξέα, αμίδια, οζαμίνες, νουκλεϊνικές ενώσεις, βιογενείς αμίνες)



Ενζύμα ( καταλάσες, οξειδάσες, ιμπερτάσες, πρωτεάσες, τανάσες και άλλα)

Βιταμίνες (B<sub>1</sub> ή θειαμίνη, B<sub>2</sub> ή ριβοφλαβίνη, B<sub>3</sub> ή νικοτιναμιδίνη, B<sub>4</sub> ή αδερίνη, B<sub>5</sub> ή παντοθενικό οξύ, B<sub>6</sub> ή πυριδοξίνη, B<sub>12</sub> ή κοβαλαμίνη, I ή μεσοϊνοσιτόλη, H ή βιοτίνη, C ή ασκορβικό οξύ, P ή βιταμίνη της διαπερατότητας)

- Τα ανόργανα συστατικά

Ανιόντα (Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>, PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>, ...)

Κατιόντα (K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>+2</sup>, ...)

Προέρχονται από τους φλοιούς των σταφυλιών και από τα υλικά επαφής του μούστου και του κρασιού (βαρέλι, δεξαμενές, δοχεία, σωληνώσεις, συσκευές επεξεργασίας, φίλτρα και άλλες διατάξεις ).

Αξίζει να σημειωθεί ότι η ακριβής σύσταση του κρασιού εξαρτάται από την ποικιλία του σταφυλιού από το οποίο προήλθε και από τις οινολογικές τεχνικές που εφαρμόστηκαν. Πιο αναλυτικά, η καλλιέργεια του σταφυλιού, η ωρίμανση, η διαχείριση του γλεύκους, η εμφιάλωση, ο έλεγχος του μικροβιακού φορτίου, η παλαίωση και οι συνθήκες αποθήκευσης είναι μερικοί μόνο από τους παράγοντες που αλληλεπιδρούν για τη διαμόρφωση της τελικής του σύστασης (8).Ο πίνακας 1.1 παρουσιάζει την αναλυτική σύσταση ενός λευκού κρασιού (16).

**Πίνακας 1.3.** Η σύσταση ενός λευκού κρασιού τύπου Chardonnay (πηγή: USDA)

| <b>Θρεπτικό<br/>Συστατικό</b> | <b>Μονάδα<br/>μέτρησης</b> | <b>Περιεκτικότητα/<br/>100g προϊόντος</b> | <b>Περιεκτικότητα/<br/>μερίδα προϊόντος<br/>(147g)</b> |
|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| Νερό                          | g                          | 86.86                                     | 127.68                                                 |
| Ενέργεια                      | kcal                       | 83                                        | 122                                                    |
| Πρωτεΐνη                      | g                          | 0.07                                      | 0.10                                                   |
| Λίπος                         | g                          | 0                                         | 0                                                      |
| Υδατάνθρακες                  | g                          | 2.60                                      | 3.82                                                   |
| Φυτικές ίνες                  | g                          | 0                                         | 0                                                      |
| Σάκχαρα                       | g                          | 0.96                                      | 1.41                                                   |
| Ασβέστιο (Ca)                 | mg                         | 9                                         | 13                                                     |
| Σίδηρος (Fe)                  | mg                         | 0.27                                      | 0.40                                                   |
| Μαγνήσιο (Mg)                 | mg                         | 10                                        | 15                                                     |
| Φώσφορος (P)                  | mg                         | 18                                        | 26                                                     |
| Κάλιο (K)                     | mg                         | 71                                        | 104                                                    |
| Νάτριο (Na)                   | mg                         | 5                                         | 7                                                      |
| Ψευδάργυρος (Zn)              | mg                         | 0.12                                      | 0.18                                                   |
| Χαλκός (Cu)                   | mg                         | 0.004                                     | 0.006                                                  |
| Μαγγάνιο (Mn)                 | mg                         | 0.117                                     | 0.172                                                  |
| Σελήνιο (Se)                  | mcg                        | 0.1                                       | 0.1                                                    |
| Βιταμίνη C                    | mg                         | 0                                         | 0                                                      |
| Θειαμίνη                      | mg                         | 0.005                                     | 0.007                                                  |
| Ριβοφλαβίνη                   | mg                         | 0.015                                     | 0.022                                                  |
| Νιασίνη                       | mg                         | 0.108                                     | 0.159                                                  |
| Παντοθενικό οξύ               | mg                         | 0.045                                     | 0.066                                                  |
| Βιταμίνη B <sub>6</sub>       | mg                         | 0.050                                     | 0.074                                                  |
| Αιθυλική αλκοόλη              | g                          | 10.3                                      | 15.1                                                   |

\* Εάν ληφθεί υπόψη ότι η μέση πυκνότητα ενός κρασιού είναι περίπου 0,98 g/mL, τα παραπάνω δεδομένα μπορούν εύκολα να αναχθούν και σε μονάδες όγκου (mL).

## 1.5 Τύποι ελληνικών κρασιών

Τα ελληνικά κρασιά μπορούν να υποδιαιρεθούν στις ακόλουθες κατηγορίες με βάση τη σύστασή τους (10):

- Ξηρά. Η περιεκτικότητά τους σε σάκχαρα είναι μικρότερη από 1% και αλκοολικοί τους βαθμοί μεγαλύτεροι από 9% vol. Η οξύτητά τους είναι 3%-7% εκφρασμένη σε τρυγικό οξύ.
- Γλυκά φυσικώς. Προέρχονται από τη ζύμωση μούστου πλούσιου σε σάκχαρα. Έχουν αλκοολικό βαθμό μεγαλύτερο από 13%vol και σάκχαρα πάνω από 50% (2 Be).
- Ενισχυμένα. Παρασκευάζονται με την προσθήκη αποστάγματος κρασιού ή αλκοόλης σε μούστο ή κρασί φυσικού αλκοολικού τίτλου τουλάχιστον 14% vol, ώστε το τελικό προϊόν να έχει αλκοολικό τίτλο 15-22% vol.
- Ενδυναμωμένα. Πρόκειται για τα κρασιά που προκύπτουν με προσθήκη σε κρασί φυσικού αλκοολικού τίτλου 12%, όχι μόνο αποστάγματος κρασιού ή αλκοόλης, αλλά και υπερώριμων, λιασμένων σταφυλιών, συμπυκνωμένου μούστου, καραμελοποιημένου μούστου, ώστε το τελικό προϊόν να διαμορφώσει αλκοολικό τίτλο 15-22% vol.
- Μιστέλια. Ο τύπος αυτός αναφέρεται στα κρασιά που παρασκευάζονται με την προσθήκη αποστάγματος κρασιού ή αλκοόλης σε μη ζυμωθέντα μούστο που έχει μέγιστο αλκοολικό τίτλο 15-21% vol.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν δύο ξηροί λευκοί οίνοι που προέρχονται από ποικιλίες Chardonnay και Ασύρτικο βιολογικής καλλιέργειας.

Chardonnay: Κοσμοπολίτικη λευκή ποικιλία γαλλικής προέλευσης



(Βουργουνδία). Στην Ελλάδα καλλιεργείται σε 24 νομούς, κατανεμημένους σε όλα τα γεωγραφικά διαμερίσματα της χώρας. Η ποικιλία Chardonnay μπορεί να δώσει λευκούς οίνους φρέσκους ή που έχουν ζυμώσει και ωριμάσει σε δρύινα βαρέλια.

Η γεύση τους είναι λιπαρή, δροσερή έως ζωνρή, ισορροπημένη, με σώμα και διάρκεια. Συμμετέχει στην παραγωγή ορισμένων Τοπικών οίνων (Πλαγιές Αιγειαλίας, Πυλίας, Ανδριανιώτικος, Δράμας, Μεσσηνιακός, Ισμαρικός, Επανομής, Πελοποννησιακός).

Ασύρτικο: Εξαιρετική πολυδύναμη λευκή ελληνική ποικιλία. Αρχικά καλλιεργούνταν στα νησιά των Κυκλάδων και κυρίως στη Σαντορίνη, που είναι ο τόπος καταγωγής της. Από εκεί μετανάστευσε με επιτυχία στη Χαλκιδική, την Επανομή, τη Δράμα, το Παγγαίο, την Αττική, την Πελοπόννησο, και έφτασε να καλλιεργείται σχεδόν σε όλη την Ελλάδα, σε μία έκταση, που ξεπερνά τα 11.500



στρέμματα. Συμμετέχει στην παραγωγή των οίνων Ονομασίας Προελεύσεως Ανωτέρας Ποιότητας "Σαντορίνη" (του ξηρού, φρέσκου ή παλαιωμένου σε δρύινα βαρέλια, και του γλυκού παλαιωμένου Vinsanto), και "Πλαγιές Μελίτωνα", αλλά και αρκετών Τοπικών (Επανομής, Δράμας, Αγιορείτικος, Μακεδονικός, Πλαγιές Βερτίσκου, Αττικός κ.α.) και Επιτραπέζιων οίνων (17).

## 1.6 Οινοποίηση

Ο όρος οινοποίηση περιλαμβάνει όλες εκείνες τις τεχνικές με τις οποίες τα σταφύλια και ο χυμός τους μετατρέπονται σε οίνο. Πρόκειται για τέχνη κατά την οποία ο οινολόγος επιλέγει τον τρόπο εργασίας, έχοντας ως βασικό κριτήριο την επιθυμητή ποιότητα του τελικού προϊόντος. Ας μη διαφεύγει τις προσοχής μας το γεγονός ότι το κρασί δεν είναι παρά ένα ενδιάμεσο προϊόν και ο οινολόγος είναι αυτός που θα αποτρέψει τη φυσική εξέλιξη του οίνου, δηλαδή τη μετατροπή του σε ξύδι (2).

Οι κύριες μορφές οινοποίησης είναι οι ακόλουθες (2):

- Ερυθρή οινοποίηση ή παρασκευή ερυθρών οίνων
- Λευκή οινοποίηση ή παρασκευή λευκών οίνων
- Ερυθρωπή οινοποίηση ή παρασκευή ροζέ οίνων
- Ειδικές οινοποιήσεις ή παρασκευή οίνων ειδικών τύπων, π.χ. αφρώδεις οίνοι

Ακολουθεί αναλυτική περιγραφή των δύο πρώτων τύπων οινοποίησης που είναι και οι πιο διαδεδομένοι.

### 1.6.1 Ερυθρή οινοποίηση (2,3)

Τα κύρια φαινόμενα που πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια της ερυθρής οινοποίησης είναι η αλκοολική ζύμωση, η εκχύλιση των χρωστικών και άλλων συστατικών κατά την παραμονή των στεμφύλων (φλούδες, κουκούτσια και βόστρυχοι) με το γλεύκος (maceration) και η μηλογαλακτική ζύμωση.

- Αλκοολική ζύμωση καλείται η διάσπαση των σακχάρων του γενικού τύπου  $C_6H_{12}O_6$  από ένζυμα των ζυμών, κατά κύριο λόγο προς αιθανόλη. Η πορεία της αλκοολικής ζύμωσης παρακολουθείται με καθημερινή μέτρηση του ειδικού βάρους. Θεωρείται ότι έχει ολοκληρωθεί όταν η περιεκτικότητα σε σάκχαρα μετρημένα με το φελίγγειο υγρό είναι μικρότερη από 2g/l.

- Η εκχύλιση επιτρέπει την παραλαβή μόνο των χρήσιμων συστατικών του σταφυλίου, δηλαδή αυτών που έχουν ευχάριστο άρωμα και γεύση, στην επιθυμητή πάντα ποσότητα. Αποτελεί το κύριο χαρακτηριστικό της ερυθράς οινοποίησης
- Η μηλογαλακτική ζύμωση είναι η αποικοδόμηση του μηλικού οξέος από τα γαλακτικά βακτήρια προς παραγωγή γαλακτικού οξέος. Είναι απαραίτητη για τη βιολογική σταθεροποίηση του κρασιού.

Η όλη διαδικασία μπορεί να διαιρεθεί στα τέσσερα επιμέρους στάδια:

- 1) *Επεξεργασία της σταφυλόμαζας*. Περιλαμβάνει μηχανικές επεξεργασίες (έκθλιψη των ραγών των σταφυλίων και μερική ή ολική αποβοστρύχωση), χημικές επεξεργασίες (αύξηση περιεκτικότητας σε ζάχαρα, αύξηση ή μείωση της οξύτητας, θείωση) και φυσικές επεξεργασίες (π.χ. θέρμανση, κρυοεκχύλιση)
- 2) *Τοποθέτηση της σταφυλόμαζας στις δεξαμενές ζύμωσης (cuvaison)*. Στο στάδιο αυτό πραγματοποιούνται η εκχύλιση και η αλκοολική ζύμωση. Το υλικό κατασκευής των δεξαμενών αυτών μπορεί να είναι ξύλο, τσιμέντο, επενδυμένο τσιμέντο, επενδυμένος χάλυβας και ανοξείδωτος χάλυβας.
- 3) *Διαχωρισμός του οίνου από τα στέμφυλα (ecoulage) και πίεση αυτών (pressurage)*.
- 4) *Αποπεράτωση της αλκοολικής ζύμωσης και ενδεχόμενη πραγματοποίηση της μηλογαλακτικής*.

### 1.6.2 Λευκή οινοποίηση (2,3)

Το κύριο στοιχείο που τη διαφοροποιεί από την τεχνική της ερυθής οινοποίησης είναι ο περιορισμός στο ελάχιστο της εκχύλισης του στερεού υπολείμματος του σταφυλίου εξαιτίας της απουσίας συμπαραμονής των στεμφύλων με το χυμό (maceration). Συνεπώς, τα λευκά κρασιά προκύπτουν από τη ζύμωση του γλεύκους που προέρχεται από λευκά σταφύλια, χωρίς την παρουσία των στερεών συστατικών του σταφυλίου. Στην περίπτωση αυτή, η εξαγωγή του γλεύκους και η οινοποίηση είναι κεφαλαιώδους σημασίας σε αντίθεση με την ερυθρή οινοποίηση όπου καθοριστικός παράγοντας είναι η ποιότητα του σταφυλίου.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, ο διαχωρισμός του γλεύκους από τα στέμφυλα πρέπει να γίνεται πάντοτε πριν από τη ζύμωση ώστε η εκχύλιση να ελαχιστοποιείται. Ωστόσο, στην περίπτωση αρωματικών ποικιλιών πραγματοποιείται μερική εκχύλιση σε χαμηλή θερμοκρασία για την παραλαβή μόνο των αρωματικών συστατικών από το φλοιό αποφεύγοντας την παραλαβή φαινολικών ενώσεων.

Ακολουθεί αναλυτική περιγραφή των επιμέρους σταδίων της λευκής οينوποίησης.

*1) Συγκομιδή των λευκών σταφυλιών*

Η συγκομιδή των λευκών σταφυλιών πρέπει να γίνεται την κατάλληλη στιγμή της ωριμότητας έτσι ώστε επιτυγχάνεται το εντονότερο δυνατό άρωμα. Η στιγμή αυτή εντοπίζεται πριν την πλήρη ωρίμανση του σταφυλιού η οποία συντελεί επιπρόσθετα στην παραγωγή οίνων με 11-12% vol αλκοόλης, ποσοστό που τους καθιστά εύκολους προς κατανάλωση. Ακολουθώντας, η υγιεινή κατάσταση του σταφυλιού επηρεάζει σημαντικά την ποιότητα του παραγόμενου οίνου, καθώς επίσης και η ακέραιη μεταφορά του στο οινοποιείο.

*2) Παραλαβή του γλεύκους*

Είναι αποτέλεσμα των τριών παρακάτω μηχανικών επεξεργασιών:

- Έκθλιψη των ραγών (foulage). Αποσκοπεί στη θραύση του φλοιού της ρώγας και στην απελευθέρωση της σάρκας και του χυμού. Συμβάλλει στον πρώτο διαχωρισμό του γλεύκους κατά τη στράγγιση ή προπίεση, έτσι ώστε να απαιτείται μικρότερος όγκος πιεστηρίων για την παραλαβή του υπόλοιπου χυμού. Δε συνοδεύεται από αποβοστρύχωση, διαδικασία που δεν προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα στη λευκή οينوποίηση με δεδομένο ότι τα στέμφυλα απομακρύνονται από την αρχή και μόνο το γλεύκος παραμένει για να υποστεί ζύμωση. Βασικό μειονέκτημα της επεξεργασίας αυτής είναι η αύξηση της οινολάσπης και η αύξηση της ευαισθησίας των συστατικών της σταφυλόμαζας στην οξείδωση.
- Στράγγιση ή προπίεση του γλεύκους (egouttage). Η επεξεργασία αυτή έχει ως σκοπό τον ταχύτερο δυνατό διαχωρισμό και παραλαβή του γλεύκους που έχει απελευθερωθεί από κατά την έκθλιψη των ραγών. Απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή στην ορθή διεξαγωγή της, διαφορετικά ενδέχεται να υποβαθμιστεί η ποιότητα του παραγόμενου οίνου.

Υπάρχουν δύο τρόποι διαχωρισμού του γλεύκους: ο στατικός διαχωρισμός ή στράγγιση και ο μηχανικός διαχωρισμός ή προπίεση. Στην πρώτη περίπτωση ο διαχωρισμός γίνεται με την επίδραση μόνο της βαρύτητας, ενώ στη δεύτερη περίπτωση με τη βοήθεια δυναμικών διαχωριστών (προπιεστηρίων).

- Πίεση των στεμφύλων (pressurage). Μετά την ολοκλήρωση και αυτής της διαδικασίας αποσπάται το υπόλοιπο γλεύκος από τη σταφυλόμαζα. Η έντονη παρουσία στα φρέσκα σταφύλια μη κροκιδωμένων πολυσακχαριτών που έχουν την τάση να σχηματίζουν συμπαγή μάζα καθιστούν δύσκολη την πίεση των στεμφύλων στη λευκή

οινοποίηση. Αντίθετα, στην ερυθρή οινοποίηση οι πολυσακχαρίτες είναι κροκιδωμένοι από την αιθανόλη που έχει σχηματιστεί κατά την αλκοολική ζύμωση που έχει προηγηθεί.

Τα πιεστήρια διακρίνονται σε συνεχούς λειτουργίας, μη συνεχούς λειτουργίας και συνεχούς λειτουργίας αλλά ασυνεχούς πίεσης.

### 3) Επεξεργασία του γλεύκους πριν από τη ζύμωση

- Χημικές επεξεργασίες: Θείωση (προστασία από οξειδώσεις), εμπλουτισμός των ζαχάρων, διόρθωση οξύτητας.
- Φυσικές επεξεργασίες: Απολάσπωση ή απομάκρυνση της υποστάθμης (περιορίζει την εκχύλιση των συστατικών των στερεών μερών του σταφυλιού).
- Φυτικοχημικές επεξεργασίες: προσθήκη μπεντονίτη (λόγω της προσροφητικής του ικανότητας αφαιρεί πρωτεϊνικής φύσης οξειδωτικά ένζυμα).

### 4) Αλκοολική ζύμωση του γλεύκους.

Απαραίτητη προϋπόθεση για την παραγωγή ποιοτικών λευκών κρασιών είναι η πραγματοποίηση της ζύμωσης σε θερμοκρασία 16-20 °C κατά την οποία αυξάνονται οι αρωματικοί εστέρες. Η διατήρηση της θερμοκρασίας ζύμωσης σε χαμηλά επίπεδα μπορεί να διασφαλιστεί με ζύμωση σε δοχεία μικρού όγκου ή με ψύξη του «εν ζυμώσει» γλεύκους. Ακόμα, διεξάγεται συνεχής έλεγχος της πορείας της αλκοολικής ζύμωσης με μέτρηση της θερμοκρασίας και της πυκνότητας του γλεύκους.

Η οξείδωση μπορεί να συνεχιστεί και στο στάδιο αυτό με αρνητικές συνέπειες για το άρωμα, τη φρεσκάδα και το χρώμα του οίνου. Μεταξύ των δημοφιλέστερων ουσιών που χρησιμοποιούνται για την αναστολή της οξείδωσης είναι ο θειώδης ανυδρίτης και το ασκορβικό οξύ, ενώ η θέρμανση και η οινοποίηση σε αδρανή ατμόσφαιρα είναι μερικές τεχνικές με ανάλογο αποτέλεσμα.

## 1.7 Βαρέλι και παλαίωση κρασιού

Ο όρος «παλαίωση οίνου» περιλαμβάνει όλες τις αντιδράσεις και τις μεταβολές που συντελούνται με το πέρασμα του χρόνου μεταξύ των συστατικών του κρασιού και που επιφέρουν τη βελτίωση των οργανοληπτικών του ιδιοτήτων και όχι την αλλοίωσή του (8). Πρόκειται για συνδυασμό χημικών, φυσικών, φυτικοχημικών και βιοχημικών φαινομένων, όπως συσσωματώσεις, καθιζήσεις, εστεροποιήσεις, οξειδώσεις, αναγωγές κ.ά., που μεταμορφώνουν αισθητά τους οίνους και που διαμορφώνουν σε μεγάλο βαθμό την ποιότητά τους (2). Έχει επικρατήσει η άποψη ότι η τιμή πώλησης του οίνου

είναι άμεση συνάρτηση της ποιότητάς του και αυτή με τη σειρά της εξαρτάται από το βαθμό παλαίωσής του (8).



Στο σημείο αυτό πρέπει να γίνει διαχωρισμός ανάμεσα στην παλαίωση που πραγματοποιείται σε, δρύινο συνήθως, βαρέλι και σε αυτή που ακολουθεί μετά την εμφιάλωση του κρασιού (παλαίωση σε φιάλη). Η παλαίωση του κρασιού σε δρύινο βαρέλι είναι γνωστή και ως ωρίμανση και περιλαμβάνει τα παρακάτω φαινόμενα (2):

- Οξείδωση του οίνου. Αποτελείται από τις επιμέρους διαδικασίες της διαλυτοποίησης του οξυγόνου στον οίνο και της δέσμευσής του από διάφορα συστατικά του (κυρίως από φαινολικές ενώσεις). Η ενσωμάτωση του οξυγόνου στον οίνο γίνεται κατά τις διάφορες μεταγίσεις, αναδεύσεις, συμπληρώσεις, διηθήσεις, εμφιαλώσεις καθώς επίσης, και από τον αέρα που υπάρχει σε μισογεμάτα βαρέλια και τον αέρα που διαπερνά το ξύλο των βαρελιών.
- Μετατροπές του χρώματος. Παρουσία οξυγόνου το ζωηρό χρώμα των νέων ερυθρών οίνων (που οφείλεται στις ανθοκυανίνες) μετατρέπεται σε ερυθρό-πορτοκαλόχρουν (κεραμιδί). Βασικές υπαίτιες αυτής της χρωματικής αλλαγής φαίνεται να είναι οι πολυμερισμένες και οξειδωμένες ταννίνες οι οποίες συμμετέχουν στο σχηματισμό ενώσεων που επηρεάζουν το χρώμα του κρασιού. Επιπλέον, όσο προχωρά η παλαίωση του ερυθρού οίνου αυξάνεται η περιεκτικότητά του σε συστατικά πορτοκαλί χρώματος που προέρχονται από αντιδράσεις συμπύκνωσης των ανθοκυανινών (9).

Όσον αφορά τα λευκά κρασιά, αυτά σταδιακά αποκτούν σκούρο κίτρινο χρώμα και καταλήγουν όμοια με τους ερυθρούς παλαιωμένους οίνους. Η οξείδωση των φαινολικών ενώσεων προκαλεί αυτή τη χρωματική αλλαγή. Οι ορθοδιφαινόλες μετατρέπονται σε βενζοκινόνες οι οποίες μετά τον πολυμερισμό τους οδηγούν στο σχηματισμό των μελανινών (σώματα φαιού χρώματος). Κάποιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η αντίδραση Maillard (αντίδραση αμινομάδας και καρβονυλομάδας)



και άλλες αντιδράσεις απαμίνωσης αζωτούχων ουσιών ενδέχεται να συμβάλλουν στο σχηματισμό του σκούρου χρώματος.

- Απώλεια οίνου. Είναι αποτέλεσμα της εξάτμισης του οίνου μέσα από τους πόρους του ξύλου και επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τις συνθήκες που επικρατούν στο κελάρι.
- Διαύγαση. Με το πέρασμα του χρόνου παρατηρείται καθίζηση των διαφόρων αιωρημάτων με επακόλουθο τη φυσική διαύγαση του κρασιού.
- Εμπλουτισμός του οίνου από γευστικά και αρωματικά συστατικά, προερχόμενα από το ξύλο της δρυός. Πιο συγκεκριμένα, η βανιλίνη θεωρείται ότι προσδίδει χαρακτήρα βανίλιας στα κρασιά που έχουν παλιώσει σε δρύινα βαρέλια, ενώ η ευγενόλη βρίσκεται στο εκχύλισμα χυλού δρυός και έχει άρωμα γαριφάλου (3) .
- Εστεροποίηση. Ο σχηματισμός εστέρων επιφέρει τη μείωση της οξύτητας.
- Πιθανές αρνητικές επιπτώσεις, όπως βακτηριακές προσβολές, υπέρμετρη οξείδωση, ανάπτυξη δυσάρεστων οσμών (οσμές μούχλας), κ.ά.

### **1.8 Η θέση του κρασιού στη μεσογειακή διατροφή**

Η μεσογειακή διατροφή μπορεί να οριστεί ως το σύνολο των διατροφικών συνηθειών που επικράτησαν στις χώρες γύρω από τη Μεσόγειο στα τέλη της δεκαετίας του 1950 με αρχές της δεκαετίας του 1960. Στα κύρια χαρακτηριστικά της συμπεριλαμβάνονται η υψηλή κατανάλωση μονοακόρεστου λίπους, οσπρίων, δημητριακών, φρούτων και λαχανικών, η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ και γαλακτοκομικών προϊόντων και η χαμηλή κατανάλωση κρέατος (11).

Οι δείκτες θνησιμότητας για διάφορα νοσήματα στις Μεσογειακές χώρες είναι ιδιαίτερα μειωμένοι σε σχέση με τους αντίστοιχους άλλων οικονομικά πιο ανεπτυγμένων χωρών της Βόρειας Ευρώπης και Αμερικής. Φαίνεται λοιπόν, οι Μεσογειακοί λαοί να εμφανίζουν μικρότερη συχνότητα καρδιαγγειακών νοσημάτων και καρκίνου, γεγονός που αποδίδεται σε μεγάλο βαθμό στη Μεσογειακή διατροφή που ακολουθούν (12). Επίσης, υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις ότι ο συγκεκριμένος τύπος διατροφής συμβάλλει στη μακροζωία (13).

Το κρασί αποτελεί αναπόσπαστο τμήμα της παραδοσιακής Μεσογειακής διατροφής. Συνήθως καταναλώνεται σε μέτριες ποσότητες σε συνδυασμό με τα γεύματα. Τις τελευταίες δεκαετίες έχει αποτελέσει αντικείμενο πολλών μελετών που προσπαθούν να διαλευκάνουν τις επιμέρους ευεργετικές ιδιότητές του (αντικαρκινική

δράση, προστασία από καρδιαγγειακά, κ.ά.) στα πλαίσια μιας ισορροπημένης και, πάνω απ' όλα, Μεσογειακής διατροφής (11).

### **1.9 Το Γαλλικό παράδοξο**

Το Γαλλικό παράδοξο (French Paradox) μπορεί να οριστεί ως ο μικρότερος – από τον αναμενόμενο- δείκτης θνησιμότητας από καρδιαγγειακά νοσήματα σε μία χώρα όπου οι συνήθειες παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακών είναι το ίδιο συχνοί με τις άλλες βιομηχανοποιημένες χώρες και όπου η διατροφή ήταν ανέκαθεν πλούσια σε κορεσμένα ζωικά λίπη. Επιπλέον, φαίνεται οι Γάλλοι να έχουν περισσότερες πιθανότητες για μια αίσια εξέλιξη μετά την εμφάνιση καρδιαγγειακού επεισοδίου (12). Η περιοχή της Τουλούζης στη Νότια Γαλλία έχει πολύ μικρή συχνότητα εμφάνισης στεφανιαίας καρδιακής νόσου παρά την υψηλή κατανάλωση λιπαρών τροφίμων και τα υψηλά ποσοστά καπνίσματος που παρατηρούνται (6). Διάφορες υποθέσεις έχουν διατυπωθεί κατά καιρούς για την εξήγηση του φαινομένου, ενώ πολλοί το αποδίδουν στα ευεργετικά για την υγεία συστατικά του κόκκινου κρασιού.

Είναι γεγονός ότι η μέτρια κατανάλωση κόκκινου κρασιού μαζί με τα γεύματα αποτελεί καθημερινή συνήθεια των Γάλλων. Είναι αμφίβολο όμως κατά πόσο μπορεί να αποδοθεί στα πολυφαινολικά συστατικά του κρασιού, και μόνο σ' αυτά, ένας τόσο ισχυρά προστατευτικός ρόλος έναντι της στεφανιαίας νόσου (6).

Πρόσφατη έρευνα (33) προσπάθησε να εντοπίσει τον πιθανό ρόλο του αλκοόλ στο φαινόμενο αυτό. Η κατανάλωση κρασιού χωρίς αλκοόλ δεν επέφερε καμία μεταβολή στα λιπίδια, τις λιποπρωτεΐνες, την ινσουλίνη και τη γλυκόζη. Αντίθετα, όσοι κατανάλωσαν κρασί με αλκοόλ σημείωσαν σημαντικές αλλαγές, με κύριες τη μείωση της LDL και την αύξηση της HDL. Αυτή η διαπίστωση δε σημαίνει απαραίτητα ότι το αλκοόλ είναι υπεύθυνο για κάποια προστατευτική δράση. Είναι πιθανό το αλκοόλ να δρα συνεργιστικά με τις πολυφαινόλες του κόκκινου κρασιού, διευκολύνοντας για παράδειγμα την απορρόφησή τους.

# ΟΙ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ

## 2.1 Γενικά

Ο όρος πολυφαινόλες (polyphenols, PP) χρησιμοποιείται για να περιγράψει ένα ετερογενές σύνολο ενώσεων που χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη ενός ή περισσότερων υδροξυλίων απ' ευθείας συνδεδεμένα σε έναν ή περισσότερους αρωματικούς ή ετεροκυκλικούς δακτυλίους. Οι πολυφαινολικές ενώσεις αποτελούν προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών. Σήμερα είναι γνωστές περισσότερες από 8000 πολυφαινόλες.

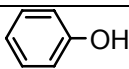
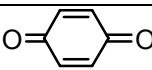
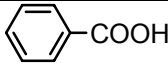
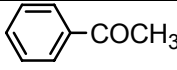
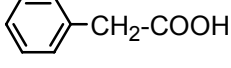
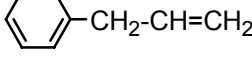
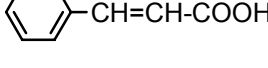
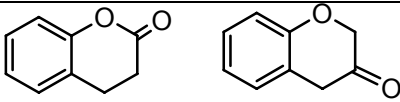
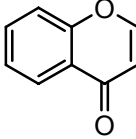
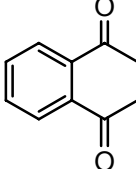
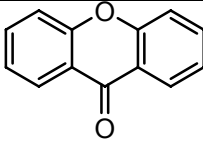
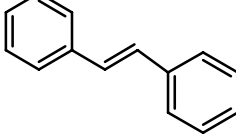
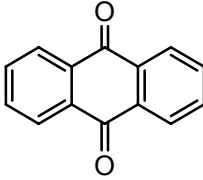
Στην πλειοψηφία τους οι πολυφαινόλες εμφανίζονται σε σύζευξη με υδατάνθρακες μέσω των υδροξυλίων τους. Τα σάκχαρα αυτά μπορεί να είναι μονοσακχαρίτες, δισακχαρίτες ή ολιγοσακχαρίτες. Παραδείγματα τέτοιων σακχάρων είναι η γαλακτόζη, η ξυλόζη, η ραμνόζη, η αραβινόζη, τα γλυκουρονικά και γαλακτορουρικά οξέα, κ. ά. Το σάκχαρο που εμφανίζεται συχνότερα είναι η γλυκόζη (6).

## 2.2 Κατηγορίες και χημικοί τύποι

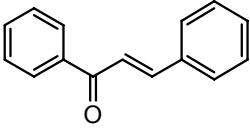
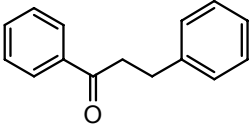
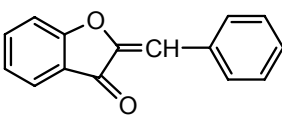
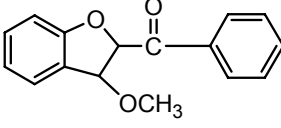
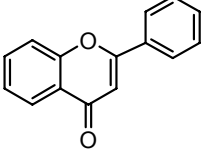
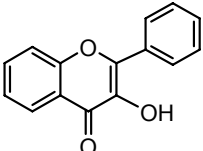
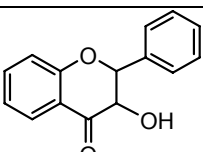
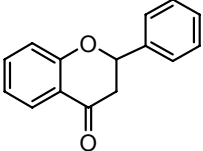
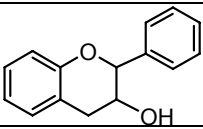
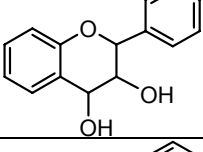
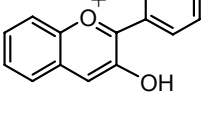
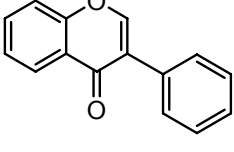
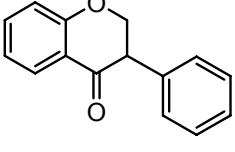
Ο Harborne ταξινομεί τις πολυφαινόλες στις ακόλουθες 10 κατηγορίες με κριτήριο τη χημική τους δομή: απλές φαινόλες, βενζοκινόνες, φαινολικά οξέα, ακετοφαινόλες, φαινυλοξικά οξέα, φαινυλοπροπανοειδή, (υδροξυ)κινναμωμικά οξέα, κουμαρίνες/ίσοκουμαρίνες, χρωμόνες, ναφθοκινόνες, ξανθόνες, στιλβένια, ανθρακινόνες, φλαβονοειδή, λιγνάνες/νεολιγνάνες/λιγνίνες (Πίνακας 2.1).

Από αυτές, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα φλαβονοειδή των οποίων η επιμέρους κατάταξη γίνεται με βάση τη δομή του ανθρακικού δακτυλίου (Πίνακας 2.2). Τα πιο κοινά φλαβονοειδή είναι οι ανθοκυανιδίνες, οι φλαβόνες, οι φλαβονόλες, οι φλαβανόλες και οι φλαβανόνες (11).

**Πίνακας 2.1.** Κύριες τάξεις πολυφαινολικών ενώσεων (κατά Harborne)

|                                 |                                                                                     |                                             |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Απλές φαινόλες                  |    | Τυροσόλη,<br>υδροξυτυροσόλη                 |
| Βενζοκινόνες                    |    |                                             |
| Φαινολικά οξέα                  |    | Γαλλικό, συριγγικό,<br>βανιλλικό (αλδεϋδες) |
| Ακετοφαινόλες                   |    | Λιγότερο συχνά στα<br>φυτά                  |
| Φαινυλοξικά οξέα                |    |                                             |
| Φαινυλοπροπανοειδή              |    |                                             |
| (Υδροξυ)κινναμωμικά οξέα        |    | Φερουλικό, καφεϊκό,<br>σιναπικό, κουμαρικό  |
| Κουμαρίνες, Ισοκουμαρίνες       |   | Συνήθως ως γλυκοζίτες                       |
| Χρωμόνες                        |   |                                             |
| Ναφθοκινόνες                    |  |                                             |
| Ξανθόνες                        |  |                                             |
| Στιλβένια                       |  |                                             |
| Ανθρακινόνες                    |  | Εμοδίνη κλπ                                 |
| Φλαβονοειδή                     | Βλέπε Πίνακα 2.2                                                                    |                                             |
| Λιγνάνες, νεολιγνάνες, λιγνίνες |                                                                                     |                                             |

**Πίνακας 2.2.** Κατάταξη φλαβονοειδών τροφίμων (κατά Harborne)

|                                                                  |                                                                                                                                                                          |                                                                                    |
|------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Χαλκόνες</b>                                                  |                                                                                         |                                                                                    |
| <b>Διϋδροχαλκόνες</b>                                            |                                                                                         |                                                                                    |
| <b>Χρυσόνες</b>                                                  |       |                                                                                    |
| <b>Φλαβόνες</b>                                                  |                                                                                         | Απιγενίνη, λουτεολίνη, διοσμιτίνη<br><i>O</i> -γλυκοζίτες και <i>C</i> -γλυκοζίτες |
| <b>Φλαβονόλες</b>                                                |                                                                                         | Κερκετίνη, μυρισετίνη.<br>Συνήθως ως <i>O</i> -γλυκοζίτες                          |
| <b>Διϋδροφλαβονόλες</b>                                          |                                                                                        |                                                                                    |
| <b>Φλαβανόνες</b>                                                |                                                                                       | Ναριγγενίνη, εσπεριδίνη                                                            |
| <b>Φλαβανόλες</b>                                                |                                                                                       |                                                                                    |
| <b>Φλαβανοδιόλες</b>                                             |                                                                                       |                                                                                    |
| <b>Ανθοκυανιδίνες</b>                                            |                                                                                       | Σημαντικά υδατοδιαλυτά<br>πιγμέντα λουλουδιών<br>πελαργονιδίνη, δελφινιδίνη κλπ    |
| <b>Ισοφλαβονοειδή</b>                                            |   | γενιστεΐνη κλπ                                                                     |
| <b>Διφλαβονοειδή, Προανθοκυανιδίνες ή συμπυκνωμένες ταννίνες</b> |                                                                                                                                                                          |                                                                                    |

## 2.3 Πηγές πολυφαινόλων

Οι πολυφαινόλες βρίσκονται σε αφθονία σε τρόφιμα φυτικής προέλευσης (φρούτα, λαχανικά, δημητριακά, όσπρια, ξηροί καρποί κλπ.) και ποτά (κρασί, μύρα, τσάι, κακάο). Η συγκέντρωση των πολυφαινόλων στα τρόφιμα είναι συνάρτηση τόσο γενετικών όσο και περιβαλλοντικών παραμέτρων. Ενδεικτικά αναφέρονται η έκθεση στο φως, ο βαθμός ωρίμανσης, η ποικιλία, η επεξεργασία και η αποθήκευση. Στον πίνακα 2.3 φαίνεται η περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες διαφόρων τροφίμων και ποτών.

**Πίνακας 2.3.** Περιεχόμενο πολυφαινόλων σε διάφορα τρόφιμα και ποτά

| Τρόφιμο/ ποτό                   | Ολικές πολυφαινόλες | Τρόφιμο/ ποτό               | Ολικές πολυφαινόλες |
|---------------------------------|---------------------|-----------------------------|---------------------|
| <i>Δημητριακά (mg/ 100g dm)</i> |                     | <i>Φρούτα (mg/ 100g fm)</i> |                     |
| Βρώμη                           | 8,7                 | Μήλο                        | 27-298              |
| Καλαμπόκι                       | 30,9                | Σταφύλι                     | 50-490              |
| Ρύζι                            | 8,6                 | Πορτοκάλι                   | 50-100              |
| Σιτάρι                          | 22-40               | Βατόμουρο                   | 37-429              |
| <i>Όσπρια (mg/ 100g dm)</i>     |                     | Φράουλα                     | 38-218              |
| Ρεβύθια                         | 78-230              | Κεράσι                      | 60-90               |
| Αρακάς                          | 440-800             | Μαύρη σταφίδα               | 140-1200            |
| μπιζέλια                        | 380-1710            | Κόκκινη σταφίδα             | 17-20               |
| <i>Ξηροί καρποί (%dm)</i>       |                     | <i>Ποτά</i>                 |                     |
| Φυστίκια                        | 0,04                | Κρασί (mg/L)                |                     |
| Pecan nuts                      | 8-14                | Λευκό                       | 200-300             |
| <i>Λαχανικά (mg/ 100g fm)</i>   |                     | κόκκινο                     | 1000-4000           |
| Λάχανο                          | 25                  | Μύρα (mg/L)                 | 60-100              |
| Κρεμμύδι                        | 100-2025            | Σπόροι κακάο (%dm)          | 12-18               |
| Μαϊντανός                       | 55-180              | Σπόροι καφέ (%dm)           | 0,2-10              |
| Σέλινο                          | 94                  | Τσάι φλιτζ. (200 mL)        | 150-210             |

\*dm:ξηρή ύλη, fm:νωπή ύλη

Στα διάφορα είδη τροφίμων η περιεκτικότητα των ολικών PP κυμαίνεται σε ευρέα όρια, όπως π.χ. στο κόκκινο κρασί 1000-4000 mg/L. Στα όσπρια και δημητριακά οι κυριότερες πολυφαινόλες είναι φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα και ταννίνες. Τα λαχανικά περιέχουν κυρίως φλαβονοειδείς γλυκοζίδες. Οι ρίζες και οι βολβοί έχουν χαμηλές συγκεντρώσεις φλαβονοειδών με εξαίρεση τα κρεμμύδια και τη γλυκόριζα. Τα μούρα χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε ανθοκυανίνες, ενώ τα φρούτα

όπως τα μήλα και τα εσπεριδοειδή είναι πλούσια σε φαινολικά οξέα και φλαβονοειδή, αντίστοιχα. Οι ξηροί καρποί έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε ταννίνες ενώ το ελαιόλαδο περιέχει φαινολικά οξέα και υδρολυόμενες ταννίνες (6).

## **2.4 Απορρόφηση και μεταβολισμός πολυφαινολών**

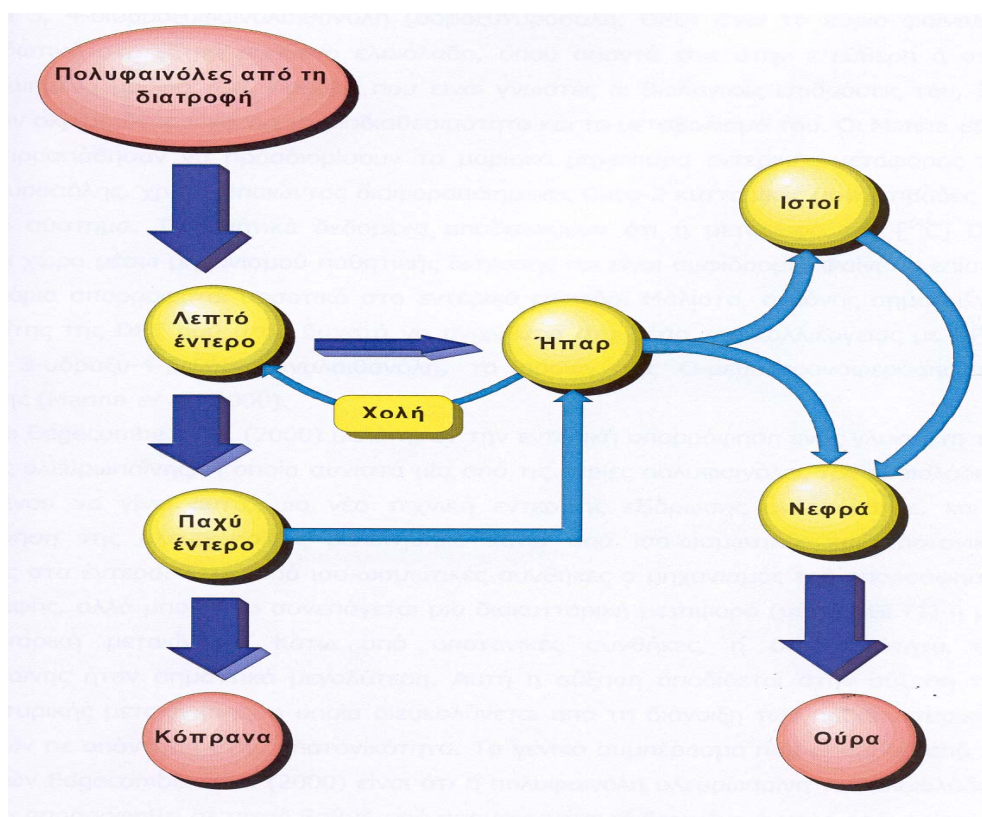
Σύμφωνα με μία έρευνα, η trans- ρεσβερατρόλη, η [+]- κατεχίνη και η κερκετίνη είναι παρούσες στον ορό του αίματος και στα ούρα, είτε ως ελεύθερες είτε ως συμπλέγματα γλυκόζης και θείου. Η μέγιστη συγκέντρωση των συστατικών αυτών στο αίμα εμφανίζεται μόλις 30 λεπτά μετά την από του στόματος πρόσληψή τους, γεγονός που υποδηλώνει την ταχεία απορρόφησή τους (18). Ο βαθμός κατά τον οποίο θα απορροφηθεί και θα μεταβολιστεί μια PP από τον οργανισμό εξαρτάται από παράγοντες όπως η χημική της δομή (βαθμός γλυκοζυλίωσης/ ακυλίωσης), βασική της δομή (βενζολικός ή φλαβονοειδικός πυρήνας), σύζευξη με άλλες PP, το MB της, το βαθμό πολυμερισμού και τη διαλυτότητά της.

Οι γλυκοζυλιωμένες PP (συνήθως φλαβονόλες, ισοφλαβόνες, φλαβόνες, ανθοκυανίνες) απαιτούν την παρουσία γλυκοζιδασών που θα προκαλέσουν σχάση του γλυκοζιτιδικού δεσμού για να απορροφηθούν. Οι γλυκοζιδάσες υπάρχουν στο ίδιο το τρόφιμο, στα κύτταρα του λεπτού εντέρου και στο παχύ έντερο. Οι φλαβανόλες (π.χ. επικατεχίνη) απαντώνται κυρίως στην ακυλιωμένη τους μορφή, συνήθως με γαλλικό οξύ, γεγονός που εμποδίζει την απορρόφησή τους.

Οι PP διακρίνονται σε εκχυλιζόμενες: χαμηλού και μέσου MB που εκχυλίζονται με διαλύτες όπως MeOH και H<sub>2</sub>O και μη- εκχυλιζόμενες: υψηλού MB, συνδεδεμένες σε φυτικές ίνες και πρωτεΐνες. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι μη εκχυλιζόμενες PP, σε αντίθεση με τις εκχυλιζόμενες, ανευρίσκονται σε μεγάλο ποσοστό στα κόπρανα, ένδειξη ανθεκτικότητας κατά την εντερική πέψη και απορρόφηση. Ακόμα, η απορρόφηση των PP εξαρτάται από το MB της ένωσης. Οι μεγάλου βάρους PP, όπως οι πολυμερείς προανθοκυανιδίνες, δεν απορροφώνται εύκολα από το λεπτό έντερο.

Τα κύρια όργανα που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των PP είναι το ήπαρ, τα νεφρά και ο εντερικός βλεννογόνο. Οι PP που δεν απορροφώνται από το λεπτό έντερο και αυτές που μεταβολίζονται στο ήπαρ και εκκρίνονται στη χολή μεταφέρονται στο παχύ έντερο. Εκεί, μεταβολίζονται οι ραμνογλυκοζίτες και αποσυντίθεται ο πολυφαινολικός σκελετός προς απλούστερες ενώσεις με τη συμβολή

μικροοργανισμών. Στη συνέχεια, τα φαινολικά οξέα απορροφώνται και απεκκρίνονται στα ούρα, αφού πρώτα έχουν υποστεί δευτερογενείς αντιδράσεις (6).



**Σχήμα 2.1.** Η πορεία των PP που παραλαμβάνονται από την τροφή.

## 2.5 Βιοδιαθεσιμότητα πολυφαινολών

Για να μπορέσουν οι PP να εκδηλώσουν την όποια δράση τους θα πρέπει να είναι διαθέσιμες μετά την πρόσληψή τους. Ο βαθμός βιοδιαθεσιμότητας ποικίλλει ανάμεσα στα διάφορα είδη πολυφαινολών. Σε μια έρευνα που μελετήθηκαν τα επίπεδα του καφεϊκού οξέος στο πλάσμα μετά την κατανάλωση κόκκινου κρασιού, φάνηκε ότι τα επίπεδα αυτού του υδροξυκινναμικού παραγώγου ήταν δοσοεξαρτώμενα και στενά συνδεδεμένα με το επίπεδο των ολικών αντιοξειδωτικών (15).

Σύμφωνα με ανασκόπηση (19) των αποτελεσμάτων 93 μελετών παρέμβασης σχετικά με τη βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών στον ανθρώπινο οργανισμό, οι ισοφλαβόνες απορροφώνται σε υψηλό βαθμό και εμφανίζουν τη μέγιστη συγκέντρωση στο πλάσμα 6-8 ώρες μετά την κατανάλωση. Επιπλέον, η βιοδιαθεσιμότητά τους αυξάνεται κατά τη διάρκεια μιας εκτεταμένης περιόδου πρόσληψης. Η κερκετίνη συναντάται στο πλάσμα συνήθως σε σύζευξη με μεθυλικά,θειικά και γλυκουρονικά οξέα, γεγονός που περιορίζει τη βιολογική της δράση. Οι κατεχίνες αυξάνουν την



αντιοξειδωτική δράση του πλάσματος, έχουν όμως μικρό χρόνο ημιζωής, δηλαδή αποβάλλονται γρήγορα από τον οργανισμό. Τέλος, στις προκυανιδίνες αποδίδεται μία σειρά από βιολογικές δράσεις οι οποίες δεν αποδεικνύονται επαρκώς σε πειράματα in vitro (χαμηλές έως ανύπαρκτες συγκεντρώσεις στο πλάσμα), πιθανώς λόγω της ύπαρξης άγνωστων μεταβολιτών της.

## 2.6 Φυσιολογικές δράσεις πολυφαινόλων

Οι κύριοι προστατευτικοί μηχανισμοί στους οποίους εμπλέκονται οι PP συνοψίζονται στα παρακάτω (6):

- Αντιοξειδωτική δράση. Έχουν την ικανότητα να λειτουργούν ως «δεσμευτές» των ελευθέρων ριζών γεγονός το οποίο τις καθιστά ιδιαίτερα σημαντικές για την πρόληψη διάφορων παθολογικών καταστάσεων όπως του καρκίνου και των καρδιαγγειακών παθήσεων. Πιο συγκεκριμένα, αναστέλλουν την οξείδωση της LDL, της οποίας η οξειδωμένη μορφή εμπλέκεται στο σχηματισμό αθηρωματικής πλάκας (41).
- Επίδραση στην πέψη των μακροθρεπτικών συστατικών. Σε μεγαλύτερο βαθμό οι εκτενώς πολυμερισμένες ταννίνες συνδέονται και καταβυθίζουν πρωτεΐνες (μεταξύ αυτών πρωτεΐνες και ένζυμα της πέψης λιπών και υδατανθράκων) με αποτέλεσμα τη καθυστέρηση της απορρόφησής τους.
- Επίδραση στην απορρόφηση μεταλλικών κατιόντων. Κυρίως τα φλαβονοειδή παρεμποδίζουν την απορρόφηση των ιόντων που συμβάλλουν στη δημιουργία ελεύθερων ριζών ( Fe, Cu, Zn, Na, Al) υπό τη δημιουργία συμπλόκων.
- Μείωση των επιπέδων σακχάρου και χοληστερόλης στο αίμα. Κυρίως από ταννίνες και πολυφαινόλες του ελαιόλαδου.
- Προστασία επιθηλιακών κυττάρων του αναπνευστικού συστήματος
- Αύξηση των επιπέδων της HDL και μείωση των επιπέδων LDL. Δράση που αποδίδεται στις ταννίνες, κυρίως.
- Αντικαρκινική δράση. Προάγουν την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων στο παχύ έντερο. Οι κατεχίνες του τσαγιού έχουν δείξει τη μεγαλύτερη αντικαρκινική δράση.
- Αντιμικροβιακή και αντιβακτηριακή δράση. Κάποια φαινολικά οξέα, μεταξύ των οποίων το καφεϊκό, το p- κουμαρικό, η βανιλίνη, η κερκετίνη και η ρεσβερατρόλη, φαίνεται να δρουν ανασταλτικά στην ανάπτυξη στελεχών των S. Aureus, E. Coli και C. Albicans (20).

- Αντιαλλεργικές ιδιότητες. Παρεμπόδιση συσσώρευσης αιμοπεταλίων
- Αγγειοδιασταλτική δράση. Διαμέσου της παραγωγής ενδοκυτταρικού NO
- Προστασία του DNA από ενδοκυτταρικές προσβολές.

## 2.7 Τα αντιοξειδωτικά στο σταφύλι

Σύμφωνα με μία μελέτη (22), κατά την οποία προσδιορίστηκε το πολυφαινολικό περιεχόμενο λευκών και κόκκινων ποικιλιών σταφυλιών κατά την ωρίμανση, τα ποσοτικά κυρίαρχα συστατικά με αντιοξειδωτική δράση ήταν η κατεχίνη και η επικατεχίνη. Επιπλέον, σε όλα τα δείγματα που αναλύθηκαν με τη μέθοδο HPLC εντοπίστηκαν ξεκάθαρα οι πολυφαινόλες επιγαλλοκατεχίνη, καφταρικό οξύ, κερκετίνη, cis- και trans- κουταρικό οξύ. Όσον αφορά τη διακύμανση του συνολικού πολυφαινολικού περιεχομένου κατά την ωρίμανση (που μετρήθηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu), σε κάθε ποικιλία ακολουθήθηκε διαφορετική πορεία. Αυτό που παρατηρήθηκε σε κάθε περίπτωση ήταν το γεγονός ότι τα αρχικά δείγματα όλων των ποικιλιών είχαν υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο. Ακόμα, οι κόκκινες ποικιλίες ήταν σημαντικά πιο πλούσιες σε αντιοξειδωτικά συγκρινόμενες με τις λευκές. Στους Πίνακες 2.4 και 2.5 παρουσιάζονται αναλυτικά τα αντιοξειδωτικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν στις λευκές και κόκκινες ποικιλίες της έρευνας αυτής.

Σε άλλη έρευνα (24) που ασχολήθηκε με την ανάλυση των ανθοκυανινών διαφόρων ποικιλιών κόκκινων σταφυλιών ανιχνεύθηκαν 18 διαφορετικές ανθοκυανίνες οι οποίες διαχωρίστηκαν σε 3 κατηγορίες: μονογλυκοζυλιωμένες ανθοκυανίνες, ακετυλιωμένες ανθοκυανίνες (δελδινιδίνης, κυανιδίνης, πετουνιδίνης, πεονιδίνης και μαλβιδίνης) και παράγωγα κινναμωμικού οξέος. Τα κύρια παράγωγα κινναμωμικού οξέος που ανιχνεύθηκαν ήταν καφεϋλογλυκοζίτες και p-κουμαρόϋλογλυκοζίτες. Οι μονογλυκοζίτες των ανθοκυανινών υπήρχαν σε όλα τα εκχυλίσματα των σταφυλιών και μάλιστα σε υψηλές συγκεντρώσεις. Μεταξύ αυτών η μαλβιδίνη εμφάνισε ποσοτική υπεροχή. Αξίζει να σημειωθεί ότι παρατηρήθηκαν σημαντικές ποιοτικές και ποσοτικές διαφορές ανάμεσα σε σταφύλια διαφορετικών καλλιεργειών.

Στην έρευνα των Guendez et al. (21) προσδιορίστηκαν τα χαμηλού μοριακού βάρους πολυφαινολικά συστατικά σε ποικιλίες κόκκινων σταφυλιών που καλλιεργήθηκαν στην Ελλάδα. Στη συνέχεια, τα παραπάνω αποτελέσματα συσχετίστηκαν με την αντιοξειδωτική δράση των αντίστοιχων δειγμάτων. Τα

συστατικά που ανιχνεύτηκαν ήταν το γαλλικό οξύ, η κατεχίνη, η επικατεχίνη, η επιγαλλοκατεχίνη, η γαλλική επικατεχίνη, η γαλλική επιγαλλοκατεχίνη και οι προκυανιδίνες B<sub>1</sub> και B<sub>2</sub> (διμερή). Η πολυφαινόλη που εντοπίστηκε στην υψηλότερη συγκέντρωση ήταν η κατεχίνη (49,8%) με ακόλουθες την επικατεχίνη (26%), την γαλλική επικατεχίνη (9,3%), τις προκυανιδίνες B<sub>1</sub> (5,8%) και B<sub>2</sub> (5,1%). Η επιγαλλοκατεχίνη και το γαλλικό οξύ βρέθηκαν σε μικρές συγκεντρώσεις. Η αντιοξειδωτική δράση (που μετρήθηκε βάσει της ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH) φάνηκε να συσχετίζεται σημαντικά με το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο (που μετρήθηκε με τη μέθοδο Folin- Ciocalteu). Τέλος, η προκυανιδίνη B<sub>1</sub> αποδείχτηκε ένας από τους ισχυρότερους δεσμευτές ελευθέρων ριζών παρά τη μικρή συμμετοχή της στο ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο.

**Πίνακας 2.4.** Ποσοτική ανάλυση πολυφαινολικών συστατικών λευκών ποικιλιών (mg/100g σταφυλιού).

|                  | <i>Λευκές ποικιλίες</i> |               |              |
|------------------|-------------------------|---------------|--------------|
|                  | Palomino Fino           | Pedro Ximenez | Moscatel     |
| Κατεχίνη         | 5,99-36,89              | 16,16- 42,02  | 21,12- 87,18 |
| Επικατεχίνη      | 1,41- 9,81              | 4,17- 10,87   | 3,94- 14,03  |
| Επιγαλλοκατεχίνη | 0,60- 4,50              | 1,13- 5,35    | 0,50- 19,77  |
| Καφταρικό οξύ    | 0,25- 29,09             | 0,26- 2,09    | 0,24- 39,88  |
| c-Κουταρικό οξύ  | 0,14- 1,84              | 0,09- 0,21    | 0,11- 1,68   |
| t-Κουταρικό οξύ  | 0,13- 8,08              | 0,07- 0,38    | 0,06- 6,37   |

**Πίνακας 2.5.** Ποσοτική ανάλυση πολυφαινολικών συστατικών κόκκινων ποικιλιών (mg/100g σταφυλιού).

|                  | <i>Κόκκινες ποικιλίες</i> |               |               |
|------------------|---------------------------|---------------|---------------|
|                  | Sauvignon                 | Syrah         | Tempranillo   |
| Κατεχίνη         | 100,1- 586,86             | 42,61- 159,28 | 22,87- 175,29 |
| Επικατεχίνη      | 28,14- 137,12             | 28,64- 73,18  | 12,05- 68,45  |
| Επιγαλλοκατεχίνη | 1,88- 41,73               | 1,12- 15,63   | 1,64- 18,69   |
| Καφταρικό οξύ    | 0,51- 6,97                | 0,37- 15,88   | 0,85- 6,80    |
| c-Κουταρικό οξύ  | 0,08- 0,45                | 0,19- 1,38    | 0,26- 1,09    |
| t-Κουταρικό οξύ  | 0,15- 0,45                | 0,28- 4,89    | 0,90- 4,88    |

## 2.8 Τα αντιοξειδωτικά στο κρασί

Η περιεκτικότητα του κρασιού σε φαινολικά συστατικά εξαρτάται άμεσα από τις τεχνικές οινοποίησης και από την ποιότητα των σταφυλιών που χρησιμοποιήθηκαν. Σε μία έρευνα (29) φάνηκε ότι η οινοποίηση υπό θέρμανση επιφέρει μείωση τη φλαβανόλης μυρικετίνης στον παραγόμενο κόκκινο οίνο, ενώ καθιστά κυρίαρχη φλαβανόλη την κερκετίνη. Ακόμα, διαπιστώθηκε ότι τα κρασιά που παρασκευάζονται από σταφύλια υψηλής ποιότητας αποτελούν πλουσιότερες πηγές αντιοξειδωτικών συστατικών. Αυτή η παρατήρηση αποδίδεται στο γεγονός ότι τα σταφύλια υψηλής ποιότητας έχουν μικρό μέγεθος και επομένως είναι πιο συμπυκνωμένα όσον αφορά τις φλαβανόλες και τις λοιπές φαινολικές ουσίες, που στην πλειοψηφία τους βρίσκονται στο εξωτερικό περίβλημα του καρπού. Εξαιτίας του μικρού μεγέθους των σταφυλιών χρησιμοποιείται μεγαλύτερος αριθμός αυτών για την παραγωγή μιας συγκεκριμένης ποσότητας κρασιού με αποτέλεσμα η πρώτη ύλη να έχει αυξημένη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών.

Σε μια πρόσφατη έρευνα (26) αναλύθηκαν 5 κόκκινα και 8 λευκά ελληνικά κρασιά του εμπορίου με τη μέθοδο RP-HPLC. Τα κύρια φαινολικά συστατικά των κόκκινων και των λευκών κρασιών ήταν το γαλλικό οξύ, η κατεχίνη, η υδρόξυ-τυροσόλη, το καφεϊκό οξύ, το βανιλικό οξύ, η επικατεχίνη, το φερουλικό οξύ, το p-κουμαρικό οξύ και η κερκετίνη. Το ερώτημα που δημιουργείται είναι σε πιο από όλα τα συστατικά μπορεί να αποδοθεί ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Σύμφωνα με μία έρευνα (31) το 60% της αντιοξειδωτικής δράσης των κόκκινων κρασιών που μελετήθηκαν μπορεί να αποδοθεί στην (+)-κατεχίνη, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για τα λευκά κρασιά ήταν μόλις 24%.

Στην έρευνα των Landrault et al. (25), προσδιορίστηκε το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο 34 κόκκινων και 18 λευκών κρασιών που καταναλώνονται συχνά στη Γαλλία με τη μέθοδο Folin- Ciocalteu. Οι συγκεντρώσεις των πολυφαινολών κυμαίνονταν από 1018 έως 3545 mg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος/L στα κόκκινα κρασιά και από 262 έως 1425 mg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος/L στα λευκά κρασιά. Στο ίδιο συμπέρασμα, ότι δηλαδή τα λευκά κρασιά περιέχουν μικρότερες συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών σε σχέση με τα κόκκινα, έχουν καταλήξει και πολλές άλλες μελέτες (26, 27, 31). Επιπλέον, οι Landrault et al. (25) χρησιμοποίησαν τη μέθοδο HPLC για την ταυτοποίηση των επιμέρους αντιοξειδωτικών ουσιών. Ο Πίνακας 2.6 παρουσιάζει αναλυτικά τα συστατικά που ανιχνεύτηκαν.

**Πίνακας 2.6.** Ποσοτική ανάλυση πολυφαινολικών συστατικών κόκκινων και λευκών κρασιών (mg/L).

|                              | <i><b>κόκκινα</b></i> | <i><b>λευκά</b></i> |
|------------------------------|-----------------------|---------------------|
| Κατεχίνη                     | 4,4- 74               | 1,35- 98            |
| Επικατεχίνη                  | 10- 70                | 1- 100              |
| Γαλλικό οξύ                  | 2,2- 141,3            | 1,1- 25,3           |
| Καφεϊκό οξύ                  | 2,9- 40,6             | 0,41- 7,6           |
| Καφταρικό οξύ                | 0- 104,2              | 5,74- 44,8          |
| Γλυκοζίτες μαλβιδίνης        | 0,9- 100              | NF*                 |
| Γλυκοζίτες πεονδίνης         | 0- 25,3               | NF*                 |
| Γλυκοζίτες κυανιδίνης        | 0- 1,8                | NF*                 |
| B <sub>1</sub> προκυανιδίνες | 4,6- 50,8             | 0,8- 27,2           |
| B <sub>2</sub> προκυανιδίνες | 4,2- 163              | 1,2- 58,2           |
| B <sub>3</sub> προκυανιδίνες | 5- 102                | 3,6- 59,2           |
| B <sub>4</sub> προκυανιδίνες | 0,5- 36               | 0,6- 29,3           |

NF\*: Not Found

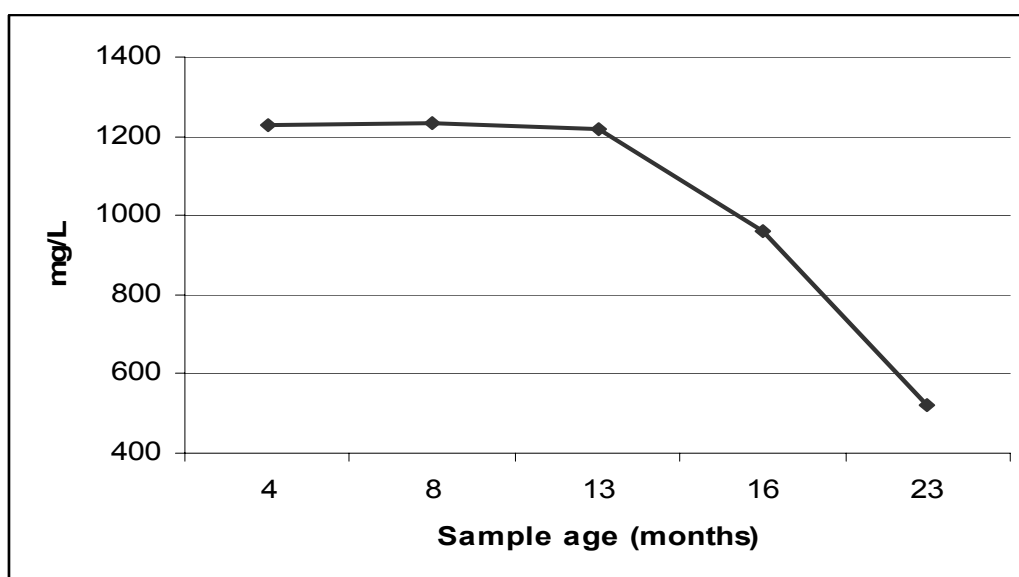
## 2.9 Διαφοροποιήσεις στην πολυφαινολική σύσταση του κρασιού κατά την παλαίωση

Η παλαίωση του κρασιού σε δρύινο κυρίως βαρέλι είναι μια παραδοσιακή οινολογική τεχνική που χρησιμοποιείται στην παραγωγή κρασιού. Αν και οι πολυφαινόλες του κρασιού αλληλεπιδρούν με το υλικό του βαρελιού σε μικρό βαθμό, το αποτέλεσμα στη σύσταση και τις οργανοληπτικές ιδιότητες του κρασιού είναι εντυπωσιακό. Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης του κρασιού οι ανθοκυανίνες υφίστανται αντιδράσεις συμπύκνωσης με αποτέλεσμα το σχηματισμό πολυμερών ενώσεων, στις οποίες αποδίδονται και οι παρατηρούμενες χρωματικές αλλαγές. Συνέπεια των διεργασιών αυτών είναι η αυξημένη συγκέντρωση νέων ανθοκυανινικών παραγώγων, με κυρίαρχα αυτά της μαλβιδίνης, και η σταδιακή μείωση των αντίστοιχων αρχικών συστατικών (28) .

Σύμφωνα με πρόσφατη έρευνα (29), το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο παρουσιάζει μείωση της τάξης του 33%, μετά από μία εβδομάδα παραμονής στο βαρέλι. Η περιεκτικότητα του κρασιού σε ταννίνες μειώθηκε, ενώ παρόμοια τάση διαπιστώθηκε για τις ανθοκυανίνες και για τα υδροξυκιναμωμικά οξέα. Ο βαθμός

απορρόφησης των πολυφαινόλων εμφάνισε διαφοροποιήσεις μεταξύ των διαφόρων συστατικών. Το ξύλο του βαρελιού αλληλεπίδρασε γρήγορα με τις ταννίνες του κρασιού, λιγότερο γρήγορα με τα υδροξυκινηματικά οξέα και τελικά στο πέρασμα του χρόνου με όλες τις πολυφαινόλες. Οι παραμένουσες συμπυκνωμένες ταννίνες περιείχαν λιγότερες μονάδες επγαλλοκατεχίνης σε σχέση με τις αρχικές, γεγονός που υποδηλώνει ότι οι πολικές ταννίνες ήταν αυτές που κυρίως απορροφήθηκαν, ανεξάρτητα από το πολυμερικό τους μέγεθος.

Οι Alcalde- Eon et al. (9) μελέτησαν τις αλλαγές στα πολυφαινολικά συστατικά κόκκινου κρασιού κατά την ωρίμανση και την παλαίωση με τη μέθοδο HPLC-DAD-MS. Ελήφθησαν δείγματα κρασιού μετά την πάροδο 4, 8, 13, 16 και 23 μηνών. Τα πρώτα τρία δείγματα αντιπροσωπεύουν την ωρίμανση και τα πρώτα στάδια παλαίωσης στο βαρέλι, το τέταρτο τις πρώτες μέρες στη φιάλη και το τελευταίο την παλαίωση στη φιάλη. Τον πρώτο χρόνο ωρίμανσης στο βαρέλι το ολικό αντιοξειδωτικό περιεχόμενο δεν παρουσίασε αξιόλογες διακυμάνσεις (Σχήμα 2.1). Ωστόσο, άλλαξε η ποσοστιαία συμμετοχή των επιμέρους συστατικών με πιο έντονη αλλαγή την μείωση του 3-ο-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης. Ταυτόχρονα, δημιουργήθηκαν νέα προϊόντα, κυρίως παράγωγα του 3-ο-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης, που συνέβαλαν στη διατήρηση του ολικού αντιοξειδωτικού φορτίου. Τους τελευταίους μήνες παραμονής στο βαρέλι και κατά την παλαίωση στη φιάλη παρουσιάστηκε μείωση τόσο των αρχικών ανθοκυανινών όσο και των παραγώγων τους με αποτέλεσμα την πτώση των ολικών αντιοξειδωτικών.



**Σχήμα 2.1.** Ολικά αντιοξειδωτικά συστατικά εκφρασμένα σε mg 3-ο-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης /L

Όσον αφορά στις αλλαγές που υφίσταται το φαινολικό περιεχόμενο του λευκού κρασιού κατά τη διάρκεια δωδεκάμηνης παραμονής σε πράσινη γυάλινη φιάλη, διαπιστώθηκε σημαντική μείωση των ολικών φαινολικών συστατικών σε σχέση με τα αρχικά (32). Η μείωση αυτή ήταν ιδιαίτερα έντονη τους 4 τελευταίους μήνες και προσέδωσε χαρακτηριστική καφέ απόχρωση στα δείγματα λόγω της οξείδωσης των φαινολών προς κινόνες, η οποίες πολυμερίζονται σε έγχρωμα προϊόντα. Το καφταρικό οξύ και το m-κουταρικό παρουσίασαν τη μικρότερη μείωση ενώ το καφεϊκό οξύ, το φερουλικό οξύ και το p-κουμαρικό οξύ αυξήθηκαν. Η κατεχίνη εμφάνισε μεγαλύτερη μείωση τους 2 τελευταίους μήνες.

## **2.10 Φυσιολογικές δράσεις των πολυφαινολών του κρασιού**

Η συχνή κατανάλωση μέτριας ποσότητας κρασιού, και ιδιαίτερα κόκκινου, έχει φανεί ότι μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου σε μεγαλύτερο βαθμό σε σχέση με άλλα αλκοολούχα ποτά, όπως η μύρα. Επίσης, στην κατανάλωση κρασιού έχουν αποδοθεί και άλλες ευεργετικές ιδιότητες, όπως αντικαρκινική και αντιμικροβιακή δράση.

Πρόσφατη έρευνα (34) προσπάθησε να συσχετίσει τα επίπεδα των πολυφαινολών στο πλάσμα μετά την κατανάλωση κόκκινου και λευκού κρασιού με τον πιθανό ανασταλτικό ρόλο που έχουν αυτές στο οξειδωτικό στρες. Το συμπέρασμα ήταν ότι η συγκέντρωση των πολυφαινολών στο πλάσμα αυξήθηκε μετά την πρόσληψη και των δύο ειδών κρασιού, όχι όμως στον ίδιο βαθμό (μεγαλύτερη αύξηση σε όσους κατανάλωσαν κόκκινο κρασί). Επιπλέον, διαπιστώθηκε αρνητική σχέση ανάμεσα στα επίπεδα των πολυφαινολών στο πλάσμα και στην απέκκριση του PGF-2a-III στα ούρα (δείκτης του οξειδωτικού στρες), γεγονός που υποδηλώνει ότι η παρουσία των πολυφαινολών σε ικανοποιητικές συγκεντρώσεις έχει σοβαρή αντιοξειδωτική δράση.

Το κόκκινο κρασί, φαίνεται ακόμα ότι συμβάλλει στην αύξηση των επιπέδων της HDL χοληστερόλης, προωθεί την αγγειοδιαστολή, παρεμποδίζει το πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων και την αγγειακή υπερπλασία. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα σχετικής έρευνας (40) η λειτουργία του ενδοθηλίου βελτιώνεται αισθητά λίγες ώρες μετά την κατανάλωση κόκκινου και λευκού κρασιού. Κατά καιρούς έχει γίνει προσπάθεια να αποδοθεί η ανασταλτική δράση του κρασιού στη δημιουργία αθηρωματικής πλάκας σε επιμέρους πολυφαινολικά

συστατικά. Σε μία από αυτές τις έρευνες (35) διαπιστώθηκε ότι η κατεχίνη, η κερκετίνη και η ρεσβερατρόλη συγκαταλέγονται μεταξύ των πολυφαινολικών συστατικών του κόκκινου κρασιού που δρουν προστατευτικά απέναντι στην ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης σε υπερχοληστερολαιμικά χάμστερ. Σε άλλη έρευνα (36) φάνηκε ότι η ρεσβερατρόλη παρεμποδίζει την ενδοθηλιακή απόπτωση που προκαλείται από την oxLDL.

Σύμφωνα με τους Roussou et al. (37) τα πολυφαινολικά συστατικά του κρασιού μειώνουν τα επίπεδα των πρωτεϊνών οξειδίας φάσης στα καρκινικά κύτταρα και τους πληθυσμούς καρκινικών και ενδοθηλιακών κυττάρων. Οι παρατηρήσεις αυτές υποδηλώνουν ότι η κατανάλωση κρασιού μπορεί να έχει αντικαρκινική δράση. Σε άλλη έρευνα (38) που έγινε σε πειραματόζωα βρέθηκε ότι η ρεσβερατρόλη λειτουργεί παρεμποδιστικά στην απόπτωση και στην αγγειογένεση του καρκίνου του πνεύμονα, διαπίστωση που σηματοδοτεί την πιθανή χημειοθεραπευτική της δράση. Στην έρευνα των Soleas et al. (39) έγινε σύγκριση των αντικαρκινικών ιδιοτήτων τεσσάρων πολυφαινολών του κόκκινου κρασιού. Η κερκετίνη ήταν η πιο δραστική, ενώ η λιγότερο δραστική ήταν το γαλλικό οξύ. Η (+)-κατεχίνη και η trans-ρεσβερατρόλη εμφάνισαν μέτρια αντικαρκινική δράση. Συνυπολογίζοντας το γεγονός ότι η trans-ρεσβερατρόλη απορροφάται σε μεγαλύτερο βαθμό από τον ανθρώπινο οργανισμό, συμπεραίνουμε ότι σε αυτή αποδίδεται και η πιο ισχυρή δράση.

Όσον αφορά την αντιμικροβιακή δράση του κρασιού, σε έρευνα (20) διαπιστώθηκε ότι εκχυλίσματα λευκού και κόκκινου κρασιού χωρίς αλκοόλ περιέχουν συστατικά που επιδρούν αρνητικά στην ανάπτυξη gram(+) και gram(-) βακτηρίων καθώς επίσης και μυκήτων. Πιο συγκεκριμένα, εντοπίστηκε ισχυρή βακτηριοκτόνος και βακτηριοστατική δράση απέναντι σε στελέχη του *S. Aureus* και λιγότερο ισχυρή σε στελέχη των *E. Coli* και *C. Albicans*.



### ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

#### 3.1 Περιγραφή δειγμάτων

Τα δύο δείγματα προέρχονται, το μεν ένα από τη διεθνή ποικιλία Chardonnay ( η διασημότερη ποικιλία αμπέλου παγκόσμια για την παραγωγή ποιοτικών οίνων ), το δε δεύτερο από τη γηγενή ποικιλία Ασύρτικο (που θεωρείται η ποιοτικότερη ελληνική ποικιλία). Και οι δύο οίνοι προέρχονται από σταφύλια αμπελώνων του Αγίου Όρους. Συγκεκριμένα προέρχονται από αμπελώνες της εταιρείας Ευάγγελος Τσάνταλης Α.Ε., που βρίσκονται στο Μετόχι της Χρωμίτσας (μέσα στο Άγιο Όρος), ιδιοκτησίας της Ιεράς Μονής του Αγίου Παντελεήμονα.

Η ανάγκη μηχανολογικού εξοπλισμού υψηλής τεχνολογίας για την δημιουργία λευκών κρασιών ποιότητας, καθιστά υποχρεωτική τη μεταφορά των σταφυλιών που προορίζονται για την παραγωγή λευκών και ροζέ κρασιών στο κεντρικό οινοποιείο της εταιρείας που βρίσκεται στον Άγιο Παύλο της όμορης Χαλκιδικής. Έτσι, διασφαλίζεται η γρήγορη παραλαβή των σταφυλιών (απόσταση 2-3 ωρών από το αμπέλι στην σταφυλοδόχο, τις δροσερές πρωινές ώρες), ενώ ταυτόχρονα παραμένει αναλλοίωτο ένα μοναδικής και οικολογικής ομορφιάς οικοσύστημα, που θα διαταρασσόταν με την ύπαρξη σύγχρονου οινοποιείου για την παραγωγή λευκών οίνων.

Η καλλιέργεια όλου του Αγιορείτικου Αμπελώνα γίνεται με βιολογικές μεθόδους. Η καλλιέργεια του συγκεκριμένου δείγματος του Ασύρτικου είναι βιολογική πιστοποιημένη από την ΔΗΩ.

Ο τρόπος οινοποίησης και των δύο δειγμάτων είναι ο ίδιος. Τα σταφύλια, αφού μεταφέρθηκαν στο οινοποιείο του Αγίου Παύλου, ακολούθησαν τα εξής στάδια γλευκοποίησης, οινοποίησης και ωρίμανσης. Τα σταφύλια από τα μικρά πλαστικά τελάρα μεταφέρθηκαν στην σταφυλοδόχο. Ακολούθησε αποβοστρύχωση και έκθλιψή τους. Ο σταφυλοπολτός θειώθηκε ελαφρά και παρέμεινε σε ελεγχόμενη χαμηλή θερμοκρασία για διάστημα λίγων ωρών, μέσα σε πνευματικά πιεστήρια χωρίς την εκροή του γλεύκους. Είχαμε έτσι μια προζυμωτική εκχύλιση αρωματικών συστατικών από τον φλοιό των σταφυλιών στο γλέυκος, ενώ η χαμηλή θερμοκρασία και η μικρή διάρκεια παραμονής απέτρεψαν την μεγάλη εκχύλιση φαινολικών ουσιών από τα στέμφυλα (φλοιούς και γίγαρτα) που θα προσέδιδαν στυφή γεύση. Κατόπιν παρελήφθη

μόνο το γλεύκος εκροής (πρόρωγος). Το γλεύκος των πιέσεων μεταφέρθηκε για οινοποιήσεις άλλων κρασιών, ενώ τα στέμφυλα για ζύμωση και απόσταξη προς παραγωγή του Αγιορείτικου Τσίπουρου. Ακολούθησε απολάσπωση, με την μέθοδο της επίπλευσης. Το καθαρό γλεύκος ξεκίνησε την αλκοολική ζύμωση ( με την προσθήκη καλλιέργειας ζύμης και θρεπτικών συστατικών για τους ζυμομύκητες ) μέσα σε ανοξείδωτες δεξαμενές ελεγχόμενης θερμοκρασίας ( 16° -18° C ).

Στις 7/10/2005 τα δύο νέα κρασιά μεταφέρθηκαν για ωρίμανση μαζί με τις οινολάσπες, σε καινούργια δρύινα βαρέλια. Το ξύλο κατασκευής των βαρελιών (όπως και ο τύπος παραγωγής τους) προέρχεται από την Γαλλία. Συγκεκριμένα από δρυ δασών της κεντρικής Γαλλίας – κύρια από την περιοχή Nevers - , που θεωρούνται τα πλέον κατάλληλα για παραγωγή δρύινων βαρελιών που χρησιμοποιούνται για την ζύμωση και παλαίωση λευκών κρασιών ποιότητας. Τα συγκεκριμένα βαρέλια είναι μικρού – μεσαίου πόρου και έχουν υποστεί ελαφρύ κάψιμο. Κατά την διάρκεια της παραμονής τους στο βαρέλι (οξειδωτική παλαίωση) γίνονται τακτικά, προσεκτικές αναδεύσεις του ιζήματος των οινολασπών ( maceration sur lies ) για εμπλουτισμό του οίνου με αρωματικά συστατικά και ενδυνάμωση της δομής και του "σώματος" του οίνου. Τα βαρέλια απογεμιζόταν τακτικά από τους ίδιους οίνους, που ωρίμαζαν σε ίδιας σύστασης βαρέλια.

Τα αναλυτικά χαρακτηριστικά των δύο δειγμάτων φαίνονται αντίστοιχα στον πίνακα χημικής ανάλυσης που ακολουθεί (Πίνακας 3.1).

**Πίνακας 3.1** Χημική ανάλυση οίνου

| Ονομασία οίνου                | Chardonnay | Ασύρτικο βιολογικής καλλιέργειας |
|-------------------------------|------------|----------------------------------|
| Αλκοολικός τίτλος στους 20 °C | 12,40      | 13,40                            |
| pH                            | 3,4        | 3,17                             |
| Ολική οξύτητα (g/L τρυγικό)   | 6,38       | 6,56                             |
| Πτητική οξύτητα (g/L οξικό)   | 0,74       | 0,42                             |
| Σίδηρος (mg/L)                | 0,34       | 0,53                             |
| Ανάγοντα σάκχαρα (g/L)        | 1,8        | 1,8                              |
| Ένταση                        | 0,077      | 0,063                            |
| Ελεύθερο θειώδες (mg/L)       | 38         | 38                               |
| Ολικό θειώδες (mg/L)          | 118        | 108                              |

### 3.2 Επεξεργασία δειγμάτων

Πριν τη διεξαγωγή όλων των πειραματικών δοκιμασιών τα δείγματα είχαν διέλθει μέσα από διηθητικά φίλτρα έτσι ώστε να απομακρυνθούν όλα τα στερεά υπολείμματα που μπορεί να επηρεάζαν δυσμενώς τα αποτελέσματα των μετρήσεων.

### 3.3 Προσδιορισμός του συνολικού πολυφαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

#### *ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ*

- Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu's Phenol reagent
- Κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 35%w/v)
- Απεσταγμένο νερό
- Διηθημένα δείγματα κρασιών Chardonnay και Ασύρτικο Βιολογικό
- Γαλλικό οξύ (gallic acid)
- Μεθανόλη αναλυτικής καθαρότητας

#### *ΟΡΓΑΝΑ*

- Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης Kontron
- Δοκιμαστικοί σωλήνες με βιδωτό πώμα χωρητικότητας 10mL
- Πιπέττα σταθερού όγκου Eppendorf των 1000μL
- Σιφώνιο των 10mL

#### *ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ*

1. Σε δοκιμαστικό σωλήνα με βιδωτό πώμα χωρητικότητας 10mL τοποθετούνται 100μL δείγματος κρασιού και προστίθεται 5mL απεσταγμένο νερό. Στη συνέχεια προστίθενται 500μL αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu . Ανακινούμε καλά και τοποθετούμε τους δοκιμαστικούς σωλήνες στο σκοτάδι για 3min.
2. Μετά την πάροδο των 3min, προστίθεται 1mL κορεσμένου διαλύματος ανθρακικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 35%w/v). Το μίγμα ανακινείται και ακολουθεί αραίωση με απεσταγμένο νερό μέχρι τελικού όγκου 10mL.
3. Το μίγμα ανακινείται ξανά και παραμένει στο σκοτάδι για 1 ώρα, έτσι ώστε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση.

4. Το προϊόν της αντίδρασης τοποθετείται σε κυψελίδες, αφού πρώτα αναδευτεί, και φωτομετράται σε μήκος κύματος 750nm ως προς λευκό δείγμα (ακολουθείται η ίδια διαδικασία με τη διαφορά ότι στη θέση του δείγματος χρησιμοποιούμε απεσταγμένο νερό).
5. Η συγκέντρωση των πολυφαινόλων στο δείγμα υπολογίστηκε με τη χρήση καμπύλης αναφοράς γαλλικού οξέος και εκφράστηκε σε  $\text{mg L}^{-1}$  ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE: Gallic Acid Equivalents).

### 3.4 Εκχύλιση στερεής φάσης (SPE)

#### *ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ*

- Στήλες εκχύλισης στερεάς φάσης (SPE): Isolute C8 (EC), 500mg, 3mL
- Οξικός αιθυλεστέρας
- Μεθανόλη αναλυτικής καθαρότητας
- Απιονισμένο νερό
- Διηθημένα δείγματα κρασιών

#### *ΟΡΓΑΝΑ*

- Συσκευή SPE
- Αναδευτήρας Vortex
- Φυγοκεντρικός εξατμιστής κενού (speed vacuum, LABCONCO), “speed vac”

#### *ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ*

Προετοιμασία της στήλης:

- Η στήλη C-8 τοποθετείται στη συσκευή SPE
- Γίνεται *καθαρισμός* και ενεργοποίηση της στήλης με τη χρήση οργανικών διαλυτών (3mL EtOAc και 3mL MeOH)
- Ακολουθεί εξισορρόπηση της στήλης με απιονισμένο νερό (5mL), αφού το δείγμα που τοποθετούμε στη συνέχεια στη στήλη είναι διαλυμένο σε νερό. Η στήλη είναι έτοιμη για χρήση όταν το νερό φθάσει οριακά στο προσροφητικό υλικό (δεν αφήνουμε τη στήλη να στεγνώσει).

Ανάλυση δείγματος:

1. Το δείγμα (1mL) τοποθετείται στη στήλη πάνω από σωλήνα συλλογής, αφού πρώτα γίνει αραίωση 1:1 με απεσταγμένο νερό.
2. Αφήνεται να διέλθει εξ ολοκλήρου από τη στήλη
3. Εφαρμόζεται στη συσκευή κενό μέσω αντλίας ξήρανσης ώστε να στεγνώσει εντελώς η στήλη και να απομακρυνθούν όλα τα μη προσροφημένα συστατικά.
4. Τοποθετείται νέος σωλήνας συλλογής και προστίθεται οξικός αιθυλεστέρας (3mL) προκειμένου να παραληφθούν τα πολυφαινολικά συστατικά.
5. Η διέλευση του οξικού αιθυλεστέρα από τη στήλη γίνεται αρχικά με την επίδραση της βαρύτητας και στη συνέχεια με χρήση κενού (αντλία ξήρανσης)
6. Ακολουθεί συμπύκνωση του διαλύτη σε speed vac. και αναδιάλυση σε μεθανόλη (0,5mL)

Σημείωση: Προκειμένου να ελεγχθεί η παρουσία εναπομεινάντων πολυφαινολικών συστατικών, προστίθεται στη στήλη, μετά τη συλλογή του οξικού αιθυλεστέρα, μεθανόλη (3mL) και ακολουθεί συλλογή σε ξεχωριστό δοκιμαστικό σωλήνα.

### **3.5 Ποιοτικός προσδιορισμός ταυτοποιημένων πολυφαινολών με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας (GC-MS)**

Για την ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε το σύστημα αέριου χρωματογράφου- φασματομέτρου μαζών (GC-MSD) της Agilent (Wallborn, Germany) HP 6890-MSD 5973. Το φασματοφωτόμετρο μαζών που χρησιμοποιήθηκε ως ανιχνευτής ήταν ηλεκτρονιακού ιονισμού στα 70eV. Επίσης για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν εισαγωγέας split-splitless και αυτόματος δειγματολήπτης HP 7683.

- Πριν την ανάλυση μεθανολικά εκχυλίσματα κρασιού (0,5mL) συμπυκνώνονται υπό ρεύμα αζώτου μέχρι ξηρού. Ακολουθεί παραγωγοποίηση των δειγμάτων με προσθήκη BSTFA 250μL και θέρμανση στους 70 °C για 20 λεπτά.
- Ποσότητα του παραπάνω διαλύματος ίση με 1μL εγχύεται στον αέριο χρωματογράφο σε λόγο σχάσης 1:20.
- Το δείγμα διαχωρίζεται με τη χρήση τριχοειδούς στήλης HP-5 MS (5% φαίνυλο- 95% μέθυλο σιλοξάνιο, 30m x 0,25mm x 250 μ).
- Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε ήλιο με ροή 0,6mL /min.

- Η θερμοκρασία του εισαγωγέα και της γραμμής μεταφοράς ρυθμίστηκε στους 280°C και 300°C αντίστοιχα.
- Το πρόγραμμα της θερμοκρασίας του φούρνου ρυθμίστηκε ως εξής: Αρχικά εφαρμόζεται θερμοκρασία 70°C για 5 λεπτά. Ακολουθεί αύξηση από τους 70°C στους 130°C με ρυθμό 15°C / λεπτό, από τους 130°C στους 160°C με ρυθμό 4°C / λεπτό οποία και διατηρείται για 15 λεπτά και τελικά ακολουθεί αύξηση από τους 170°C στους 300°C με ρυθμό 10°C / λεπτό, η οποία και διατηρείται για 15 λεπτά..
- Για το προσδιορισμό των 25 πολυφαινολικών συστατικών και των τερπενοϊδών που ελέγχονται χρησιμοποιείται η μέθοδος selective ion monitoring (SIM) GC / MS

Ο προσδιορισμός των πολυφαινολών βασίζεται στη παρουσία 2 ή 3 ιόντων για κάθε πολυφαινόλη σε χρόνο κατακράτησης  $\pm 0,05$  του χρόνου κατακράτησης του αντίστοιχου προτύπου. Το ιόν στο οποίο βασίστηκε ο ποσοτικός προσδιορισμός συμβολίζεται με T ενώ τα ιόντα που καταγράφονται για την επιβεβαίωση της παρουσίας κάθε πολυφαινόλης στο δείγμα συμβολίζονται με Q1 και Q2. Τα ιόντα που παρακολουθούνται (T, Q1, Q2) για καθεμία από τις 20 πολυφαινολικές ενώσεις είναι τα παρακάτω: βανιλίνη: 194, 209, κινναμωμικό οξύ: 205, 220, τυροσόλη: 179, 267, 282, p-υδροξυβενζοϊκό οξύ: 267, 223, 193, p-υδροξυφαινυλοξικό: 252, 296, 281, βανιλλικό οξύ: 297, 267, 312, πρωτοκατεχικό οξύ: 193, 355, 370, ομοβανιλλικό οξύ: 326, 267, 311, p-κουμαρικό οξύ: 308, 293, 147, γαλλικό οξύ: 281, 458, 443, φερουλικό οξύ: 338, 323, 308, συριγγικό οξύ: 327, 342, 312, καφεϊκό οξύ: 396, 219, 381, ρεσβερατρόλη: 444, 445, 443, επικατεχίνη: 368, 355, 474, κατεχίνη: 368, 355, 474, καμπφερόλη: 599, 560, χλωρογενικό οξύ: 345, 307, 324, κερκετίνη: 647, 559, 575. Η 3-(4- υδροξυφαινυλ)-1- προπανόλη χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικό πρότυπο στο κύριο ιόν m/ z 206 και βοηθητικά ιόντα τα m/ z 191 και 179. Επίσης πραγματοποιήθηκε ο εντοπισμός και ο προσδιορισμός ενός τερπενοειδούς, του ολεανολικού οξέος: 203, 320, 482.

### 3.6 Προσδιορισμός ολικών φλαβονολών με τη μέθοδο της p-διμεθυλαμινοκινναμαλδεΰδης (μέθοδος DMACA)

#### *ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ*

- Αντιδραστήριο DMACA (0,2% σε MeOH)
- Μεθανόλη αναλυτικής καθαρότητας
- Διηθημένα δείγματα κρασιών Chardonnay και Ασύρτικο Βιολογικό
- HCl (0,24N σε MeOH)
- Διάλυμα κατεχίνης σε MeOH

#### *ΟΡΓΑΝΑ*

- Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης Kontron
- Πλαστικά κωνικά φιαλίδια (Eppendorfs)
- Πιπέττα σταθερού όγκου Eppendorf των 1000μL
- Αναδευτήρας Vortex

#### *ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ*

1.
  - Σε πλαστικά κωνικά φιαλίδια (Eppendorfs) τοποθετούνται 200μL δείγματος κρασιού Chardonnay.
  - Σε πλαστικά κωνικά φιαλίδια (Eppendorfs) τοποθετούνται 200μL δείγματος κρασιού Ασύρτικο Βιολογικό το οποίο έχει υποστεί αραίωση 1:10 με μεθανόλη (100μL δείγμα + 900μL MeOH). Η αραίωση αυτή γίνεται ώστε να βρισκόμαστε εντός των ορίων γραμμικότητας της καμπύλης απορρόφησης και για το συγκεκριμένο δείγμα.
2. Στη συνέχεια προστίθενται 500μL HCl (0,24N σε MeOH) και 500μL διαλύματος DMACA (0,2% σε MeOH) σε κάθε φιαλίδιο.
3. Το μείγμα αναδεύτηκε καλά σε αναδευτήρα Vortex και αφέθηκε να αντιδράσει σε θερμοκρασία δωματίου για 10min.
4. Ακολούθησε μέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων στα 640nm ως προς λευκό δείγμα (ακολουθείται η ίδια διαδικασία με τη διαφορά ότι στη θέση του δείγματος χρησιμοποιούμε μεθανόλη).
5. Η συγκέντρωση των ολικών φλαβονολών εκτιμήθηκε με βάση πρότυπη καμπύλη αναφοράς κατεχίνης. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg L<sup>-1</sup> ισοδύναμα κατεχίνης (CTE: Catechin Equivalents).

### 3.7 Δοκιμές αντιοξειδωτικής δράσης

Η αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων εκτιμήθηκε με τρεις διαφορετικές μεθόδους. Η πρώτη βασίστηκε στη δέσμευση της 1,1- διφαινυλο-2-πικρύλοϋδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH\*), η δεύτερη ( $P_R$ ) στην αναγωγική/ αντιοξειδωτική δύναμη του σιδήρου (ferric reducing/ antioxidant power: FRAP) και η τρίτη στην ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών υδροξυλίου ( $SA_{HFR}$ : Hydroxyl Free Radical Scavenging Activity). Ακολουθεί αναλυτική περιγραφή των πειραματικών διαδικασιών που πραγματοποιήθηκαν.

#### 3.7.1 Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1- διφαινυλο-2-πικρύλοϋδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH\*)

##### *ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ*

- Μεθανόλη αναλυτικής καθαρότητας
- Διηθημένα δείγματα κρασιών Chardonnay και Ασύρτικο Βιολογικό
- Διάλυμα DPPH 1mM. Από το διάλυμα αυτό λαμβάνονται 3mL και προστίθεται μεθανόλη μέχρι τελικού όγκου 50mL (DPPH: 0,06mM)

##### *ΟΡΓΑΝΑ*

- Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης Kontron
- Πλαστικά κωνικά φιαλίδια (Eppendorfs)
- Πιπέττα σταθερού όγκου Eppendorf των 100μL και 1000μL
- Αναδευτήρας Vortex

##### *ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ*

1. Σε πλαστικά κωνικά φιαλίδια (Eppendorfs) εκτελούνται αραιώσεις 1:10 των δειγμάτων κρασιού με μεθανόλη (10μL κρασί + 90μL μεθανόλη).
2. Από κάθε πλαστικό κωνικό φιαλίδιο (Eppendorf) παραλαμβάνονται 25μL και τοποθετούνται σε νέο φιαλίδιο. Ακολουθεί προσθήκη 975μL διαλύματος της ελεύθερης ρίζας DPPH\* σε κάθε ένα από τα νέα φιαλίδια και ανάδευση με Vortex .
3. Τα δείγματα παραμένουν στο σκοτάδι για 30min, ώστε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση.



4. Μετά το πέρας των 30min τα δείγματα αναδεύονται και τοποθετούνται σε κυψελίδες. Ακολούθως φωτομετρούνται σε μήκος κύματος 515nm. Παράλληλα γίνεται φωτομέτρηση του διαλύματος της ελεύθερης ρίζας DPPH\* που χρησιμοποιείται ως αντιδραστήριο των πειραμάτων, έτσι ώστε να υπολογιστεί η % μείωση της ελεύθερης ρίζας.
5. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mM ισοδύναμα Trolox (TRE: Trolox Equivalents) με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης αναφοράς Trolox (ανάλογο βιταμίνης E)- DPPH\*.

### **3.7.2 Μέτρηση της αναγωγικής δύναμης (P<sub>R</sub>: Reducing Power) με βάση την αναγωγική/ αντιοξειδωτική δύναμη του σιδήρου (ferric reducing/ antioxidant power: FRAP)**

#### *ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ*

- Διάλυμα FeCl<sub>3</sub> (3mM σε 5mM κιτρικού οξέος)
- Απεσταγμένο νερό
- Διηθημένα δείγματα κρασιών Chardonnay και Ασύρτικο Βιολογικό
- Διάλυμα TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) σε 0,05M HCl
- Ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C)

#### *ΟΡΓΑΝΑ*

- Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης Kontron
- Πλαστικά κωνικά φιαλίδια (Eppendorfs)
- Πιπέττα σταθερού όγκου Eppendorf των 1000μL και 100μL
- Αναδευτήρας Vortex
- Υδατόλουτρο 37 °C

#### *ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ*

1. Πραγματοποιείται αραιώση 1:10 σε όλα τα δείγματα (10μL δείγμα + 90μL απεσταγμένο νερό) έτσι ώστε να βρισκόμαστε εντός των ορίων γραμμικότητας της καμπύλης απορρόφησης.
2. Τοποθετούνται 50μL αραιωμένου δείγματος σε πλαστικό κωνικό φιαλίδιο Eppendorf και προστίθενται 50μL FeCl<sub>3</sub> (3mM σε 5mM κιτρικού οξέος).

Ακολουθεί καλή ανάδευση σε Vortex και παραμονή των μειγμάτων σε υδατόλουτρο 37 °C για 30min.

3. Μετά την πάροδο των 30min, προστέθηκαν σε κάθε μείγμα 900μL TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) σε 0,05M HCl και το όλο αναδεύτηκε σε Vortex.
4. Ακολούθησε μέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων στα 620nm, ακριβώς μετά από 10min, ως προς λευκό δείγμα. Παρασκευάστηκε ένα τυφλό για κάθε δείγμα με την προσθήκη απεσταγμένου νερού στη θέση του χλωριούχου σιδήρου/ κιτρικού οξέος.
5. Η μείωση της αναγωγικής δύναμης ( $P_R$ ) υπολογίστηκε με τη χρήση πρότυπης καμπύλης ασκορβικού οξέος και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mM ισοδύναμα ασκορβικού οξέος (AAE: Ascorbic Acid Equivalents).

### **3.7.3 Προσδιορισμός της ικανότητας δέσμευσης ελευθέρων ριζών υδροξυλίου ( $SA_{HFR}$ : Hydroxyl Free Radical Scavenging Activity).**

#### *ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ*

- Διάλυμα βορικού 0,05M που περιείχε Co(II) (2mg/mL) και EDTA (10mg/mL) (pH 9)
- Διάλυμα λουμινόλης (0,56mM σε βορικό)
- Διάλυμα  $H_2O_2$  (50mM)
- Διάλυμα βορικού 0,05M (borate buffer)
- Διηθημένα δείγματα κρασιών Chardonnay και Ασύρτικο Βιολογικό

#### *ΟΡΓΑΝΑ*

- Λουμινόμετρο Junior LB 9509- Betthold Technologies
- Πλαστικά φιαλίδια λουμινόμετρου
- Πιπέττα σταθερού όγκου Eppendorf των 1000μL και 100μL
- Αναδευτήρας Vortex

#### *ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ*

1. Πραγματοποιείται αραιώση 1:10 σε όλα τα δείγματα του Chardonnay και του Ασύρτικου Βιολογικού με βορικό αμέσως πριν την μέτρηση.
2. Τοποθετούνται 0,1mL διαλύματος βορικού 0,05M που περιείχε Co(II) (2 mg/mL) και EDTA (10 mg/mL) σε πλαστικό σωλήνα και στη συνέχεια

προστίθενται 0,1mL λουμινόλης (0,56mM σε βορικό), 0,9mL διαλύματος βορικού 0,05M και 0,25mL αραιωμένου δείγματος. Ακολουθεί προσθήκη 0,05mL διαλύματος  $\text{H}_2\text{O}_2$  (50mM) και ισχυρή ανάδευση σε Vortex για 5 sec ακριβώς.

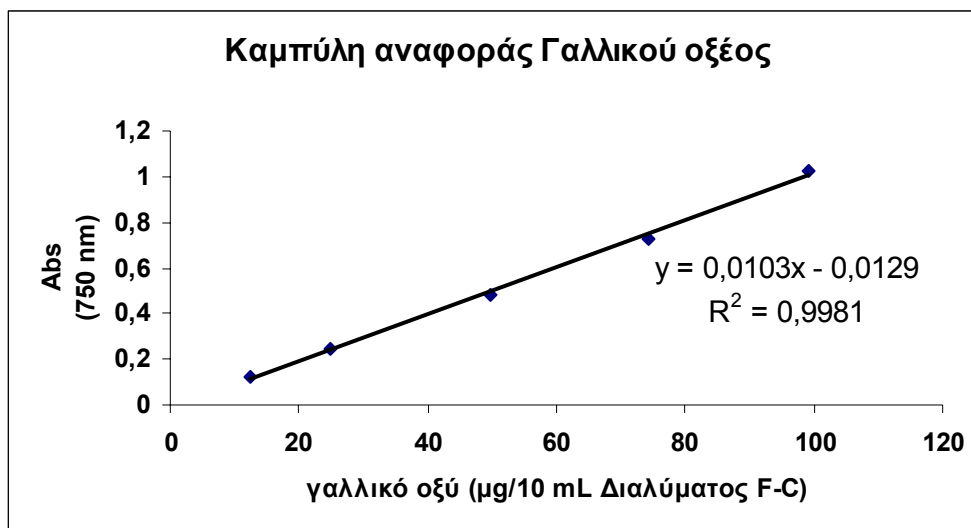
3. Αμέσως μετά πραγματοποιείται μέτρηση της χημειοφωταύγειας στο λουμινόμετρο. Το αποτέλεσμα αναγράφεται στην οθόνη του οργάνου μετά την πάροδο ακριβώς 5min.
4. Για τη μέτρηση της χημειοφωταύγειας σε τυφλό δείγμα ακολουθείται η ίδια διαδικασία με τη διαφορά ότι αντί για δείγμα προστίθενται 0,25mL διαλύματος βορικού 0,05M.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 4.1 Συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο

Ο προσδιορισμός του συνολικού πολυφαινολικού περιεχομένου πραγματοποιήθηκε με τη χρωματομετρική, οξειδοαναγωγική αντίδραση Folin-Ciocalteu. Το Folin-Ciocalteu είναι μίγμα μολυβδαινικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4$ ), βολφραμικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{WO}_4$ ) και φωσφορικού οξέος ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) και προκαλεί οξείδωση των φαινολικών ιόντων με ταυτόχρονη αναγωγή των ετεροπολυμερών οξέων. Το προϊόν της αντίδρασης του Folin-Ciocalteu με τα φαινολικά συστατικά είναι ένα σύμπλεγμα μολυβδαινίου- βολφραμίου χαρακτηριστικής μπλε χρώσης που απορροφά στο ορατό (725nm). Να σημειωθεί ότι δε γίνεται διαχωρισμός μεταξύ μονομερών, διμερών και ανώτερων φαινολικών συστατικών.

Στους Πίνακες 4.1 και 4.2 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα εκφρασμένα σε  $\text{mg L}^{-1}$  ισοδύναμα γαλλικού οξέος (gallic acid equivalents, GAE), καθώς επίσης και η πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος από την οποία και προέκυψαν (Σχήμα 4.1).



Σχήμα 4.1 Πρότυπη καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος

Ακολουθεί ενδεικτική παρουσίαση των υπολογισμών με βάση το δείγμα του Ασύρτικου Βιολογικού τον 1<sup>ο</sup> μήνα:

$$y = 0,0103x - 0,0129, \text{ όπου } y: \text{Abs και } x: \mu\text{g γαλλικού} \rightarrow x = \frac{y + 0,0129}{0,0103} \rightarrow$$

$$x = \frac{0,407 + 0,0129}{0,0103} \rightarrow x = 40,76 \text{ } \mu\text{g γαλλικού οξέος} / 0,1\text{mL κρασιού}$$

**Πίνακας 4.1** Αποτελέσματα του προσδιορισμού των συνολικών πολυφαινόλων στο Ασύρτικο Βιολογικό με τη μέθοδο Folin- Ciocaltaeu.

| Χρόνος (ημέρες) | 1 <sup>η</sup> μέτρηση (Abs) | 2 <sup>η</sup> μέτρηση (Abs) | Μέσος όρος (Abs) | μg γαλλικού οξέος | mgL <sup>-1</sup> GAE |
|-----------------|------------------------------|------------------------------|------------------|-------------------|-----------------------|
| 0               | 0,413                        | 0,4                          | 0,407            | 40,76             | 408                   |
| 33              | 0,425                        | 0,42                         | 0,423            | 42,32             | 423                   |
| 54              | 0,515                        | 0,457                        | 0,486            | 48,44             | 484                   |
| 84              | 0,569                        | 0,482                        | 0,526            | 52,32             | 523                   |
| 98              | 0,491                        | 0,473                        | 0,482            | 48,05             | 481                   |
| 130             | 0,469                        | 0,464                        | 0,467            | 46,59             | 466                   |
| 160             | 0,473                        | 0,463                        | 0,468            | 46,69             | 467                   |
| 197             | 0,462                        | 0,469                        | 0,466            | 46,50             | 465                   |

**Πίνακας 4.2** Αποτελέσματα του προσδιορισμού των συνολικών πολυφαινόλων στο Chardonnay με τη μέθοδο Folin- Ciocaltaeu.

| Χρόνος (ημέρες) | 1 <sup>η</sup> μέτρηση (Abs) | 2 <sup>η</sup> μέτρηση (Abs) | Μέσος όρος (Abs) | μg γαλλικού οξέος | mgL <sup>-1</sup> GAE |
|-----------------|------------------------------|------------------------------|------------------|-------------------|-----------------------|
| 0               | 0,224                        | 0,174                        | 0,199            | 20,57             | 206                   |
| 33              | 0,234                        | 0,229                        | 0,232            | 23,73             | 237                   |
| 54              | 0,274                        | 0,255                        | 0,265            | 26,98             | 270                   |
| 84              | 0,332                        | 0,256                        | 0,294            | 29,80             | 298                   |
| 98              | 0,289                        | 0,271                        | 0,280            | 28,44             | 284                   |
| 130             | 0,291                        | 0,285                        | 0,288            | 29,21             | 292                   |
| 160             | 0,289                        | 0,284                        | 0,287            | 29,12             | 291                   |
| 197             | 0,246                        | 0,254                        | 0,250            | 25,52             | 255                   |

#### 4.2 Ανάλυση των δειγμάτων κρασιού με GC-MS χρωματογραφία- Επιμέρους πολυφαινόλες

Οι ενώσεις οι οποίες ταυτοποιήθηκαν με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας και τη βοήθεια του φασματομέτρου μάζας (GC-MS), καθώς και ο ποσοτικός τους προσδιορισμός παρουσιάζονται στους Πίνακες 4.3 και 4.4 για την ποικιλία Ασύρτικο Βιολογικό και την ποικιλία Chardonnay αντίστοιχα. Προκειμένου τα δείγματα να αναλυθούν με χρωματογραφία GC-MS προηγήθηκε ένα στάδιο εκχύλισης στερεάς φάσης, έτσι ώστε να απομακρυνθούν τυχόν παρεμποδίζουσες ουσίες που θα αλλοίωναν

τα αποτελέσματα (βλέπε §3.7). Ακολούθως, τα πολυφαινολικά εκχυλίσματα συμπυκνώθηκαν και αναλύθηκαν με GC-MS μετά από κατάλληλη παραγωγή

**Πίνακας 4.3** Συγκεντρώσεις επιμέρους πολυφαινολικών συστατικών στο Ασύρτικο Βιολογικό (mg/L)

| <i>Χρόνος<br/>(ημέρες)</i><br><i>Συστατικά</i> | 0           | 33          | 54          | 84          | 98          | 130         | 160         | 197         |
|------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Βανιλίνη</b>                                | 0,12        | 0,13        | 0,14        | 0,15        | 0,14        | 0,14        | 0,15        | 0,12        |
| <b>Κινναμωμικό οξύ</b>                         | 0,13        | 0,18        | M.A.        | M.A.        | M.A.        | M.A.        | M.A.        | 0,22        |
| <b>Τυροσόλη</b>                                | 16,56       | 20,35       | 17,25       | 25,68       | 34,45       | 19,08       | 25,77       | 34,52       |
| <b>p-Υδροξυβενζοϊκό οξύ</b>                    | 0,13        | 0,13        | 0,13        | 0,14        | 0,15        | 0,13        | 0,15        | 0,20        |
| <b>p-Υδροξυφαινυλοξικό οξύ</b>                 | 0,15        | 0,16        | 0,15        | 0,17        | 1,80        | 0,15        | 0,17        | 0,19        |
| <b>Φλωρετικό οξύ</b>                           | 0,13        | 0,13        | 0,13        | 0,13        | 0,14        | 0,13        | 0,13        | 0,14        |
| <b>Βανιλλικό οξύ</b>                           | 0,17        | 0,20        | 0,19        | 0,22        | 0,25        | 0,20        | 0,24        | 0,25        |
| <b>Πρωτοκατεχικό οξύ</b>                       | 0,31        | 0,37        | 0,35        | 0,44        | 0,45        | 0,34        | 0,36        | 0,34        |
| <b>Συριγγικό οξύ</b>                           | 0,15        | 0,17        | 0,17        | 0,21        | 0,25        | 0,19        | 0,24        | 0,27        |
| <b>p-Κουμαρικό οξύ</b>                         | 0,65        | 0,88        | 0,88        | 1,16        | 1,30        | 0,95        | 1,22        | 2,19        |
| <b>Γαλλικό οξύ</b>                             | 0,56        | 0,82        | 0,64        | 1,19        | 1,43        | 0,73        | 1,25        | 0,84        |
| <b>Φερουλικό οξύ</b>                           | 0,70        | 0,78        | 0,71        | 0,97        | 1,21        | 0,72        | 0,97        | 1,88        |
| <b>Καφεϊκό οξύ</b>                             | 1,71        | 2,42        | 1,81        | 3,32        | 3,97        | 2,15        | 3,26        | 7,30        |
| <b>Σιναπικό οξύ</b>                            | 0,53        | 0,54        | 0,27        | 0,54        | 0,57        | 0,53        | 0,54        | 0,57        |
| <b>Ρεσβερατρόλη</b>                            | 0,11        | 0,17        | 0,16        | 0,20        | 0,21        | 0,17        | 0,19        | 0,17        |
| <b>Επικατεχίνη</b>                             | 0,63        | 1,08        | 0,74        | 1,69        | 1,41        | 1,05        | 1,50        | 1,04        |
| <b>Κατεχίνη</b>                                | 2,45        | 4,55        | 3,05        | 7,34        | 6,05        | 3,85        | 7,03        | 4,76        |
| <b>Καμπφερόλη</b>                              | 0,13        | 0,12        | 0,12        | 0,12        | 0,12        | 0,12        | 0,16        | M.A..       |
| <b>Κερκετίνη</b>                               | 0,68        | 0,70        | 0,58        | 1,15        | 1,37        | 0,84        | 2,17        | 0,30        |
| <b>Ολεανολικό οξύ</b>                          | 0,19        | 0,31        | 0,09        | 0,33        | 0,04        | 0,03        | M.A.        | 0,14        |
| <b>ΣΥΝΟΛΟ</b>                                  | <b>26,2</b> | <b>34,2</b> | <b>27,5</b> | <b>45,1</b> | <b>55,3</b> | <b>31,5</b> | <b>45,5</b> | <b>55,4</b> |

\*M.A.: Μη Ανιχνευθέν

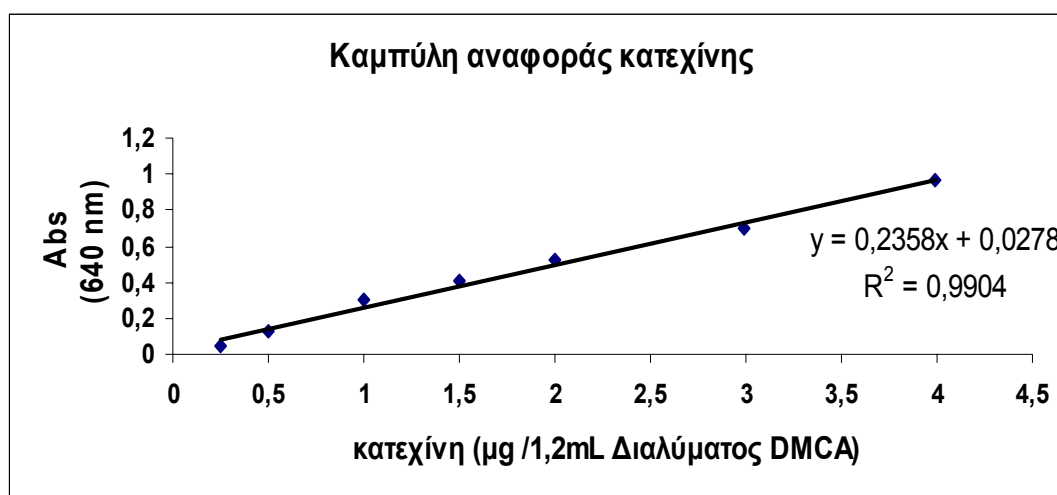
**Πίνακας 4.4** Συγκεντρώσεις επιμέρους πολυφαινολικών συστατικών στο Chardonnay (mg/L)

| <i>Χρόνος<br/>(ημέρες)</i><br><i>Συστατικά</i> | 0           | 33         | 54          | 84          | 98          | 130         | 160         | 197         |
|------------------------------------------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Βανιλίνη</b>                                | 0,12        | 0,13       | 0,16        | 0,14        | 0,17        | 0,16        | 0,18        | 0,17        |
| <b>Κινναμωμικό οξύ</b>                         | M.A.        | M.A.       | M.A.        | M.A.        | M.A.        | M.A.        | M.A.        | 0,14        |
| <b>Τυροσόλη</b>                                | 5,57        | 4,73       | 6,72        | 7,78        | 8,10        | 7,22        | 8,95        | 8,46        |
| <b>p-Υδροξυβενζοϊκό οξύ</b>                    | 0,15        | 0,13       | 0,15        | 0,17        | 0,17        | 0,17        | 0,19        | 0,19        |
| <b>p-Υδροξυφαινυλοξικό οξύ</b>                 | 0,13        | 0,13       | 0,14        | 0,14        | 0,14        | 0,14        | 0,14        | 0,14        |
| <b>Φλωρετικό οξύ</b>                           | 0,13        | 0,13       | 0,13        | 0,13        | 0,14        | 0,14        | 0,14        | 0,14        |
| <b>Βανιλλικό οξύ</b>                           | 0,18        | 0,16       | 0,19        | 0,21        | 0,22        | 0,23        | 0,26        | 0,24        |
| <b>Πρωτοκατεχικό οξύ</b>                       | 0,42        | 0,29       | 0,34        | 0,40        | 0,48        | 0,46        | 0,46        | 0,41        |
| <b>Συριγγικό οξύ</b>                           | 0,19        | 0,17       | 0,22        | 0,27        | 0,29        | 0,29        | 0,35        | 0,34        |
| <b>p-Κουμαρικό οξύ</b>                         | 0,61        | 0,56       | 0,71        | 0,91        | 0,95        | 0,94        | 1,18        | 1,36        |
| <b>Γαλλικό οξύ</b>                             | 0,49        | 0,36       | 0,51        | 0,92        | 0,97        | 1,15        | 1,14        | 0,54        |
| <b>Φερουλικό οξύ</b>                           | 0,37        | 0,30       | 0,43        | 0,46        | 0,45        | 0,43        | 0,51        | 0,72        |
| <b>Καφεϊκό οξύ</b>                             | 2,47        | 1,33       | 2,32        | 2,99        | 3,06        | 2,85        | 3,61        | 3,69        |
| <b>Σιναπικό οξύ</b>                            | 0,53        | 0,51       | 0,52        | 0,57        | 0,54        | 0,55        | 0,54        | 0,53        |
| <b>Ρεσβερατρόλη</b>                            | 0,10        | 0,11       | 0,15        | 0,21        | 0,21        | 0,19        | 0,23        | 0,17        |
| <b>Επικατεχίνη</b>                             | 0,70        | 0,24       | 0,33        | 1,59        | 1,36        | 1,22        | 1,77        | 0,69        |
| <b>Κατεχίνη</b>                                | 1,18        | 0,38       | 0,67        | 3,14        | 2,87        | 2,28        | 3,54        | 0,15        |
| <b>Καμπφερόλη</b>                              | 0,11        | 0,11       | 0,11        | 0,12        | 0,11        | 0,11        | 0,11        | M.A.        |
| <b>Κερκετίνη</b>                               | 0,36        | 0,32       | 0,33        | 0,47        | 0,41        | 0,38        | 0,50        | M.A.        |
| <b>Ολεανολικό οξύ</b>                          | 0,06        | 0,12       | 0,07        | 0,99        | 0,05        | 0,03        | 0,12        | 0,08        |
| <b>ΣΥΝΟΛΟ</b>                                  | <b>13,4</b> | <b>9,9</b> | <b>13,7</b> | <b>20,7</b> | <b>19,7</b> | <b>17,8</b> | <b>22,8</b> | <b>17,6</b> |

\*M.A.: Μη Ανιχνευθέν

### 4.3 Προσδιορισμός ολικών φλαβονολών

Ο προσδιορισμός του συνολικού φλαβανολικού περιεχομένου πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της p-διμεθυλαμινοκιναμαλδεϋδης (DMCA). Η μέθοδος αυτή θεωρείται ότι υπερέχει έναντι της ευρέως χρησιμοποιούμενης μεθόδου της βανιλίνης αφού δεν επηρεάζεται από τις ανθοκυανίνες. Επιπλέον, παρουσιάζει υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα. Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τα οποία εκφράστηκαν σε ισοδύναμα κατεχίνης (Πίνακες 4.5 και 4.6) καθώς επίσης και η πρότυπη καμπύλη κατεχίνης από την οποία και προέκυψαν (Σχήμα 4.2).



Σχήμα 4.2 Πρότυπη καμπύλη αναφοράς κατεχίνης

Ακολουθεί ενδεικτική παρουσίαση των υπολογισμών με βάση το δείγμα του Ασύρτικου Βιολογικού τον 1<sup>ο</sup> μήνα:

$$y = 0,2358x + 0,0278, \text{ όπου } y: \text{Abs και } x: \mu\text{g κατεχίνης} \rightarrow x = \frac{y - 0,0278}{0,2358} \rightarrow$$

$$x = \frac{0,345 - 0,0278}{0,2358} \rightarrow \boxed{x = 1,23 \mu\text{g κατεχίνης} / 200 \mu\text{L κρασιού}}$$

**Παρατήρηση:** Στο Ασύρτικο Βιολογικό έγινε αραίωση 1:10, γι' αυτό πολλαπλασιάζουμε το αποτέλεσμα με το συντελεστή της αραίωσης  $F_D=10$ .



**Πίνακας 4.5** Αποτελέσματα του προσδιορισμού των συνολικών φλαβανολών στο Ασύρτικο Βιολογικό με τη μέθοδο DMCA.

| Χρόνος<br>(ημέρες) | 1 <sup>η</sup><br>μέτρηση<br>(Abs) | 2 <sup>η</sup><br>μέτρηση<br>(Abs) | Μέσος<br>όρος<br>(Abs) | μg<br>κατεχίνης | mg<br>κατεχίνης/L<br>κρασιού |
|--------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------|-----------------|------------------------------|
| 0                  | 0,332                              | 0,358                              | 0,345                  | 1,23            | 61,4                         |
| 33                 | 0,376                              | 0,394                              | 0,385                  | 1,39            | 69,6                         |
| 54                 | 0,355                              | 0,367                              | 0,361                  | 1,35            | 67,4                         |
| 84                 | 0,338                              | 0,333                              | 0,334                  | 1,30            | 64,9                         |
| 98                 | 0,332                              | 0,356                              | 0,344                  | 1,34            | 67,0                         |
| 130                | 0,365                              | 0,355                              | 0,36                   | 1,41            | 70,4                         |
| 160                | 0,398                              | 0,410                              | 0,404                  | 1,60            | 79,8                         |
| 197                | 0,344                              | 0,364                              | 0,354                  | 1,38            | 69,2                         |

**Πίνακας 4.6** Αποτελέσματα του προσδιορισμού των συνολικών φλαβανολών στο Chardonnay με τη μέθοδο DMCA.

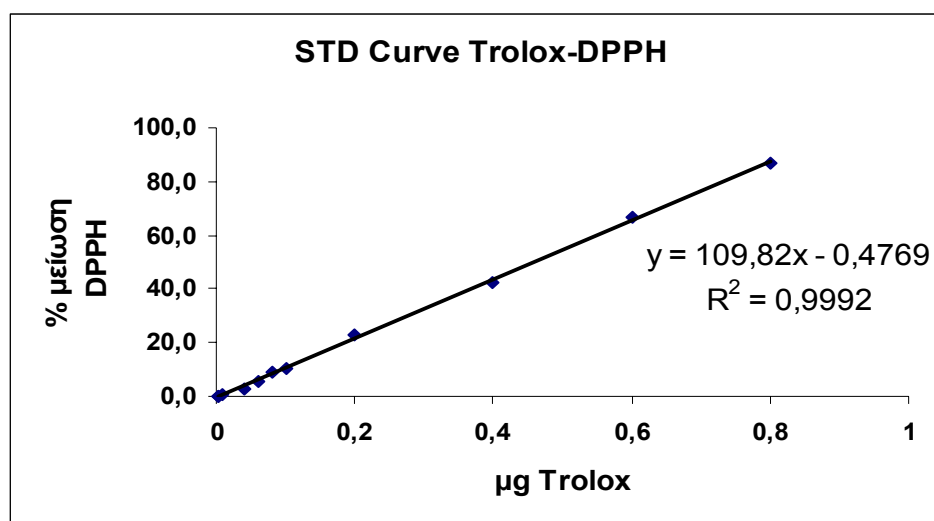
| Χρόνος<br>(ημέρες) | 1η<br>μέτρηση<br>(Abs) | 2η<br>μέτρηση<br>(Abs) | Μέσος<br>όρος<br>(Abs) | μg<br>κατεχίνης | mg<br>κατεχίνης/L<br>κρασιού |
|--------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------|------------------------------|
| 0                  | 0,383                  | 0,391                  | 0,387                  | 1,41            | 7,0                          |
| 33                 | 0,473                  | 0,505                  | 0,489                  | 1,79            | 8,9                          |
| 54                 | 0,527                  | 0,543                  | 0,535                  | 2,06            | 10,3                         |
| 84                 | 0,534                  | 0,540                  | 0,537                  | 2,16            | 10,8                         |
| 98                 | 0,539                  | 0,541                  | 0,54                   | 2,17            | 10,9                         |
| 130                | 0,518                  | 0,542                  | 0,53                   | 2,13            | 10,6                         |
| 160                | 0,543                  | 0,563                  | 0,553                  | 2,23            | 11,1                         |
| 197                | 0,508                  | 0,514                  | 0,511                  | 2,05            | 10,2                         |

#### 4.4 Αντιοξειδωτική ικανότητα

Η αντιοξειδωτική ικανότητα- δράση (antiradical activity) προσδιορίστηκε με τη χρήση της ελεύθερης ρίζας DPPH\* (1,1- διφαινυλο-2-πικρύλυδράζυλο ελεύθερης ρίζας). Η δέσμευση της ελεύθερης ρίζας οδηγεί σε μείωση της απορρόφησης λόγω του αποχρωματισμού του διαλύματος που παρατηρείται (από ιώδες σε ανοιχτό κίτρινο). Υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα συνεπάγεται αυξημένη δέσμευση της ελεύθερης ρίζας DPPH\*, παραγωγή ανοιχτόχρωμου προϊόντος και κατ' επέκταση μειωμένη τιμή απορρόφησης.

Τα αποτελέσματα φαίνονται στους Πίνακες 4.7 και 4.8 εκφράστηκαν με τη βοήθεια της ακόλουθης πρότυπης καμπύλης αναφοράς Trolox (ανάλογο βιταμίνης E)- DPPH\* (Σχήμα 4.3) σε ισοδύναμο Trolox. Με άλλα λόγια η ποσότητα κρασιού που

απαιτήθηκε για τη δέσμευση της ελεύθερης ρίζας ανάχθηκε σε ισοδύναμα Trolox που επέδειξαν την ίδια ικανότητα δέσμευσης. Η αντιοξειδωτική ικανότητα είναι τόσο καλύτερη όσο μεγαλύτερο είναι το ισοδύναμο Trolox στο οποίο αντιστοιχεί.



**Σχήμα 4.3** Πρότυπη καμπύλη αναφοράς Trolox- DPPH\*

Ακολουθεί ενδεικτική παρουσίαση των υπολογισμών με βάση το δείγμα του Ασύρτικου Βιολογικού τον 1<sup>ο</sup> μήνα:

$$y = (109,82x - 0,4769) \cdot F_D, \text{ όπου } y: \% \text{ μείωση DPPH}^*, \text{ } x: \mu\text{g Trolox} \text{ και } F_D: \text{ συντελεστής αραίωσης} \rightarrow x = \frac{y + 0,4769}{109,82} \cdot 10 \rightarrow \boxed{x = 1,23 \text{mM TRE}}$$

**Πίνακας 4.7** Αποτελέσματα του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας στο Ασύρτικο Βιολογικό με τη μέθοδο δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH\*.

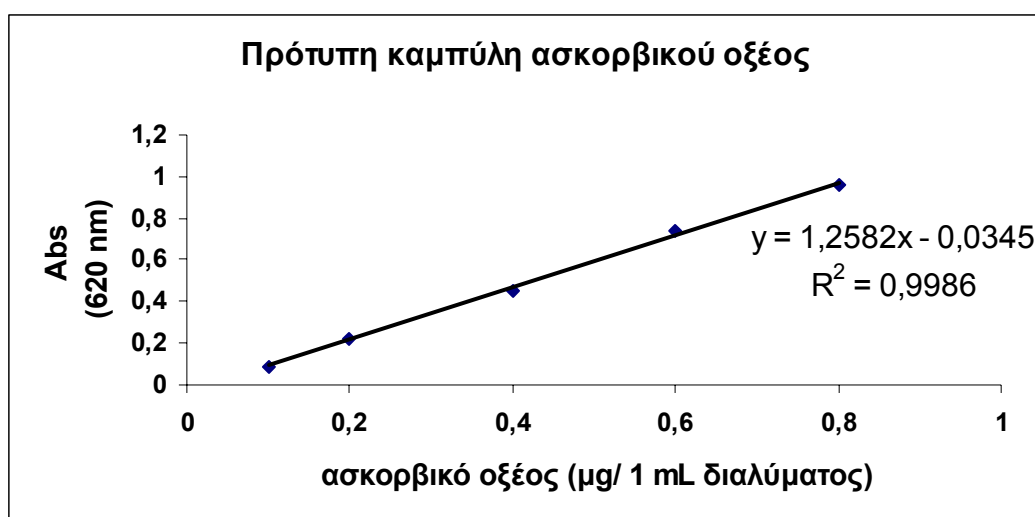
| Χρόνος (ημέρες) | % μείωση DPPH (1 <sup>η</sup> μέτρηση) | % μείωση DPPH (2 <sup>η</sup> μέτρηση) | Μέσος όρος | A <sub>AR</sub> (mM TRE) |
|-----------------|----------------------------------------|----------------------------------------|------------|--------------------------|
| 0               | 13,4                                   | 12,7                                   | 13,1       | 1,23                     |
| 33              | 16,4                                   | 13,5                                   | 15,0       | 1,40                     |
| 54              | 18,1                                   | 13,3                                   | 15,7       | 1,47                     |
| 84              | 11,2                                   | 8,3                                    | 9,8        | 0,93                     |
| 98              | 39,6                                   | 21,5                                   | 30,6       | 2,83                     |
| 130             | 33,8                                   | 21,2                                   | 27,5       | 2,55                     |
| 160             | 24,6                                   | 18,9                                   | 21,8       | 2,02                     |
| 197             | 18,4                                   | 20,4                                   | 19,4       | 1,81                     |

**Πίνακας 4.8** Αποτελέσματα του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας στο Chardonnay με τη μέθοδο δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH\*.

| Χρόνος<br>(ημέρες) | % μείωση<br>DPPH (1 <sup>η</sup><br>μέτρηση) | % μείωση<br>DPPH (2 <sup>η</sup><br>μέτρηση) | Μέσος<br>όρος | A <sub>AR</sub><br>(mM TRE) |
|--------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|---------------|-----------------------------|
| 0                  | 7,4                                          | 9,8                                          | 8,6           | 0,83                        |
| 33                 | 12                                           | 7,3                                          | 9,7           | 0,92                        |
| 54                 | 13,6                                         | 11,8                                         | 12,7          | 1,20                        |
| 84                 | 6,9                                          | 16,1                                         | 11,5          | 1,09                        |
| 98                 | 11                                           | 6,1                                          | 8,6           | 0,82                        |
| 130                | 12,7                                         | 4                                            | 8,4           | 0,80                        |
| 160                | 15                                           | 16,6                                         | 15,8          | 1,48                        |
| 197                | 11                                           | 7,1                                          | 9,1           | 0,87                        |

#### 4.5 Μέτρηση της αναγωγικής δύναμης (P<sub>R</sub>)

Ο προσδιορισμός της αναγωγικής δύναμης των δειγμάτων έγινε με την εφαρμογή ενός πρωτοκόλλου που βασίζεται στην αναγωγική/ αντιοξειδωτική δύναμη του σιδήρου (FRAP). Πιο συγκεκριμένα ο Fe<sup>2+</sup> που προκύπτει από την αναγωγή του Fe<sup>3+</sup> δημιουργεί έγχρωμο σύμπλοκο (μπλε) με το TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) το οποίο και φωτομετράται. Οι υπολογισμοί έγιναν με τη χρήση πρότυπης καμπύλης ασκορβικού οξέος (Σχήμα 4.4), ενώ τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους Πίνακες 4.9 και 4.10.



**Σχήμα 4.4** Πρότυπη καμπύλη αναφοράς ασκορβικού οξέος

Ακολουθεί ενδεικτική παρουσίαση των υπολογισμών με βάση το δείγμα του Ασύρτικου Βιολογικού τον 1<sup>ο</sup> μήνα:

$y = (1,2582x - 0,0345) * F_D$ , όπου  $y$ : Abs,  $x$ :  $\mu\text{g}$  ασκορβικού οξέος και  $F_D$ :

συντελεστής αραιώσης  $\rightarrow x = \frac{(y + 0,0345) * F_D}{1,2582} \rightarrow x = \frac{(0,347 + 0,0345) * 10}{1,2582}$

$x = 3,03 \mu\text{g}$  ασκορβικού οξέος/ 50  $\mu\text{L}$  κρασιού

**Πίνακας 4.9** Αποτελέσματα της αναγωγικής δύναμης ( $P_R$ ) στο Ασύρτικο Βιολογικό.

| Χρόνος<br>(ημέρες) | 1 <sup>η</sup> μέτρηση<br>(Abs) | 2 <sup>η</sup> μέτρηση<br>(Abs) | Μέσος όρος<br>(Abs) | $P_R$<br>(ισοδύναμα<br>ασκορβικού<br>οξέος mM) |
|--------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------|------------------------------------------------|
| 0                  | 0,344                           | 0,350                           | 0,347               | 3,03                                           |
| 33                 | 0,437                           | 0,425                           | 0,431               | 3,70                                           |
| 54                 | 0,462                           | 0,488                           | 0,475               | 4,05                                           |
| 84                 | 0,492                           | 0,514                           | 0,503               | 4,27                                           |
| 98                 | 0,545                           | 0,575                           | 0,56                | 4,73                                           |
| 130                | 0,606                           | 0,634                           | 0,62                | 5,20                                           |
| 160                | 0,649                           | 0,683                           | 0,666               | 5,57                                           |
| 197                | 0,547                           | 0,571                           | 0,559               | 4,72                                           |

**Πίνακας 4.10** Αποτελέσματα της αναγωγικής δύναμης ( $P_R$ ) στο Chardonnay.

| Χρόνος<br>(ημέρες) | 1 <sup>η</sup> μέτρηση<br>(Abs) | 2 <sup>η</sup> μέτρηση<br>(Abs) | Μέσος όρος<br>(Abs) | $P_R$<br>(ισοδύναμα<br>ασκορβικού<br>οξέος, mM) |
|--------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------|-------------------------------------------------|
| 0                  | 0,205                           | 0,219                           | 0,212               | 1,96                                            |
| 33                 | 0,237                           | 0,231                           | 0,234               | 2,13                                            |
| 54                 | 0,261                           | 0,281                           | 0,271               | 2,43                                            |
| 84                 | 0,276                           | 0,290                           | 0,283               | 2,52                                            |
| 98                 | 0,338                           | 0,328                           | 0,333               | 2,92                                            |
| 130                | 0,438                           | 0,452                           | 0,445               | 3,81                                            |
| 160                | 0,397                           | 0,429                           | 0,413               | 3,56                                            |
| 197                | 0,369                           | 0,401                           | 0,385               | 3,33                                            |

#### 4.6 Αποτελέσματα προσδιορισμού της ικανότητας δέσμευσης ελευθέρων ριζών υδροξυλίου ( $SA_{HFR}$ )

Οι ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου αποτελούν πολύ δραστική μορφή του οξυγόνου η οποία προκαλεί εκτεταμένες ιστικές βλάβες μέσω αλυσιδωτών αντιδράσεων μετάδοσης (42). Επομένως, η ικανότητα δέσμευσης των ριζών αυτών αποτελεί σημαντική παράμετρο της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Στην παρούσα μελέτη υπολογίστηκε από την ποσοστιαία μείωση της χημειοφωταύγειας των δειγμάτων μετά την πάροδο 5min,

σε σύγκριση με το τυφλό δείγμα. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους Πίνακες 4.11 και 4.12.

Ακολουθεί ενδεικτική παρουσίαση των υπολογισμών με βάση το δείγμα του Ασύρτικου Βιολογικού τον 1<sup>ο</sup> μήνα:

$$SA_{HFR} (\% \Delta CL) = \frac{\text{Τυφλό- μ.ο. μετρήσεων}}{\text{Τυφλό}} * 100 = \mathbf{13,4}$$

**Πίνακας 4.11.** Αποτελέσματα προσδιορισμού του  $SA_{HFR}$  στο Ασύρτικο Βιολογικό

| Χρόνος<br>(ημέρες) | Μέσος όρος<br>μετρήσεων | Τυφλό     | $SA_{HFR} (\% \Delta CL)$ |
|--------------------|-------------------------|-----------|---------------------------|
| 0                  | 474730248               | 548364265 | 13,4                      |
| 33                 | 443841181               | 548364265 | 19,1                      |
| 54                 | 409706487               | 548364265 | 25,3                      |
| 84                 | 391296515               | 548364265 | 28,6                      |
| 98                 | 359675088               | 548364265 | 34,4                      |
| 130                | 316789242               | 548364265 | 42,2                      |
| 160                | 422197810               | 548364265 | 23,0                      |
| 197                | 454956139               | 548364265 | 17,0                      |

**Πίνακας 4.12.** Αποτελέσματα προσδιορισμού του  $SA_{HFR}$  στο Chardonnay

| Χρόνος<br>(ημέρες) | Μέσος όρος<br>μετρήσεων | Τυφλό     | $SA_{HFR} (\% \Delta CL)$ |
|--------------------|-------------------------|-----------|---------------------------|
| 0                  | 474730248               | 548364265 | 11,7                      |
| 33                 | 443841181               | 548364265 | 29,7                      |
| 54                 | 409706487               | 548364265 | 32,6                      |
| 84                 | 391296515               | 548364265 | 33,5                      |
| 98                 | 359675088               | 548364265 | 35,1                      |
| 130                | 316789242               | 548364265 | 31,7                      |
| 160                | 422197810               | 548364265 | 31,4                      |
| 197                | 454956139               | 548364265 | 18,0                      |

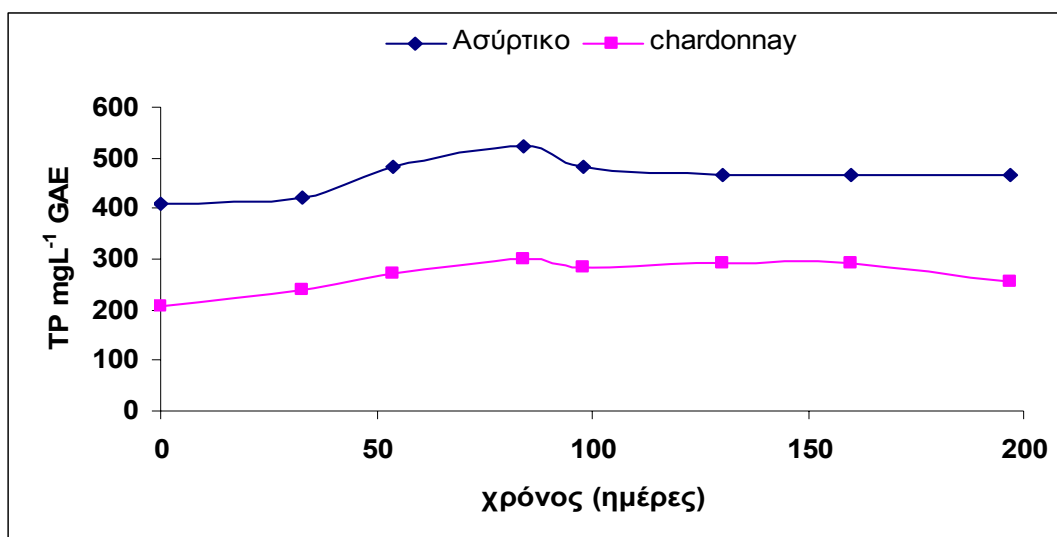
### ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

#### 5.1 Συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο και διακύμανση της αντιοξειδωτικής ικανότητας.

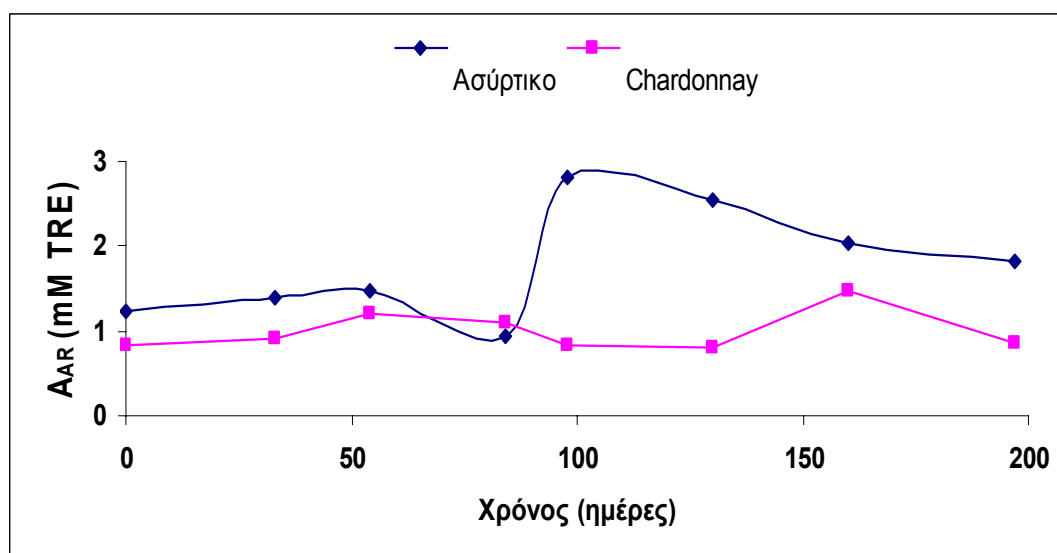
Το συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu και κυμάνθηκε από 408 έως 523mgL<sup>-1</sup> GAE για το Ασύρτικο Βιολογικό και από 206 έως 298mgL<sup>-1</sup> GAE για το Chardonnay. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με προγενέστερη έρευνα (25) στην οποία εντοπίστηκαν από 262 έως 1425 mgL<sup>-1</sup> GAE σε ποικιλίες λευκών κρασιών.

Το Σχήμα 5.1 παρουσιάζει τη διακύμανση του συνολικού πολυφαινολικού περιεχομένου ενώ το Σχήμα 5.2 τη διακύμανση της αντιοξειδωτικής ικανότητας στα δύο κρασιά κατά τη διάρκεια της παλαίωσης στο βαρέλι. Και στις δύο ποικιλίες παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση του πολυφαινολικού περιεχομένου και επίτευξη του μέγιστου στις 84 περίπου μέρες παλαίωσης (28% και 45% για Ασύρτικο Βιολογικό και Chardonnay αντίστοιχα σε σχέση με το αρχικό). Στη συνέχεια, διαμορφώθηκε ένα πλατώ σε λίγο χαμηλότερες συγκεντρώσεις για τα Ασύρτικο Βιολογικό, ενώ στο Chardonnay το πλατώ αυτό παρατηρήθηκε έως τις 160 ημέρες μετά τις οποίες εμφανίστηκε πτωτική τάση της τάξης του 12%. Η σταδιακή αύξηση της περιεκτικότητας των δειγμάτων σε πολυφαινολικά συστατικά θα μπορούσε να αποδοθεί στην εκχύλιση πολυφαινολών από το ξύλο του βαρελιού κατά την παλαίωση. Στη συνέχεια, η καθίζηση των πολυφαινολών με την πάροδο του χρόνου θα αποτελούσε μια πιθανή εξήγηση της σταθεροποίησης και της μικρής μείωσης των πολυφαινολών.

Η πλειοψηφία των μελετών παλαίωσης κρασιού αφορούν κόκκινες ποικιλίες. Έτσι, η απουσία επαρκών δεδομένων από προγενέστερες μελέτες για το λευκό κρασί καθιστά αδύνατη κάθε σύγκριση. Η έρευνα των Alcalde- Eon et al. ασχολήθηκε με το κόκκινο κρασί και εντόπισε παρόμοια πορεία γεγονότων με τη διαφορά ότι αυτοί παρατήρησαν πτώση των συνολικών αντιοξειδωτικών μετά τον πρώτο χρόνο παραμονής στο βαρέλι. Αυτή η διαφορά μπορεί να οφείλεται στις διαφορετικές συνθήκες παλαίωσης αλλά και στην ποικιλία του κρασιού.



**Σχήμα 5.1** Διακύμανση συνολικού πολυφαινολικού περιεχμένου κατά την παλαίωση στο Ασύρτικο Βιολογικό και στο Chardonnay.



**Σχήμα 5.2** Διακύμανση συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας κατά την παλαίωση στο Ασύρτικο Βιολογικό και στο Chardonnay.

Όσον αφορά την αντιοξειδωτική ικανότητα, αυτή προσδιορίστηκε στα 1,09-2,83 TRE για το Ασύρτικο Βιολογικό και στα 0,80- 1,48 TRE για το Chardonnay. Για το τελευταίο υπάρχει συμφωνία των ευρημάτων και με προγενέστερη μελέτη (27) στην οποία προσδιορίστηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα κρασιού της ίδιας ποικιλίας που δεν είχε υποστεί ωρίμανση ήταν  $0,719 \pm 0,096$  mM TRE. Η μέγιστη αντιοξειδωτική δύναμη για το Ασύρτικο Βιολογικό εντοπίστηκε στις 98 μέρες (130% αύξηση σε σχέση με το αρχικό δείγμα) ενώ στο Chardonnay στις 160 μέρες παραμονής στο βαρέλι (78% αύξηση σε σχέση με το αρχικό δείγμα).

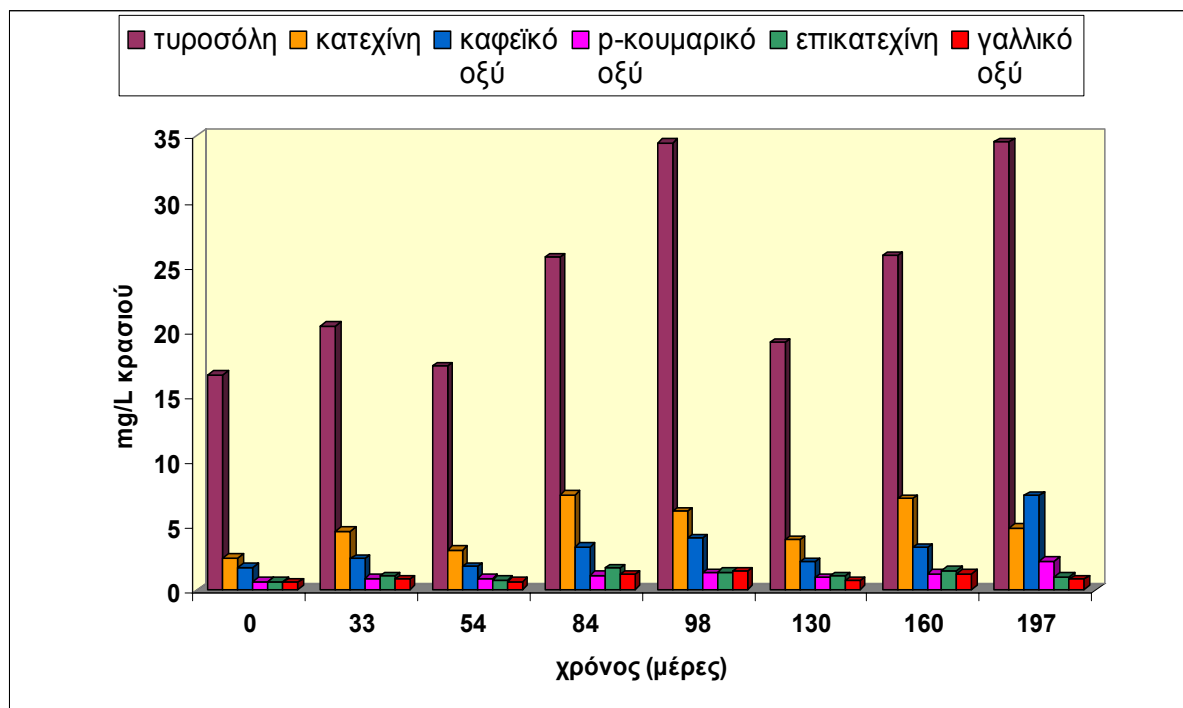
Σε όλο το χρονικό διάστημα που μελετήθηκε υπήρχαν συνεχείς αυξομειώσεις οι οποίες δεν ήταν σε αντιστοιχία με το συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο που εκτιμήθηκε με τη μέθοδο Folin- Ciocalteau. Το γεγονός αυτό μπορεί να αποδοθεί στο διαφορετικό είδος και αναλογία των πολυφαινολικών συστατικών κάθε δείγματος. Για παράδειγμα, έχει αποδειχθεί ότι τα κρασιά που έχουν υποστεί παλαίωση παρουσιάζουν μικρότερη περιεκτικότητα απλών πολυφαινολικών συστατικών λόγω των φαινόμενων οξειδωσης που συντελούνται προς σχηματισμό οξειδωμένων παραγώγων (π.χ. κινόνες) ή πολυμερών ενώσεων (26). Επιπλέον, διαφορετικές τάξεις πολυφαινολών και/ή συνεργιστική δράση μεταξύ αυτών, καθώς επίσης και άλλα βιοενεργά συστατικά, όπως λιπίδια και βιταμίνες (43), είναι πιθανό να ευθύνονται για την παραπάνω παρατήρηση.

## **5.2 Επιμέρους πολυφαινόλες- Αποτελέσματα GC-MS**

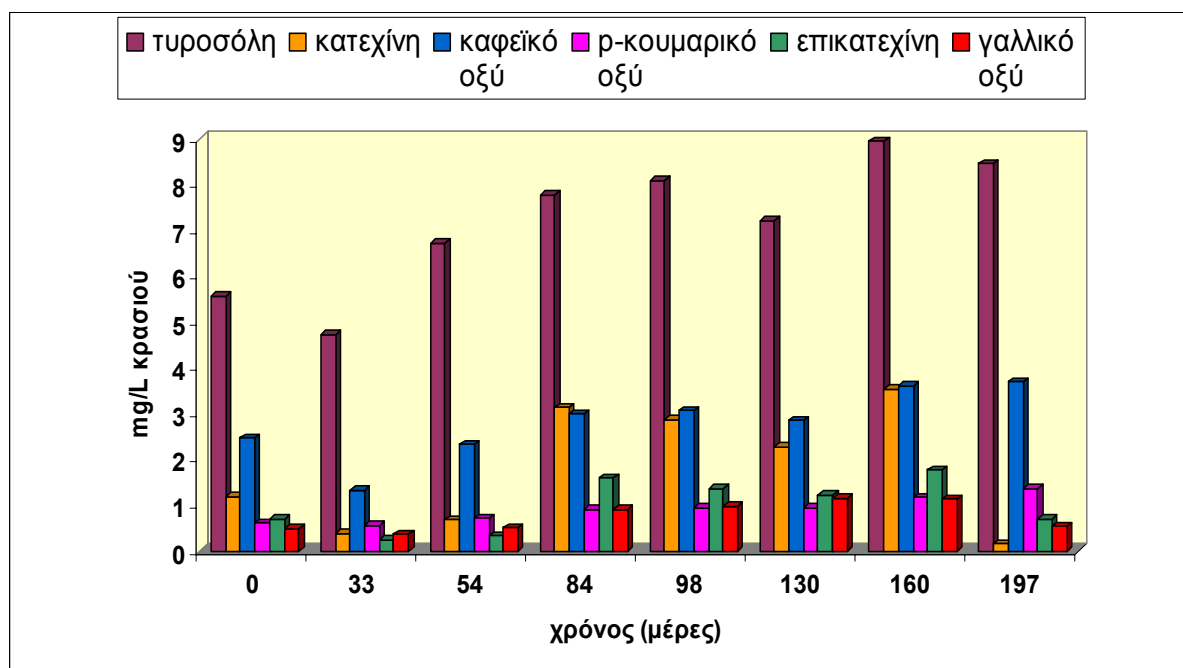
Η ανάλυση των δειγμάτων κρασιού με αέρια χρωματογραφία (gas chromatography, GC) οδήγησε στην ταυτοποίηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό 18 πολυφαινολικών συστατικών των κρασιών. Το άθροισμα των ταυτοποιημένων με GC-MS χρωματογραφία πολυφαινολών εμφανίστηκε μικρότερο από το συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο που προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteau. Η παρατήρηση αυτή είναι αναμενόμενη αφού οι ολικές πολυφαινόλες που προσδιορίζονται μέσω της αέριας χρωματογραφίας προκύπτουν μόνο από τα πολυφαινολικά συστατικά για τα οποία διατίθενται πρότυπα, άρα αναφερόμαστε ουσιαστικά σε συνολικές ταυτοποιημένες πολυφαινόλες.

Τα Σχήματα 5.3 και 5.4 παρουσιάζουν τις συγκεντρώσεις των 6 ποσοτικά επικρατέστερων συστατικών που ανιχνεύτηκαν στο Ασύρτικο Βιολογικό και στο Chardonnay, αντίστοιχα στα διάφορα στάδια της παλαίωσης που μελετήθηκαν. Η πολυφαινόλη που ανιχνεύτηκε σε υψηλότερες συγκεντρώσεις ήταν σε όλες τις περιπτώσεις η τυροσόλη. Ακολούθησαν κατά σειρά η κατεχίνη, το καφεϊκό οξύ, το p-κουμαρικό οξύ, η επικατεχίνη και το γαλλικό οξύ. Η πρώτη ποικιλία έχει συστηματικά μεγαλύτερη συγκέντρωση πολυφαινολικών συστατικών. Η μέγιστη συγκέντρωση ανιχνεύσιμων πολυφαινολών εντοπίστηκε στις 197 ημέρες για το Ασύρτικο Βιολογικό (αύξηση 112% σε σχέση με το αρχικό δείγμα) και στις 160 ημέρες για το Chardonnay (αύξηση 70% σε σχέση με το αρχικό δείγμα).





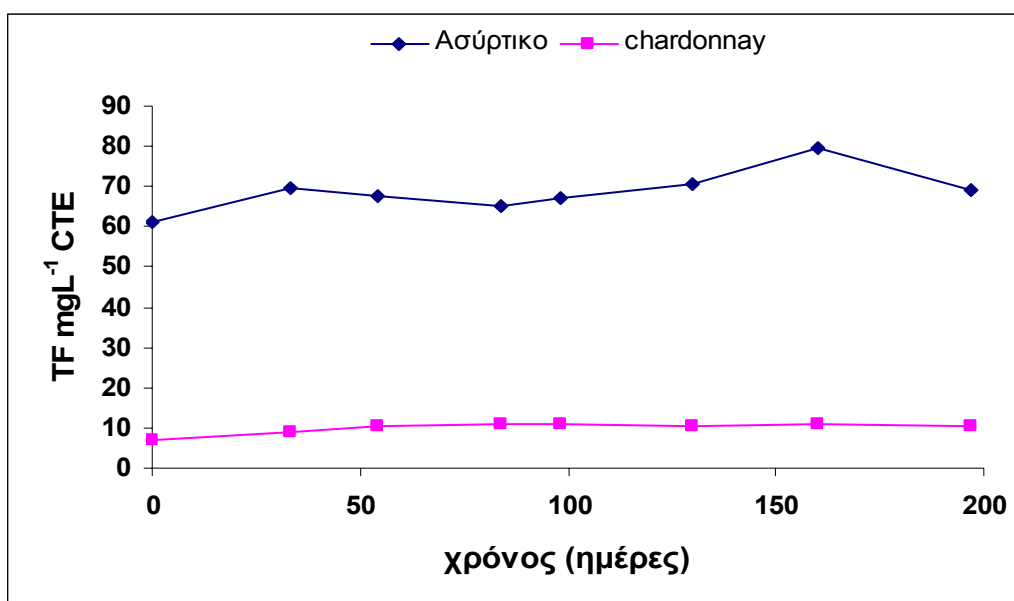
**Σχήμα 5.3** Κυρίαρχα πολυφαινολικά συστατικά στο Ασύρτικο Βιολογικό κατά την παλαίωση



**Σχήμα 5.4** Κυρίαρχα πολυφαινολικά συστατικά στο Chardonnay κατά την παλαίωση

### 5.3 Συνολικό φλαβανολικό περιεχόμενο

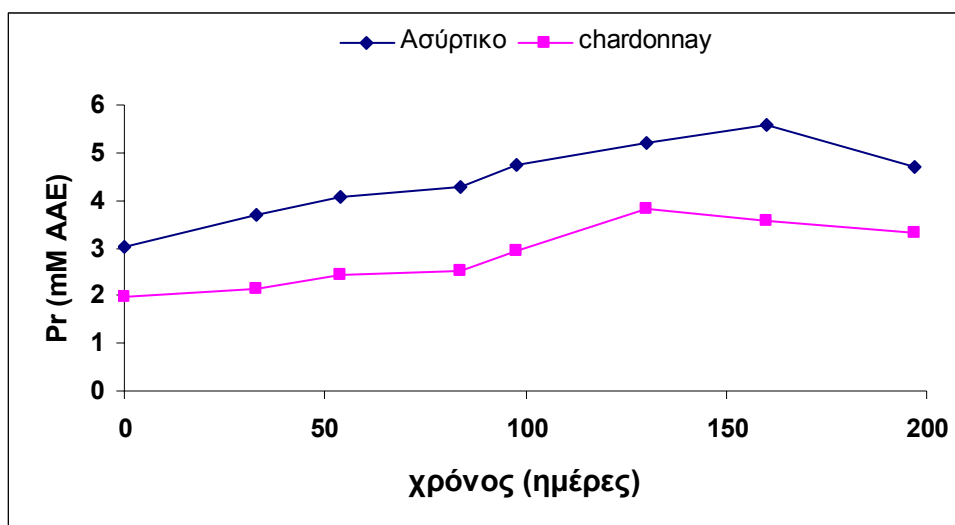
Το συνολικό περιεχόμενο των δειγμάτων σε φλαβανόλες προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της p- διμεθυλαμινοκιναμαλδεϋδης και κυμάνθηκε από 61,4 έως 79,8mgL<sup>-1</sup> CTE στο Ασύρτικο Βιολογικό και από 7 έως 11,1mgL<sup>-1</sup> CTE στο Chardonnay. Το Σχήμα 5.5 παρουσιάζει τη διακύμανση της σύστασης των δύο κρασιών, όσον αφορά τις φλαβανόλες, κατά την παλαίωση. Παρατηρούμε ότι και στις δύο περιπτώσεις οι φλαβανόλες παρουσιάζουν σταδιακή αύξηση τις 33 με 54 πρώτες μέρες και σχεδόν σταθεροποιούνται έως τις 160 μέρες που φτάνουν τη μέγιστη συγκέντρωσή τους. Στις 197 μέρες διαπιστώνεται μείωση της τάξης του 8% στο Chardonnay και 13% στο Ασύρτικο Βιολογικό. Σε γενικές γραμμές δεν παρατηρούνται έντονες μεταβολές στο συνολικό φλαβανολικό περιεχόμενο, αυτό όμως δε συνεπάγεται και σταθερότητα στην ποσοστιαία αναλογία των επιμέρους συστατικών. Είναι άλλωστε γνωστό ότι κατά την παλαίωση του κρασιού συντελούνται αντιδράσεις συμπύκνωσης των φλαβανολών με αποτέλεσμα το σχηματισμό λιγότερο δραστικών ενώσεων μεγαλύτερου μοριακού βάρους (44).



**Σχήμα 5.5** Συνολικό φλαβανολικό περιεχόμενο κατά την παλαίωση στο Ασύρτικο Βιολογικό και στο Chardonnay .

#### 5.4 Η Αναγωγική Δύναμη ( $P_R$ )

Η αναγωγική δύναμη ( $P_R$ ) για το Ασύρτικο Βιολογικό κυμάνθηκε από 3,03- 5,57 AAE και για το Chardonnay από 1,96- 3,81 AAE. Παρατηρείται σταδιακή αύξηση του  $P_R$  και στις δύο ποικιλίες η οποία όμως σταματά μετά τις 160 μέρες για την πρώτη και μετά τις 130 μέρες για τη δεύτερη, οπότε και εμφανίζονται οι πρώτες πτωτικές τάσεις (15% και 6,5%, αντίστοιχα). Η μέγιστη αναγωγική για το Ασύρτικο Βιολογικό αντικατοπτρίζει αύξηση της τάξης του 84% σε σχέση με την αρχική, ενώ στο Chardonnay η αύξηση αυτή είναι της τάξης του 94%. Το Σχήμα 5.6 παρουσιάζει την αναγωγική δύναμη των δύο ποικιλιών κατά την παλαίωση.

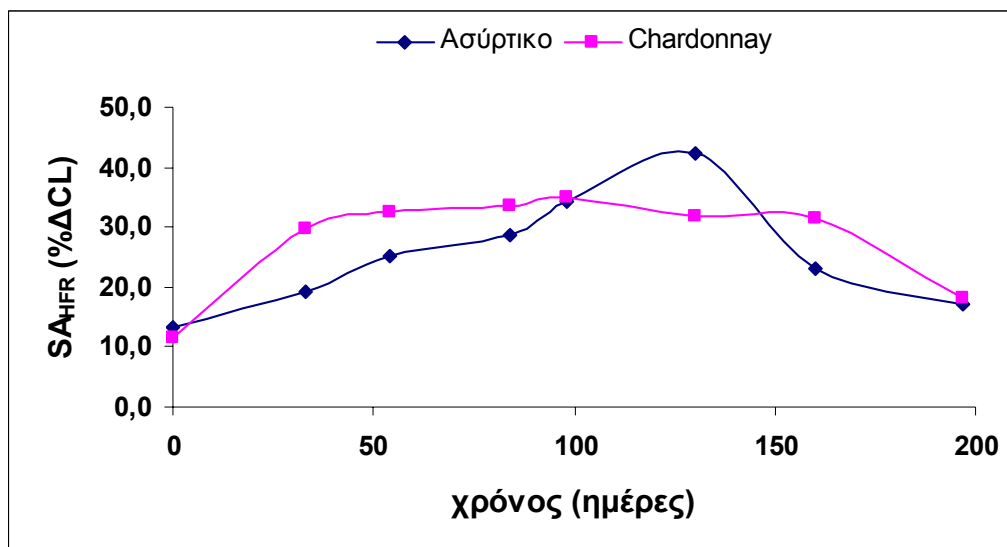


**Σχήμα 5.6** Αναγωγική δύναμη ( $P_R$ ) κατά την παλαίωση στο Ασύρτικο Βιολογικό και στο Chardonnay .

#### 5.5 Ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου ( $SA_{HFR}$ )

Η ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου ( $SA_{HFR}$ ) για τις δύο ποικιλίες κατά την παλαίωση φαίνονται στο Σχήμα 5.7. Στο Ασύρτικο Βιολογικό παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση μέχρι και την επίτευξη της μέγιστης  $SA_{HFR}$  (42%) στις 130 μέρες παραμονής στο βαρέλι. Στη συνέχεια ακολούθησε πτώση της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου που άγγιξε μόλις το 17% στις 200 μέρες. Στο Chardonnay παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση του  $SA_{HFR}$  στις 33 μέρες (από 11,7% σε 29,7%), ενώ μέχρι τις 98 μέρες σημειώθηκε μικρή σταδιακή αύξηση (έως 35,1%). Τις μέρες που ακολούθησαν το  $SA_{HFR}$  εμφάνισε μείωση με πιο χαρακτηριστική αυτή στις 197 μέρες (από 31,4% στις 160 σε 18%).

Είναι εμφανές από τα παραπάνω ότι και στις δύο ποικιλίες εμφανίζεται μείωση της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου στις 130 με 160 μέρες παλαίωσης.



**Σχήμα 5.7** Ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου (SA<sub>HFR</sub>) κατά την παλαίωση στο Ασύρτικο Βιολογικό και στο Chardonnay .

#### 5.6 Συσχέτιση πολυφαινολών και φλαβονολών με αντιοξειδωτική ικανότητα, αναγωγική δύναμη και ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου

Οι Πίνακες 5.1 και 5.2 παρουσιάζουν τους συντελεστές συσχέτισης ( $r^2$ ) μεταξύ των παραμέτρων που μελετήθηκαν, έτσι ώστε να είναι δυνατός ο εντοπισμός συσχετίσεων.

**Πίνακας 5.1** Συντελεστές συσχέτισης ( $r^2$ ) μεταξύ πολυφαινολών- φλαβονολών και αντιοξειδωτικών χαρακτηριστικών

|                         | Ολικές PP |            | Ολικές FV |            |
|-------------------------|-----------|------------|-----------|------------|
|                         | Asyrtiko  | Chardonnay | Asyrtiko  | Chardonnay |
| <b>A<sub>AR</sub></b>   | 0,0485    | 0,4757     | 0,3078    | 0,4618     |
| <b>P<sub>R</sub></b>    | 0,7906    | 0,8553     | 0,4936    | 0,8874     |
| <b>SA<sub>HFR</sub></b> | 0,8171    | 0,8875     | 0,3745    | 0,9515     |

**Πίνακας 5.2** Συντελεστές συσχέτισης μεταξύ πολυφαινολών- φλαβανολών

|                  | <b>Ολικές PP</b> |                   |
|------------------|------------------|-------------------|
|                  | <i>Ασύρτικο</i>  | <i>Chardonnay</i> |
| <b>Ολικές FV</b> | 0,1574           | 0,980             |

Φαίνεται λοιπόν να μην υπάρχει σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο και την αντιοξειδωτική δράση στο Ασύρτικο (0,0485), ενώ οι ίδιες παράμετροι παρουσιάζουν μέτρια συσχέτιση στο Chardonnay (0,4757). Στη συνέχεια, και οι δύο ποικιλίες εμφανίζουν υψηλή συσχέτιση μεταξύ των συνολικών πολυφαινολών και αναγωγικής δύναμης- ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου.

Οι συνολικές φλαβανόλες και των δύο ποικιλιών παρουσιάζουν μέτρια συσχέτιση με την αντιοξειδωτική δύναμη. Στο Ασύρτικο φαίνεται να επικρατεί επίσης μέτρια σχέση μεταξύ των φλαβανολών και αναγωγικής δύναμης- ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου. Αντίθετα, στο Chardonnay εντοπίζεται ιδιαίτερα ισχυρή σχέση μεταξύ συνολικών φλαβανολών και αναγωγικής δύναμης- ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου.

Τέλος, οι συνολικές πολυφαινόλες έχουν πολύ υψηλό συντελεστή συσχέτισης με τις συνολικές φλαβανόλες στο Chardonnay (0,980). Στο Ασύρτικο η αντίστοιχη συσχέτιση έχει πολύ χαμηλό συντελεστή (0,1574).

# ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

### 6.1 Γενικά συμπεράσματα

Στη μελέτη που πραγματοποιήθηκε, μελετήθηκε η επίδραση της παλαίωσης στο πολυφαινολικό περιεχόμενο και την αντιοξειδωτική δράση δύο ποικιλιών λευκού κρασιού. Οι ποικιλίες αυτές προέρχονταν από σταφύλια αμπελώνων του Αγίου Όρους και ήταν Ασύρτικο βιολογικής καλλιέργειας και Chardonnay. Το συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο εκτιμήθηκε με τη μέθοδο Folin- Ciocalteu, ενώ χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της αέριας χρωματογραφίας- φασματομετρίας μάζας για την ταυτοποίηση και τον προσδιορισμό επιμέρους πολυφαινολικών συστατικών. Επίσης, προσδιορίστηκε το συνολικό φλαβονολικό περιεχόμενο με τη μέθοδο της p- διμεθυλαμινοκινναμαλδεϋδης (DMCA). Η αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων μελετήθηκε με τρεις κατάλληλες δοκιμές: ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH\*, αναγωγική δύναμη του Fe (P<sub>R</sub>) και ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου (SA<sub>HFR</sub>). Η εργασία αυτή παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον αφού ασχολείται με παλαίωση λευκού κρασιού και όχι κόκκινου όπως συμβαίνει με την πλειοψηφία των αντίστοιχων μελετών.

Τα αποτελέσματα τις μελέτης αυτής έδειξαν ότι οι συγκεκριμένες ποικιλίες κρασιού διαθέτουν σημαντική ποικιλία αντιοξειδωτικών συστατικών. Συγκεκριμένα τόσο στο Ασύρτικο όσο και στο Chardonnay ανιχνεύτηκαν 20 πολυφαινόλες. Η πολυφαινόλη που υπερείχε ποσοτικά σε όλες τις περιπτώσεις ήταν η τυροσόλη. Ακολούθησαν κατά σειρά η κατεχίνη, το καφεϊκό οξύ, το p-κουμαρικό οξύ, η επικατεχίνη και το γαλλικό οξύ. Επιπρόσθετα, τόσο η μέθοδος Folin- Ciocalteu, όσο και ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των ολικών πολυφαινολών μέσω της αέριας χρωματογραφίας έδειξαν ότι το Ασύρτικο περιείχε σχεδόν υπερδιπλάσια ποσότητα πολυφαινολών σε σχέση με το Chardonnay. Η παλαίωση έως τις 98 μέρες φάνηκε να επιδρά στην ενίσχυση της πολυφαινολικής σύστασης των δύο ποικιλιών. Στο χρονικό διάστημα που ακολούθησε δεν παρατηρήθηκαν αξιοσημείωτες μεταβολές. Όσον αφορά στη διακύμανση του συνολικού φλαβονολικού περιεχομένου κατά την παλαίωση, σε γενικές γραμμές δεν παρατηρήθηκαν έντονες μεταβολές, αυτό όμως δε συνεπάγεται και σταθερότητα στην ποσοστιαία αναλογία

των επιμέρους συστατικών. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συγκέντρωση των φλαβονολών στο Ασύρτικο ήταν επταπλάσια σε σχέση με το Chardonnay.

Όπως προέκυψε από τη διεξαγωγή της μέτρησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων, το Ασύρτικο έχει υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από το Chardonnay, σε ορισμένες μάλιστα περιπτώσεις και σε ποσοστό μεγαλύτερο του 50%. Η αναγωγική δύναμη στο Ασύρτικο ήταν επίσης μεγαλύτερη κατά παρόμοιο ποσοστό ενώ η ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου δεν παρουσίασε σημαντικές διαφοροποιήσεις στις δύο ποικιλίες. Η παλαίωση έως την 98<sup>η</sup> ημέρα επέφερε σταδιακή αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας και στα δύο δείγματα. Η ίδια αυξητική τάση εντοπίστηκε και στην αναγωγική δύναμη αλλά και στην ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών υδροξυλίου μέχρι τις 130-160 ημέρες παλαίωσης. Το επόμενο χρονικό διάστημα δεν παρατηρήθηκε σημαντική περαιτέρω αύξηση ενώ σε κάποιες περιπτώσεις εμφανίστηκαν έντονες πτωτικές τάσεις.

## **6.2 Διατροφική αξιολόγηση παλαιωμένου λευκού κρασιού**

Σύμφωνα με τα παραπάνω οι δύο συγκεκριμένες ποικιλίες λευκού κρασιού μπορούν να συνεισφέρουν σημαντικά στην ημερήσια κατανάλωση πολυφαινολικών συστατικών, αφού αποτελούν ιδιαίτερα πλούσιες πηγές αντιοξειδωτικών συστατικών. Μία μερίδα λευκού κρασιού κατά την 98<sup>η</sup> ημέρα παλαίωσης (περίπου 150mL) δίνει 122kcal και 72mg πολυφαινολών, εκ των οποίων 10mg φλαβανόλες (Ασύρτικο) ή 43mg πολυφαινολών, εκ των οποίων 2mg φλαβανόλες (Chardonnay). Συνεπώς η κατανάλωση των συγκεκριμένων ποικιλιών στα πλαίσια μιας ισορροπημένης, και κατά προτίμηση Μεσογειακής, διατροφής ενισχύει την πρόσληψη αντιοξειδωτικών συστατικών τα οποία έχουν γνωστές ευεργετικές συνέπειες για τον οργανισμό.

Ωστόσο, αν ληφθεί υπόψη το γεγονός ότι 1 μερίδα λευκού κρασιού περιέχει περίπου 15g αιθυλική αλκοόλη, είναι σαφές ότι δε θα πρέπει να γίνεται υπερκατανάλωση, ιδιαίτερα από τον μη υγιή πληθυσμό. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας συνιστά την κατανάλωση 1 μερίδας αλκοόλ ημερησίως για τις γυναίκες και 2 μερίδες για τους άντρες. Οι συστάσεις αυτές αφορούν υγιείς ενήλικες. Σε κάθε άλλη περίπτωση θα πρέπει να γίνει ιδιαίτερη εκτίμηση της κατάστασης και επομένως, είναι πιθανό να δοθεί διαφοροποιημένη σύσταση.

# ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Σουφλερός Η. Ε.: Οινολογία επιστήμη και τεχνογνωσία. Θεσσαλονίκη 2000, τόμος 1ος
2. Σουφλερός Ε. Η.: Οινολογία επιστήμη και τεχνογνωσία. Θεσσαλονίκη 2000, τόμος 2ος
3. Τσακίρης Ν. Α.: Οινολογία από το σταφύλι στο κρασί. Αθήνα 1994
4. Πολιτιστικό και τεχνολογικό ίδρυμα ΕΤΒΑ «Ι. Μπουτάρης & Υιός Α.Α.Ο.Ε. &Ε.Ε.»: Ιστορία του Ελληνικού κρασιού. Αθήνα 1992
5. Arnous A., Makris P. D., Kefalas P.: Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant characteristics of aged red wines. J. Agric. Food Chem. 2001, 49: 5736-5742
6. Χίου Α.Π. Σημειώσεις φροντιστηρίου Φυτικοχημείας και Βιοχημείας τροφίμων. Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, Αθήνα 2003
7. Massimo Montanari: Πείνα και αφθονία στην Ευρώπη. Αθήνα, 1997
8. Roulton B. R., Singleton V.L., Bisson L.F., Kunkee R. E.: Principles and practices of winemaking. USA 1996
9. Alcade-Eon C., Escribano-Bailon M. T., Santos-Buelga C., Rivas-Gonzalo J. C.: Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing. A comprehensive study. Analytica Chimica Acta., Article in Press.
10. Αλεξάκης Α. Σ.: Το κρασί και η παραγωγή του. Αθήνα
11. Matalas A. L., Zampelas A., Stavrinos V., Wolinsky I.: The Mediterranean Diet: Constituents and Health Promotion. 2001
12. Lorgèril M., Salen P., Paillard F., Laporte F., Boucher F., Leiris J.: Mediterranean diet and the French paradox: Two distinct biogeographic concepts for one consolidated scientific theory on the role of nutrition in coronary health disease. Cardiovascular Research, 2002, 54: 503-515.
13. Trichopoulou A., Kouris-Blazos A., Vassilakou T., Gnardellis Ch., Polychronopoulos E., Venizelos M., Ligiou P., Wahlqvist M. L., Trichopoulos D.: The diet and survival of elderly Greeks; a link to the past. Am. J. Clin. Nut., 61: 1346S, 1995.
14. Overview of Polyphenols. AgroFood industry hi-tech., March/ April 2004, 10-11.



15. Simonetti P., Gardana C., Pietta P.: Plasma levels of caffeic acid and antioxidant status after red wine intake. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49: 5964-5968.
16. [www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi\\_bin/measure.pl](http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi_bin/measure.pl)
17. [www.greekwines.gr](http://www.greekwines.gr)
18. Goldberg D. M., Yan J., Soleas G. J.: Absorption of three wine-related polyphenols in three different matrices by health subjects. *Clinical Biochemistry*, 2003, 36: 79-87.
19. Williamson G., Manach C.: Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *Am J Clin Nutr.* 2005, 81 (suppl): 243S-55S.
20. Papadopoulou C., Soulti K., Roussis I. G.: Potential antimicrobial activity of red and white wine phenolic extracts against strains of *Staphylococcus aureus*, *Echerichia coli* and *Candida albicans*. *Food Technol. Biotechnol.* 2005, 43 (1) 41-46.
21. Guendez R., Kallithraka S., Makris D. P., Kefalas P.: Determination of low molecular weight polyphenolic constituents in grape (*Vitis vivifera* sp.) seed extracts: Correlation with antiradical activity. *Food Chemistry*. 2005, 89: 1-9.
22. Borbalan A. A .M., Zoro L., Guillen A., Barroso C. G.: Study of the polyphenol content of red and white grape varieties by liquid chromatography- mass spectrometry and its relationship to antioxidant power. *Journal of Chromatography A*. 2003, 1012: 31-38.
23. Organisation Internationale de la Vigne et du Vin.: Statistiques vitivinicoles mondiales, 2005
24. Garcia-Beneytez E., Cabello F., Revilla E.: Analysis of grape and wine anthocyanins by HPLC-MS. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51: 5622-5629.
25. Landrault N., Poucheret P., Ravel P., Gasc F., Cros G., Teissedre P-L.: Antioxidant capacities and phenolics levels of French wines from different varieties and vintages. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49: 3341-3348.
26. Proestos C., Bakogiannis A., Psarianos C., Koutinas A. A., Kanellaki M., Komaitis M.: High performance liquid chromatography analysis of phenolic substances in Greek wines. *Food Control*, 2005, 16: 319-323.
27. Beer D., Joubert E., Gelderblom W., Manley M.: Antioxidant activity of South African red and white cultivar wines: free radical scavenging. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51: 902-909.

28. Wang H., Race E. J., Shrikhande A. J.: Anthocyanin transformation in Cabernet Sauvignon wine during aging. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51: 7989-7994
29. Mazauric J. P., Salmon J. M.: Interactions between yeast lees and wine polyphenols during simulation of wine aging: I. analysis of remnant polyphenolic compounds in the resulting wines. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, 53: 5647-5653.
30. Burns J., Gardner P. T., Matthews D, Duthie G. G., Lean M. E. J., Crozier A.: Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49: 5797-5808.
31. Katalinic V., Milos M., Modum D., Music I., Boban M.: Antioxidant effectiveness of selected wine in comparison with (+)- catechine. *Food Chemistry*, 2004, 86: 593-600.
32. Recamales F. A., Sayago A., Gontzalez- Miret M. L., Hernanz D.: The effect of time and storage conditions on the phenolic composition and colour of white wine. *Food Research International*, 2005, Article in Press.
33. Naissides M., Mamo J. C. L., James A., Pal S.: The effect of consumption of red wine on cardiovascular disease risk factors in postmenopausal women. *Atherosclerosis*, 2005, Article in Press.
34. Pignatelli P., Ghiselli A., Bucheti B., Carnevale R., Natella F., Germano G., Fimognari F., Santo S.D., Lenti L., Violi F.: Polyphenols synergistically inhibit oxidative stress in subjects given red and white wine. *Atherosclerosis*, Article in Press.
35. Auger C., Teissedre P-L., Gerain P., Lequeux N., Bornet A., Serisier S., Besancon P., Caporiccio B., Cristol J-P., Rouanet J-M. : Dietary wine phenolics catechine, quercetin, and resveratrol efficiently protect hypercholesterolemic hamsters against aortic fatty streak accumulation. *J. Agric. Food Chem.*, 2005 53: 2015-2021.
36. Ou H-C., Chou F-P., Sheen h-m., Lin T-M., Yang C-H., Sheu W. H-H.: Resveratrol, a polyphenolic compound in red wine, protects against oxidized LDL- induced cytotoxicity in endothelial cells. *Clinica Chimica Acta*, 2006, 364: 196-204.
37. Roussou I., Lambropoulos I., Pagoulatos G. N., Fotsis T., Roussis I. G.: Decrease of heat shock protein levels and cell populations by wine phenolic extracts. *Agric. Food Chem.*, 2004, 52: 1017- 1024.

38. Gardin S., Ollinger K., Dabrosin C.: Resveratrol induces apoptosis and inhibits angiogenesis in human breast cancer xenografts in vivo. *Cancer Letters*, 2006, 231: 113-122.
39. Soleas J. G., Grass L., Josephy P. D., Goldberg D .M., Diamandis E. P.: A comparison of the anticarcinogenic properties of four red wine polyphenols. *Clinical Biochemistry*, 2002, 35: 119-124.
40. Whelan A.P., Sutherland W. H. F., McCormick M.P., Yeoman D. J., Jong S.A., Williams M. J. A.: Effects of white and red wine on endothelial function in subjects with coronary artery disease. *Internal Medicine Journal*, 2004, 34: 224-228.
41. Καλιώρα Χ. Α.: Μελέτη της βιολογικής συμπεριφοράς φυσικών προϊόντων και παραγώγων τους ως προς την ικανότητα τροποποίησης της LDL, in vitro. Διατροφική προσέγγιση. Διδακτορική διατριβή. Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, 2003.
42. Groff L. G., Gropper S. S. επιμέλεια μετάφρασης Συντάξης Λ.: Διατροφή και μεταβολισμός Ι, 2005, Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδη & Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, τόμος ΙΙ.
43. Fragopoulou E., Antonopoulou S., Demopoulos A. C.: Biologically active lipids with antiatherogenic properties from white wine and must. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, 50: 2684-2694.
44. Lotito S. B., Actis- Goretta L., Renart M. L., Caligiuri M., Rein D., Schmitz H. H., Steinberg F. M., Keen C. L., Fraga C. G.: Influence of oligomer chain length on the antioxidant activity of procyanidins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000, 276: 945-951.