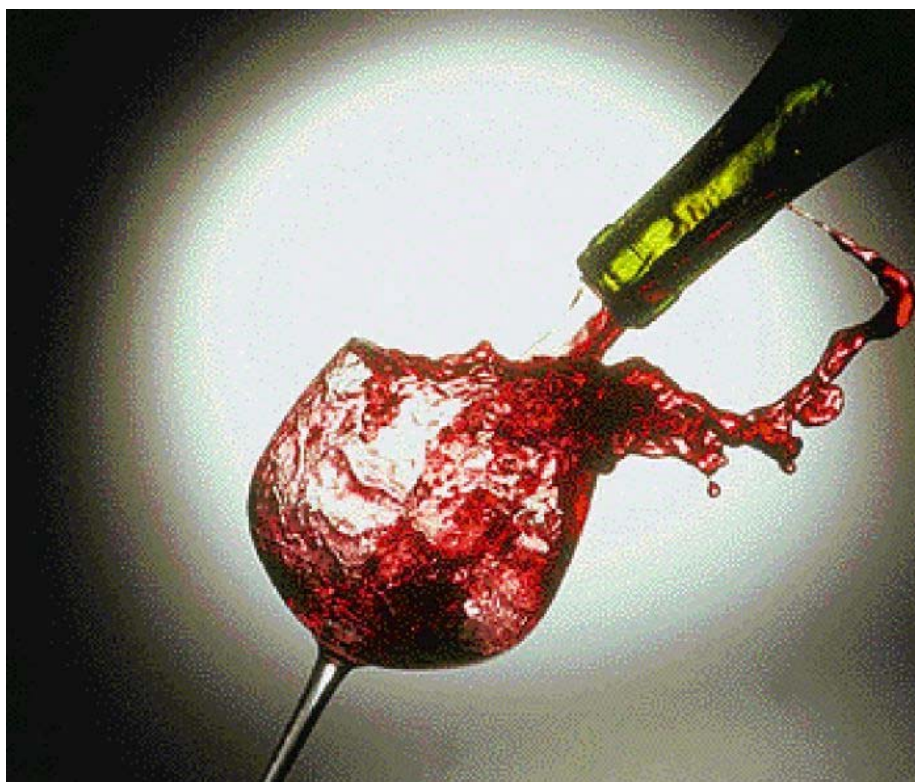


ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ- ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΚΑΛΑΘΑΡΑ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΑ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Μελέτη αντιοξειδωτικής/ αντιφλεγμονώδους δράσης εκχυλισμάτων
ερυθρού και λευκού οίνου**



Τριμελής Συμβουλευτική και Εξεταστική Επιτροπή:

Επιβλέπουσα

Φραγκοπούλου Ελισάβετ, Λέκτορας

Μέλη

Νομικός Τζώρτζης, Λέκτορας

Τέντα Ρωξάνη, Λέκτορας

ΑΘΗΝΑ 2008

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ- ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΚΑΛΑΘΑΡΑ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΑ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Μελέτη αντιοξειδωτικής/ αντιφλεγμονώδους δράσης εκχυλισμάτων
ερυθρού και λευκού οίνου**

Τριμελής Συμβουλευτική και Εξεταστική Επιτροπή:

Επιβλέπουσα

Φραγκοπούλου Ελισάβετ, Λέκτορας

Μέλη

Νομικός Τζώρτζης, Λέκτορας

Τέντα Ρωξάνη, Λέκτορας

ΑΘΗΝΑ 2008

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Θα ήθελα να απευθύνω τις θερμότερες ευχαριστίες μου στην επιβλέπουσά μου κα. Ελισάβετ Φραγκοπούλου για την ανάθεση της συγκεκριμένης πτυχιακής μελέτης. Η καθοδήγησή της καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, η αμέριστη συμπαράσταση που μου έδειξε όλο αυτό το διάστημα της συγγραφής, αλλά και οι πολύτιμες συμβουλές της ήταν καταλυτικές για την εκπόνηση αυτής της μελέτης.

Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κ.κ. Τζώρτζη Νομικό για τις εύστοχες παρατηρήσεις του και την κ.α. Μαριάννα Ξανθοπούλου για το αμέριστο ενδιαφέρον που μου έδειξε και την ουσιαστική βοήθεια που μου προσέφερε κατά την επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ.α. Βίβιαν Ντετοπούλου και τον κ.κ. Χαράλαμπο Καραντώνη για τις πολύ ενδιαφέρουσες υποδείξεις τους και τις επιστημονικές συμβουλές τους.

Χάρη σε όλους αυτούς η δουλεία μου στο εργαστήριο ήταν πολύ ευχάριστη και γεμάτη από πολύτιμη γνώση.

Τέλος ευχαριστώ από καρδιάς την οικογένειά μου που με στηρίζει όλα αυτά τα χρόνια των σπουδών μου και τους φίλους μου που δεν έλειψαν στιγμή από κοντά μου.

Στον Στράτο

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Κεφάλαιο 1^ο : Η Μεσογειακή Διατροφή

1.1	Τι είναι η Μεσογειακή Δίαιτα.....	2
1.1.1	Τρόφιμα Μεσογειακής Διατροφής.....	2
1.1.2	Η Μεσογειακή Πυραμίδα.....	3
1.1.3	Η θέση του κρασιού στη Μεσογειακή Διατροφή.....	6
1.2	Επιδημιολογικές μελέτες που σχετίζονται με τη Μεσογειακή Διατροφή....	7
1.2.1	Ευεργετικές δράσεις τροφίμων της Μεσογειακής Διατροφής στην Υγεία.....	9
1.3	Επιδημιολογικές μελέτες σχετικές με κατανάλωση αλκοόλ και κρασιού...	12

Κεφάλαιο 2^ο : Το Οξειδωτικό Στρες

2.1	Μηχανισμός δράσης ελευθέρων ριζών.....	15
2.2.1	Βλάβες που προκαλούνται από ελεύθερες ρίζες.....	18
2.2	Αντιοξειδωτικά.....	20
2.2.1	Είδη και πηγές αντιοξειδωτικών.....	21
2.2.2	Αντιοξειδωτική Δίαιτα.....	28
2.3	Τα αντιοξειδωτικά στο κρασί.....	30

Κεφάλαιο 3^ο : Το κρασί και οι Βιολογικές του Δράσεις

3.1	Περί Οίνου.....	33
3.1.1	Οινοποιία.....	33
3.2	Σύσταση κρασιού.....	35
3.3	Βιολογικές δράσεις κρασιού.....	40
3.3.1	Αγγειοδιασταλτική δράση.....	40
3.3.2	Αντιφλεγμονώδη δράση	41
3.3.3	Αντιθρομβωτική δράση.....	42
3.3.4	Αντιμικροβιακή και αντιβακτηριαδική δράση.....	43

3.3.5	Αντικαρκινική δράση.....	44
3.3.6	Αντιαλλεργική δράση.....	45
3.3.7	Επίδραση στα επίπεδα των λιπιδίων.....	45
3.3.8	Αντιοξειδωτική δράση.....	46
3.4	Λευκό έναντι Κόκκινο.....	51

Κεφάλαιο 4^ο : Σκοπός.....55

Κεφάλαιο 5^ο : Πειραματικές Μέθοδοι

5.1	Εκχύλιση ολικών λιποειδών κατά Blight-Dyer.....	56
5.2	Κατανομή κατά αντιρροή.....	57
5.3	Μέθοδος διαχωρισμού των διαφορετικών φαινολικών κλασμάτων.....	58
5.4	Προσδιορισμός φαινολικών.....	59
5.5	Εκκαθάριση ελεύθερων ριζών DPPH.....	60
5.6	Μέθοδος υπεροξειδωσης λιποειδών παρουσία σιδήρου.....	62

Κεφάλαιο 6^ο : Αποτελέσματα

6.1	Δείγματα.....	65
6.2	Εκχύλιση ολικών λιποειδών (TL) και διαχωρισμός τους σε ουδέτερα και πολικά.....	65
6.3	Διαχωρισμός διαφορετικών κλασμάτων κρασιού ανάλογα με το φαινολικό τους περιεχόμενο.....	68
6.4	Προσδιορισμός ολικών φαινολικών στα διάφορα κλάσματα κρασιού.....	71
6.5	Αποτελέσματα DPPH.....	73
6.5.1	Επιδράσεις προτύπων ενώσεων στην εκκαθάριση των ελεύθερων ριζών του DPPH.....	80
6.6	Αποτελέσματα υπεροξειδωσης λιποειδών παρουσία σιδήρου.....	81
6.6.1	Επιδράσεις προτύπων ενώσεων στην αναστολή της οξειδωσης του λινελαϊκού	83

Κεφάλαιο 7^ο : Συζήτηση.....	85
Περίληψη.....	91
Summary.....	93
Βιβλιογραφία.....	95

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

AA	Αραχιδονικό οξύ
ACAT2	Ακυλο- συνένζυμο ακυλοτρανσφεράση χοληστερόλη
Apo-	Απολιποπρωτεΐνες
ATP	Τριφωσφορική αδενοσίνη
BHA	Βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη
BHT	Βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο
c AMP	Κυκλική τριφωσφορική αδενοσίνη
CaCo-2	Καρκινικά κύτταρα παχέος εντέρου
CE	Εστέρες χοληστερόλης
CLA	Συζευγμένο λινελαϊκό οξύ
COX	Κυκλοξυγενάση
DHEA	Υπεροξειδάση της δισμουτάσης
DNA	Δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ
DPPH	1,1 διφαινυλο-2-πικρυλ-υδραζύλιο
EDGF	Ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας
EtOAc	Οξικός αιθυλεστέρας
HDL	Λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας
Hep G- 2	Ηπατοκύτταρα
HETE	Υδροξύ- 6,8,11,14 εικοσανοϊκό οξύ
ICAM	Ενδοκυτταρικό μόριο προσκόλλησης
IL-	Ιντερλευκίνη
INF	Ιντερφερόνη
L- DOPA	Λεβοντόπα
LDL	Λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας
LOX	Λιποξυγενάση
LPL	Λιποπρωτεϊνική λιπάση
MDA	Μηλονηλοαλδεϋδη
MPP	Μεταλλοπρωτεϊνάσες
MTP	Πρωτεΐνωση μεταφοράς μικροσωμικών λιποειδών
NADRH	Αναχθέν φωσφορικό νικοτιναμίδο-αδένινο νουκλεοτίδιο
NL	Ουδέτερα λιποειδή
ORAC	Ικανότητα απορρόφησης οξυγόνου αντιδραστηρίων
PABA	Π- αμινοβενζοϊκό οξύ
PAF	Παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων
PG-	Προσταγλαδίνες
PL	Πολικά λιποειδή
RNS	Ενεργές ρίζες αζώτου
ROS	Ενεργές ρίζες οξυγόνου

SOD	S- Τρανσφεράση της γλουταθειόνης
SP-A	Επιφανειοδραστικός παράγοντας πνεύμονα
TBA	2- Θειοβαρβιτουρικό
TBARS	Ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ
TCA	Τριχλωροξικό οξύ
TL	Ολικά λιποειδή
TL-	Λευκοτριένια
TNF	Παράγοντας νέκρωσης όγκων
Tris	Τρι- υδοξυλαμινομεθάνιο
TX-	Θρομβοξάνια
VCAM	Ενδοκυτταρικό μόριο προσκόλλησης
VEGE	Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας
VLDL	Λιποπρωτεΐνη πολύ χαμηλής πυκνότητας
Λινελαϊκό	Cis- Δ9, Δ12- δεκαοκταδιενοϊκό
ΔΜΣ	Δείκτης μάζας σώματος

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1^ο: Η Μεσογειακή Διατροφή

1.1 Τι είναι η Μεσογειακή Δίαιτα

Ο όρος Μεσογειακή Διατροφή αντικατοπτρίζει τις τυπικές διατροφικές συνήθειες των κατοίκων της Μεσογείου. Τα διάφορα διαιτητικά μοντέλα που επικρατούν στις περιοχές της Μεσογείου έχουν πολλά κοινά χαρακτηριστικά. Έτσι παρά το ότι κάθε μια από αυτές τις περιοχές έχει τις δικές της διατροφικές συνήθειες, αυτά τα κοινά χαρακτηριστικά μας επιτρέπουν να τις θεωρήσουμε ως παραλλαγές μιας και μοναδικής οντότητας, της Μεσογειακής διατροφής. Βασίζεται στην απλή παρασκευή εύγευστων πιάτων χάρη στην ευρεία γκάμα προϊόντων που παράγονται σε αυτές τις χώρες όπως ελαιόλαδο, φρούτα, λαχανικά, κρασί κ.α.^[1]

Η Ελληνική εκδοχή της Μεσογειακής Διατροφής αποτελείται από προϊόντα που παράγονται στην Ελλάδα και διαμόρφωσαν τις διατροφικές συνήθειες των Ελλήνων από την αρχαιότητα μέχρι σήμερα. Τα γεύματα περιλαμβάνουν μεγάλες ποσότητες ψωμιού ολικής άλεσης, πλούσια σε ελαιόλαδο μαγειρεμένα φαγητά και σαλάτες. Τα όσπρια, τα λαχανικά και το ψάρι κατέχουν κυρίαρχη θέση στην Ελληνική διατροφή, ενώ το κρέας και τα γαλακτοκομικά προϊόντα καταναλώνονται σε μικρότερη κλίμακα. Επίσης μια μέτρια ποσότητα κρασιού συνοδεύει συχνά τα Ελληνικά γεύματα.

Τα τελευταία πενήντα χρόνια, ως αποτέλεσμα εργασιών πολλών ερευνητών απ' όλα τα σημεία του κόσμου, έχει εμφανιστεί στο παγκόσμιο προσκήνιο μια ομόφωνη διεθνής επιστημονική άποψη ότι η παραδοσιακή διατροφή των χωρών της Μεσογείου είναι πιο υγιής από τις δίαιτες του δυτικού πολιτισμού^[1,2].

1.1.1 Τρόφιμα Μεσογειακής Διατροφής^[3,4]

Η μεσογειακή διατροφή είναι πλούσια σε φρούτα και λαχανικά και περιλαμβάνει ζυμαρικά, ψωμί, δημητριακά, ρύζι και πατάτες, πουλερικά και ψάρια, γαλακτοκομικά προϊόντα, μερικά πολύ λίγο επεξεργασμένα εποχιακά τρόφιμα και ελάχιστο κρέας. Περιλαμβάνει όμως δύο βασικά συστατικά: το ελαιόλαδο που είναι η κύρια πηγή λίπους και το κρασί. Η ημερήσια πρόσληψη γαλακτοκομικών γίνεται κυρίως με τη μορφή τυριού ή γιαουρτιού. Το πιο συνηθισμένο επιδόρπιο είναι τα φρούτα εποχής. Τα γλυκά καταναλώνονται λίγες φορές την εβδομάδα, ενώ πολλές φορές τη θέση της ζάχαρης παίρνει το μέλι. Το κόκκινο κρέας είναι σχεδόν απαγορευμένο και

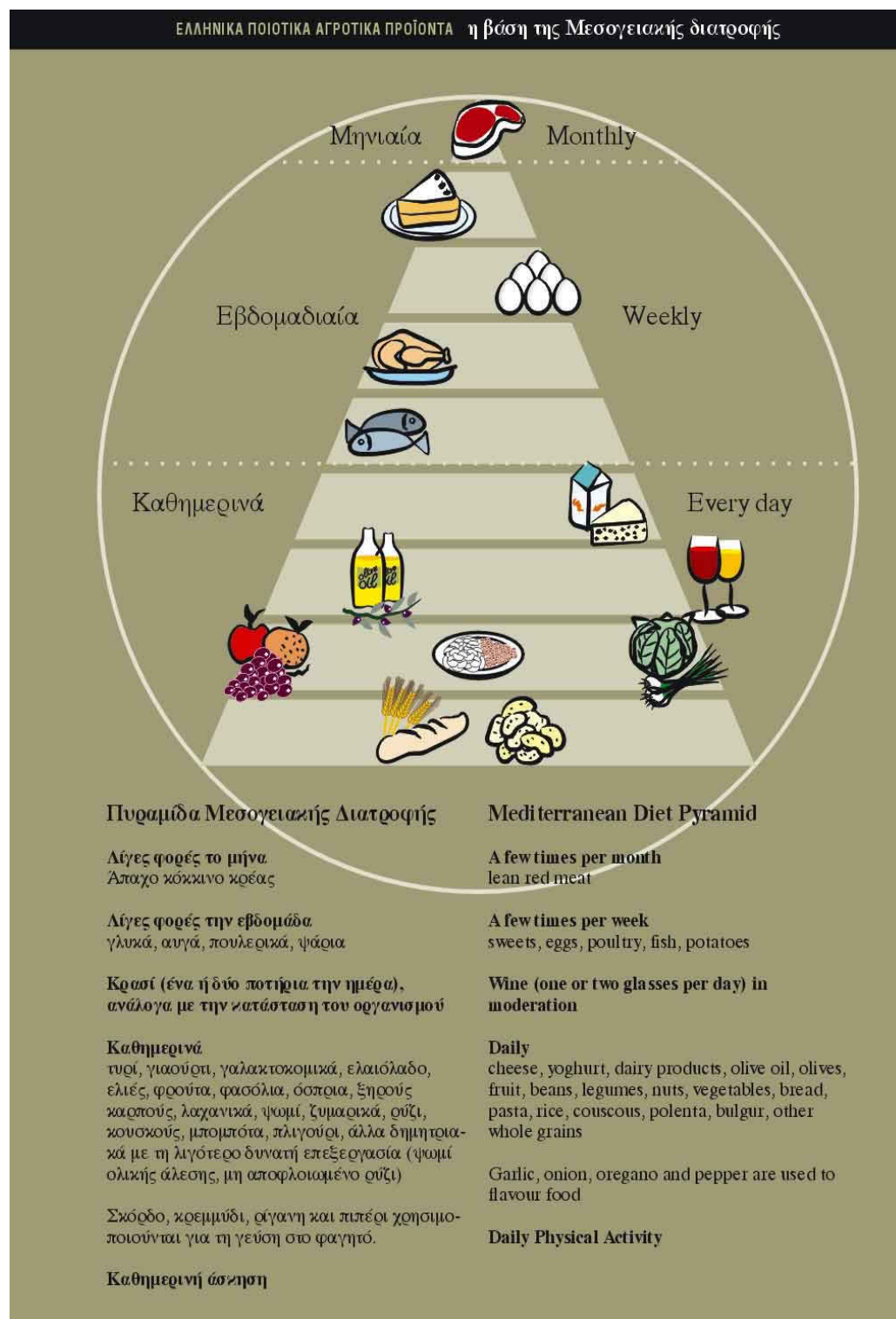
καταναλώνεται λίγες φορές το μήνα και σε μικρές ποσότητες, σε αντίθεση με το κοτόπουλο και το ψάρι που καταναλώνονται κάθε εβδομάδα. Τέλος πολύ συχνή είναι και η κατανάλωση κρασιού (ένα με δύο ποτηράκια την ημέρα). Μπορεί να θεωρηθεί ότι η Μεσογειακή δίαιτα αποτελείται από οκτώ συστατικά μέρη:

- 1) Υψηλή αναλογία μονοακόρεστων προς κορεσμένα λιπαρά
- 2) Υψηλή κατανάλωση οσπρίων
- 3) Υψηλή κατανάλωση ψαριών
- 4) Υψηλή κατανάλωση δημητριακών
- 5) Υψηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών
- 6) Μέτρια κατανάλωση γάλακτος και προϊόντων γάλακτος
- 7) Χαμηλή κατανάλωση κρέατος και προϊόντων κρέατος
- 8) Μέτρια κατανάλωση αιθανόλης

1.1.2 Η Μεσογειακή Πυραμίδα

Τα βασικά χαρακτηριστικά της Μεσογειακής Δίαιτας απεικονίζονται σχηματικά με την αντίστοιχη Διατροφική Πυραμίδα (Εικόνα 1.1). Πρόκειται για μια γραφική αναπαράσταση των ποσοτήτων των διαφόρων συστατικών της δίαιτας με τη μορφή πυραμίδας που σχεδίασε τον Ιανουάριο του 1993, μια επιτροπή πανεπιστημιακών και ερευνητών, στην Μασσαχουσέτη των ΗΠΑ.

Η Μεσογειακή Πυραμίδα σχεδιάστηκε ως ένας διατροφικός οδηγός για το γενικό ενήλικο πληθυσμό, ώστε να παρέχει μια γενική ιδέα για τις σχετικές ποσότητες και τη συχνότητα κατανάλωσης των αντίστοιχων ομάδων τροφίμων και να δώσει μια ευρεία αίσθηση των υγιεινών διατροφικών επιλογών^[5].

Εικόνα 1.1 : Πυραμίδα Μεσογειακής Διατροφής^[6]

Αναλυτικότερα οι συστάσεις των ομάδων τροφίμων της Μεσογειακής διατροφής παρουσιάζονται στον πίνακα 1.1.

Πίνακας 1.1: Συστάσεις Μεσογειακής Διατροφής

	<i>Ομάδα τροφίμων</i>	<i>Συστάσεις</i>
<i>Καθημερινή κατανάλωση</i>	Δημητριακά & προϊόντα ολικής άλεσης (ψωμί, ρύζι, ζυμαρικά)	6-8 μικρομερίδες*
	Λαχανικά	4-6 μικρομερίδες
	Φρούτα	2-3 μικρομερίδες
	Ελαιόλαδο	ως κύριο προστιθέμενο λίπος
	Γαλακτοκομικά προϊόντα και τυρί	2-3 μικρομερίδες
	Κρασί	1-2 ποτηράκια
<i>Εβδομαδιαία κατανάλωση</i>	Ψάρια	5-6 μικρομερίδες
	Πουλερικά	3-4 μικρομερίδες
	Ελιές, όσπρια και καρύδια	3-4 μικρομερίδες
	Πατάτες	4-5 μικρομερίδες
	Αυγά και γλυκά	1-3 μικρομερίδες
<i>Μηνιαία κατανάλωση</i>	Κόκκινο κρέας και προϊόντα κρέατος	4-5 μικρομερίδες

*Μια μικρομερίδα αντιστοιχεί περίπου στο μισό της μερίδας του εστιατορίου

Πρέπει να προστεθεί επίσης ότι συστήνεται περιορισμένη κατανάλωση αλατιού και αντικατάστασή του με άλλα μυρωδικά όπως ρίγανη, βασιλικός και θυμάρι. Η ακριβής ποσότητα και ο ρυθμός κατανάλωσης των τροφίμων της κάθε ομάδας εξαρτάται από το βάρος, το ύψος και την ηλικία του κάθε ατόμου. Εκτός από τη σωστή και υγιεινή διατροφή είναι απαραίτητη και η καθημερινή φυσική δραστηριότητα (30 λεπτά περπάτημα μέτριας έντασης κάθε μέρα), για την προαγωγή της υγείας^[7].

1.1.3 Η θέση του κρασιού στη Μεσογειακή Διατροφή

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

Τα πρώτα αμπέλια εμφανίστηκαν στις πολικές περιοχές (Ισλανδία) και εν συνεχεία στις θερμότερες ζώνες (Μεσοποταμία), ενώ οι πρώτοι αμπελουργοί θεωρούνται οι Πέρσες. Ο ‘δρόμος’ του κρασιού άνοιξε νωρίς και εξαπλώθηκε σταδιακά σε όλα τα μήκη και πλάτη της γης. Πρώτος ο Ιπποκράτης αναγνώρισε τις ευεργετικές ιδιότητες του κρασιού στην υγεία, χρησιμοποιώντας το ως θεραπευτικό μέσο. Στα παλαιότερα χρόνια χρησιμοποιήθηκε ως αντισηπτικό τραυμάτων, καταπραϋντικό, υπνωτικό και διεγερτικό της όρεξης.

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

Πολλά χρόνια τώρα το κρασί κατέχει ιδιαίτερη θέση στις διατροφικές συνήθειες των κατοίκων της Μεσογείου. Στον πίνακα 1.2 παρουσιάζεται η ετήσια και ημερήσια κατανάλωση κρασιού ανά κάτοικο σε χώρες της Ευρώπης και της Αμερικής, στις μέρες μας.

Στον πίνακα αυτό παρατηρούμε ότι η ημερήσια κατανάλωση κρασιού ανά κάτοικο στη Γαλλία , Ισπανία , Ιταλία και Πορτογαλία είναι μεταξύ 118 και 236 ml δηλαδή 1-2 ποτηράκια την ημέρα ενώ στην Ελλάδα πλησιάζει το ένα. Αντίθετα στις Βόρειες χώρες της Ευρώπης αλλά και στις Η.Π.Α. η ημερήσια κατανάλωση είναι πολύ χαμηλότερη από τον μέσο όρο της συνιστώμενης κατά το Μεσογειακό πρότυπο διατροφής και δεν ξεπερνάει το μισό ποτηράκι κρασί την ημέρα^[8].

Πίνακας 1.2 : Κατανάλωση κρασιού ανά κάτοικο χωρών της Ευρώπης και Αμερικής

<i>Χώρα</i>	<i>Ετήσια κατανάλωση ανά κάτοικο (lit)</i>	<i>Ημερήσια κατανάλωση ανά κάτοικο (ml)</i>
Ισπανία	86	236
Γαλλία	75	205
Ιταλία	72	197
Πορτογαλία	60	165
Ελλάδα	34	94
Γερμανία	27	74
Βέλγιο	18	49
Ολλανδία	14	38
Η. Βασίλειο	10	27
Η.Π.Α.	10	27

Πολλές μελέτες έχουν συσχετίσει την ισορροπημένη κατανάλωση κρασιού με τη μείωση των καρδιαγγειακών επεισοδίων και καρκινογενέσεων. Διάφορες έρευνες απέδειξαν ότι το κρασί επιδρά στη βελτίωση της στομαχικής λειτουργίας, εμποδίζει τη δημιουργία χολόλιθων, βοηθά στη γονιμότητα, διευκολύνει την κυκλοφορία του αίματος στους ιστούς, δρα ως αντιφλεγμονώδες, αντιοξειδωτικό, αντισηπτικό και αυξάνει την αντίσταση στη γρίπη. Ακόμη, προκαλεί ευεξία, καλή ποιότητα ζωής, μακροζωία και μικρότερη συχνότητα θανάτου από όλες τις αιτίες κατά 10-20% [9,10,11,12]

1.2 Επιδημιολογικές μελέτες που σχετίζονται με τη Μεσογειακή Διατροφή

Η θετική επίδραση που ασκεί η Μεσογειακή Διατροφή στην πρόληψη καρδιαγγειακών συμβάντων, διάφορων τύπων κακοηθειών και άλλων νοσημάτων έχει τεκμηριωθεί επιστημονικά εδώ και πολλά χρόνια. Στις αρχές της δεκαετίας του '60 ξεκίνησε μια έρευνα της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας, γνωστή ως η μελέτη των επτά χωρών, με στόχο την εξέταση των διατροφικών συνηθειών ανθρώπων από 7 διαφορετικές χώρες (Ελλάδα, Ιταλία, Ιαπωνία, Η.Π.Α., Γιουγκοσλαβία, Ολλανδία, Φιλανδία). Η έρευνα διήρκεσε 30 χρόνια και πήραν μέρος περίπου 13.000 άτομα ηλικίας 40-59 ετών. Τα αποτελέσματα της έδειξαν ότι οι άνθρωποι που ζούσαν στις μεσογειακές χώρες και κυρίως στην Ελλάδα, εμφάνιζαν τα μικρότερα ποσοστά θνησιμότητας από καρκίνο και στεφανιαία νόσο και είχαν το μεγαλύτερο μέσο όρο ζωής σε σχέση με τους κατοίκους των άλλων χωρών. Προσπαθώντας οι επιστήμονες

να ανακαλύψουν το μυστικό, οδηγήθηκαν στο συμπέρασμα ότι ο ιδιαίτερος και φυσικός τρόπος ζωής τους (εργασία στην ύπαιθρο, αυξημένη φυσική δραστηριότητα), αλλά και η απλή και λιτή διατροφή τους, η οποία είναι παγκοσμίως γνωστή ως Μεσογειακή Διατροφή, ήταν η αιτία αυτού του φαινομένου. Η μελέτη αυτή ήταν η πρώτη που διεξάχθηκε και έστρεψε το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών στη διερεύνηση της σχέσης της διατροφής των κατοίκων των Μεσογειακών χωρών με τις επιπτώσεις διάφορων νοσημάτων^[13].

Μια άλλη επιδημιολογική έρευνα η European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) έλαβε χώρα μεταξύ των ετών 1994-1999. Στο σύνολο μελετήθηκαν 28.000 άτομα 20-86 ετών από όλες τις περιοχές της Ελλάδας. Για να εκτιμηθεί ο βαθμός υιοθέτησης της Μεσογειακής Διατροφής από τους συμμετέχοντες της μελέτης, κατασκευάστηκε μια ειδική κλίμακα από την Τριχοπούλου και τους συνεργάτες της. Η υψηλότερου βαθμού υιοθέτηση της Μεσογειακής Διατροφής σχετιζόταν με μείωση της ολικής θνησιμότητας και συγκεκριμένα μια αύξηση κατά 2 βαθμούς στο διατροφικό σκορ σχετιζόταν με 25% μείωση της ολικής θνησιμότητας^[14].

Στην έρευνα GISSI – Prevenzione εξετάστηκε αν οι απλές διαιτητικές συμβουλές για την αύξηση της κατανάλωσης Μεσογειακών τροφίμων μπορούν να οδηγήσουν σε μειωμένη θνησιμότητα μετά από ένα έμφραγμα του μυοκαρδίου. Στο σύνολο των 11.322 ανδρών και γυναικών με έμφραγμα του μυοκαρδίου δόθηκαν συμβουλές για να αυξήσουν την κατανάλωση ψαριών, φρούτων, ωμών και βραστών λαχανικών και ελαιολάδου. Στα επόμενα 6,5 χρόνια οι εξεταζόμενοι γενικά βελτίωσαν τη διαίτα τους περιλαμβάνοντας όλα τα παραπάνω τρόφιμα που βρέθηκε ότι σχετιζόταν με σημαντική μείωση του κινδύνου θανάτου^[15].

Σε μια άλλη προσπάθεια να εκτιμηθούν τα επίπεδα ορισμένων παραγόντων κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων στην Ελλάδα, διεξήχθη η πληθυσμιακή έρευνα υγείας και διατροφής, η μελέτη ΑΤΤΙΚΗ που έλαβε χώρα από 5/2001-12/2002. Η συμμόρφωση των εξεταζόμενων με τη Μεσογειακή Διατροφή εκτιμήθηκε βάση ενός σκορ βασισμένο στα συστατικά της Μεσογειακής Πυραμίδας που μπορεί να είναι είτε θετικό είτε αρνητικό. Υψηλό σκορ σήμαινε συμμόρφωση με μια Μεσογειακού τύπου διατροφή ενώ χαμηλό σήμαινε συμμόρφωση με μια Δυτικού τύπου. Τα συμπεράσματα της μελέτης όσον αφορά την προσκόλληση των εξεταζόμενων στο Μεσογειακό Πρότυπο Διατροφής συνοψίζονται παρακάτω:

1. Ο συνδυασμός Μεσογειακής Διατροφής με φαρμακευτική αγωγή σε άτομα που πάσχουν από υπερλιπιδαιμίες οδήγησε στη μείωση των επιπέδων της ολικής χοληστερόλης κατά 9%, σε 19% χαμηλότερα επίπεδα LDL χοληστερόλης και 32% χαμηλότερα επίπεδα οξειδωμένης LDL χοληστερόλης σε σχέση με αυτούς που είχαν υιοθετήσει τη δυτικού τύπου διατροφή και δε λάμβαναν φάρμακα.
2. Ο συνδυασμός Μεσογειακής Διατροφής με μέτρια φυσική δραστηριότητα σχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης μεταβολικού συνδρόμου.
3. Η υιοθέτηση του Μεσογειακού τύπου Διατροφής συσχετίστηκε με 26% μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης υπέρτασης και με 36% αυξημένη πιθανότητα καλύτερου ελέγχου της αρτηριακής πίεσης για τους υπέρτασικούς.
4. Οι συμμετέχοντες που ακολουθούσαν τη Μεσογειακή Διατροφή είχαν 20% χαμηλότερα επίπεδα της C- αντιδρώσας πρωτεΐνης, 17% χαμηλότερα επίπεδα ιντερλευκίνης-6, 15% χαμηλότερα επίπεδα ομοκυστεΐνης, 14% χαμηλότερα επίπεδα ολικών λευκών αιμοσφαιρίων και 6% χαμηλότερα επίπεδα ινωδογόνου, συγκρινόμενοι με αυτούς που ακολουθούσαν δυτικού τύπου διατροφή. Οι ερευνητές συμπέραναν ότι η Μεσογειακή Διατροφή σχετίζεται με μείωση των φλεγμονωδών και θρομβωτικών δράσεων και αυτό μπορεί να εξηγήσει εν μέρει την ωφέλιμη επίδρασή της στο καρδιαγγειακό σύστημα ^[16].

Σύγχρονη μελέτη του Πανεπιστημίου του Δουβλίνου κατέληξε ότι η Μεσογειακή Διατροφή, έχει θετικά αποτελέσματα στο μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιποειδών σε ασθενείς που πάσχουν από διαβήτη τύπου 2 ^[6].

Τέλος, πρόσφατη μεγάλη έρευνα της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και της Σχολής Δημόσιας Υγείας του Χάρβαρντ επιβεβαιώνει ότι η μεσογειακή διατροφή παρατείνει τη ζωή και προστατεύει από τις καρδιοπάθειες και τον καρκίνο ^[6].

1.2.1 Ενεργητικές δράσεις τροφίμων της Μεσογειακής Διατροφής στην Υγεία^[17,18]

Ιδιαίτερη θέση στην πυραμίδα της μεσογειακής διατροφής καταλαμβάνουν ομάδες τροφίμων όπως τα δημητριακά, τα φρούτα, τα λαχανικά, το ελαιόλαδο, τα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα ψάρια και το κρασί.

Τα **δημητριακά** προμηθεύουν τον οργανισμό με την απαραίτητη ενέργεια αφού αποτελούνται μόνο από υδατάνθρακες. Τα ολικής άλεσης προϊόντα είναι πλούσια σε

φυτικές ίνες απαραίτητες στην καθημερινή διατροφή του ανθρώπου, αυξάνοντας τη διάρκεια ζωής και μειώνοντας τους κινδύνους καρδιακών προσβολών και εγκεφαλικών επεισοδίων^[19].

Τα **φρούτα και τα λαχανικά** είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικές βιταμίνες (βιταμίνες C, E, β-καροτένιο), διαιτητικές ίνες καθώς και φαινολικές ενώσεις. Ακόμη, η μεσογειακή διατροφή περιλαμβάνει την κατανάλωση βοτάνων, αρωματικών φυτών και μπαχαρικών τα οποία είναι επίσης πλούσια σε φαινολικές ενώσεις. Πολλές έρευνες έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι οι φυτικές ίνες συμβάλλουν στην μείωση του κινδύνου για καρκίνο του παχέος εντέρου, στην καλύτερη υγεία και μακροζωία, με μείωση των εμφραγμάτων του μυοκαρδίου. Επίσης στα περισσότερα λαχανικά περιέχεται φυλλικό οξύ που σε επαρκής ποσότητες και σε συνδυασμό με τις βιταμίνες B6 και B12 μπορεί να μειώσει τα επίπεδα ομοκυστεΐνης, παρέχοντας προστασία από τον κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου και βαθιών φλεβικών θρομβώσεων^[20, 21, 22].

Το **ελαιόλαδο** ασκεί ευεργετική δράση στη πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων λόγω της περιεκτικότητας του (περίπου 2%) σε αντιοξειδωτικές ουσίες όπως τοκοφερόλες, καροτενοειδή, φαινολικά συστατικά. Επίσης περιέχει μονοακόρεστα λιπαρά οξέα που αυξάνουν στο αίμα την HDL χοληστερόλη ενώ μειώνουν την LDL χοληστερόλη. Ακόμα υπάρχουν δεδομένα που δείχνουν ότι τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα που περιέχει μειώνουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, αυξάνουν το χρόνο ροής του αίματος και προάγουν τη διάλυση των θρόμβων. Μελέτη από το Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης αποδεικνύει ότι το ελαιόλαδο μειώνει τον κίνδυνο καρκίνου του μαστού, του προστάτη και του παχέος εντέρου^[23].

Στο ελαιόλαδο επίσης έχουν βρεθεί πολικά λιποειδή τα οποία αναστέλλουν *in vitro* την συσσώρευση των αιμοπεταλίων και σε *in vivo* πειράματα σε υπερλιπιδαιμικά κουνέλια έχει βρεθεί ότι μειώνουν το πάχος της αθηρωματικής πλάκας^[24, 25].

Η κατανάλωση **ψαριού** συνδέεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου, στη μείωση της εμφάνισης των θρομβώσεων και των επιπέδων των τριγλυκεριδίων πιθανόν λόγω της επίδρασης των ω-3 λιπαρών οξέων που περιέχει. Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα που περιέχονται στα ψάρια έχουν την ιδιότητα να μειώνουν τη χοληστερόλη αίματος και τον κίνδυνο δημιουργίας αθηρωματικών πλακών, ενώ εμφανίζουν και αντιπηκτική δράση που μειώνει τον κίνδυνο θρόμβωσης και απόφραξης των στεφανιαίων αγγείων. Έρευνες επίσης ισχυρίζονται ότι εκτός από

τις παραπάνω δράσεις, τα ψάρια μπορούν να δράσουν ως αντιοξειδωτικά, ως αντιφλεγμονώδεις παράγοντες και ότι μπορούν να μειώσουν την αρτηριακή πίεση και τις καρδιακές αρρυθμίες ^[26, 27].

Επιπλέον συστατικά που έχουν βρεθεί στα ψάρια εκτός των λιπαρών οξέων, έχουν δείξει να αναστέλλουν την προκαλούμενη από τον PAF συσσώρευση των αιμοπεταλίων ^[28].

Σύμφωνα με την πυραμίδα της Μεσογειακής Διατροφής συστήνεται η μέτρια κατανάλωση **γαλακτοκομικών προϊόντων** και **τυριού** τα οποία είναι πλούσια σε ασβέστιο και πρωτεΐνη υψηλής βιολογικής αξίας. Παρόλα αυτά η κατανάλωσή τους δε πρέπει να ξεπερνά τα συνιστώμενα όρια διότι περιέχουν υψηλές ποσότητες κορεσμένων λιπαρών που σχετίζονται με αύξηση του κινδύνου για δημιουργία αθηροσκλήρωσης ^[29, 30].

Πολλές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί και στο **κρασί** και παρουσιάζονται πιο αναλυτικά στο 3^ο κεφάλαιο.

Πίνακας 1.3: Ευεργετικά συστατικά της Μεσογειακής Διατροφής και πηγές τους ^[18].

ΤΡΟΦΙΜΟ	ΔΡΑΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ
<i>Φρούτα και λαχανικά</i>	
Σταφύλια	Πολυφαινόλες, βιταμίνες
Εσπεριδοειδή	Πολυφαινόλες, βιτ.C, β-καροτένιο
Ντομάτα	Λυκοπένιο, βιταμίνες
Πράσινα φυλλώδη λαχανικά	βιταμίνες, φυλλικό οξύ, Κάλιο, Mg, Cu, Se
<i>Καρποί και έλαια</i>	
Ελαιόλαδο	Τοκοφερόλη, φαινολικά συστατικά, λιποειδή
Σουσάμι	Τοκοφερόλη, βιταμίνες
Ξηροί καρποί	Φαινολικά συστατικά, απαραίτητα λιπαρά οξέα
<i>Δημητριακά & όσπρια</i>	
Ρύζι	Πολυφαινόλες
Κριθάρι	Φυτικές ίνες, βιταμίνες

Εμπλουτισμένο ψωμί	Φυτικές ίνες, φυλλικό οξύ,
όσπρια	Φυτικές ίνες, φαινολικά οξέα, ταννίνες
<i>Ψάρια</i>	ω3, ω6 λιπαρά οξέα, βιτ.D
<i>Γαλακτοκομικά</i>	Ασβέστιο, βιτ.D, φώσφορος
<i>Κρασί</i>	Πολυφαινόλες, λιποειδή

1.3 Επιδημιολογικές μελέτες σχετικές με κατανάλωση αλκοόλ και κρασιού

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η Μεσογειακή Πυραμίδα συστήνει μέτρια κατανάλωση κρασιού (118-236 ml ημερησίως). Ισοδύναμη περιεκτικότητα αλκοόλ με αυτή της συνιστώμενης ποσότητας κρασιού (~120 ml) περιέχεται σε 335 ml μύρας, σε 60-90 ml τσίπουρου και ούζου καθώς και σε 30-45 ml πιο δυνατών αλκοολούχων ποτών (40% v/v) ^[23, 31].

Επιδημιολογικές μελέτες τα τελευταία χρόνια έχουν αποδείξει ότι η καθημερινή πρόσληψη 15-25 ml αλκοόλης συνδέεται με μείωση του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου, εμφράγματος του μυοκαρδίου και της θνησιμότητας που συνοδεύει αυτές τις ασθένειες. Αν και έχουν περιγραφεί αρκετοί μηχανισμοί οι οποίοι ενδεχομένως εμπλέκονται ή υπεισέρχονται στο τρόπο δράσης του οινοπνεύματος, όπως η αύξηση της HDL, η μείωση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων και αύξηση της ινοδωνόλυσης, αρκετοί ερευνητές αποδίδουν αυτή την ευεργετική δράση στο κρασί και όχι στα άλλα αλκοολούχα ποτά. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του κρασιού και όχι στη δράση του αλκοόλ αυτή καθαυτή. Το γεγονός αυτό γίνεται περισσότερο κατανοητό από μελέτες που εξέτασαν την επίδραση του κρασιού χωρίς αλκοόλ στους παράγοντες κινδύνου της αθηρογένεσης. Διαπιστώθηκε πως τα αποτελέσματα ήταν καλύτερα μετά τη κατανάλωση κρασιού χωρίς αλκοόλ σε σύγκριση με κρασί με αλκοόλ και με άλλα αλκοολούχα ποτά ^[32, 33, 23].

Ένας από τους λόγους που οι επιστήμονες έστρεψαν το ενδιαφέρον τους στο κρασί και τις επιδράσεις του στην υγεία του ανθρώπου ήταν το ‘Γαλλικό παράδοξο’. Ενώ οι Γάλλοι καταναλώνουν αρκετά λιπαρά τρόφιμα και η διατροφή τους είναι υψηλή σε χοληστερόλη, έχουν χαμηλά επίπεδα καρδιακών νοσημάτων. Διάφορες μελέτες που έγιναν για το παράδοξο αυτό συμπέραναν ότι η μέτρια κατανάλωση κρασιού με ένα ή δύο ποτήρια κόκκινο κρασί την ημέρα, που είναι πολύ διαδεδομένη

συνήθεια στη Γαλλία, είναι ο κύριος λόγος για το φαινόμενο αυτό. Μεταγενέστερες έρευνες έδειξαν ότι αυτοί που έχουν μια μέτρια κατανάλωση κρασιού είναι υγιέστεροι απ' αυτούς που πίνουν άλλα αλκοολούχα ποτά ή δεν πίνουν καθόλου. Επίσης φάνηκε ότι η μέτρια κατανάλωση οίνου συσχετίστηκε με λιγότερο κίνδυνο για ορισμένες ασθένειες όπως τα εγκεφαλικά επεισόδια, καρκίνο του πνεύμονα, καρκίνο του άνω πεπτικού συστήματος και μικρότερη συχνότητα θανάτου ^[34].

Μια νεότερη έρευνα σε μια ιδιόμορφη ομάδα ασθενών πολύ ψηλού κινδύνου για καρδιακά προβλήματα, τεκμηρίωσε με αντικειμενικά ευρήματα τις ευεργετικές δράσεις για την καρδιά που έχει το κόκκινο κρασί. Συγκεκριμένα, Αυστραλοί γιατροί μελέτησαν 350 παχύσαρκους ασθενείς, άνδρες και γυναίκες (Δείκτης Μάζας Σώματος μεγαλύτερος από 35). Εξέτασαν την κατανάλωση σε κρασί και άλλα αλκοολούχα ποτά που είχαν οι ασθενείς αυτοί και μέτρησαν στο αίμα τους την ομοκυστεΐνη. Η ομοκυστεΐνη είναι ένα αμινοξύ του οποίου οι αυξημένες συγκεντρώσεις, είναι βλαβερές για το καρδιαγγειακό σύστημα. Τα ψηλά επίπεδα του αμινοξέως αυτού συσχετίζονται με απώλεια μνήμης, με καρδιακά και εγκεφαλικά επεισόδια. Επίσης τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης μέσα στο αίμα αυξάνονται με την ηλικία και έχουν συσχετισθεί με την αιτιολογία της ασθένειας του Alzheimer. Τα ευρήματα των Αυστραλών γιατρών έδειξαν ότι μεταξύ των παχύσαρκων ασθενών, αυτοί οι οποίοι είχαν μια μέτρια κατανάλωση κόκκινου κρασιού, είχαν επίπεδα ομοκυστεΐνης αίματος που ήταν 17% χαμηλότερα από αυτούς που δεν κατανάλωναν αλκοόλ. Αυτοί οι οποίοι κατανάλωναν άλλα αλκοολούχα ποτά, είχαν επίπεδα ομοκυστεΐνης που ήταν 13% χαμηλότερα από αυτούς που δεν έπιναν καθόλου αλκοόλ. Τα χαμηλότερα επίπεδα ομοκυστεΐνης παρατηρούνταν σε άτομα που έπιναν μέχρι 100 γραμμάρια κρασιού (6 έως 8 ποτήρια) εβδομαδιαίως. Η μείωση των επιπέδων της ομοκυστεΐνης που προκαλεί το κρασί μειώνει τον κίνδυνο για καρδιακά αγγειακά επεισόδια στους παχύσαρκους ασθενείς. Βέβαια τα νοσηρά υψηλά επίπεδα της ομοκυστεΐνης μειώνονται όχι μόνο από το κρασί αλλά και από το φυλλικό οξύ, τη βιταμίνη B12 και τη βιταμίνη B6, σημαντικά μικροθρεπτικά συστατικά που περιέχονται στα τρόφιμα της Μεσογειακής Διατροφής ^[35].

Μια ακόμη έρευνα που έγινε στη Βοστώνη έδειξε ότι σε ασθενείς που πάσχουν από υψηλή αρτηριακή πίεση, η ελαφριά μέχρι μέτρια κατανάλωση αλκοόλ μειώνει τον κίνδυνο θανάτου λόγω καρδιακής ανεπάρκειας. Οι ασθενείς ήταν 14.125 άνδρες με ιστορικό υπέρτασης, χωρίς ιστορικό εμφράγματος του μυοκαρδίου, εγκεφαλικού, καρκίνου ή ηπατοπάθειας. Παρατηρήθηκε λοιπόν ότι ενώ η υπερβολική κατανάλωση

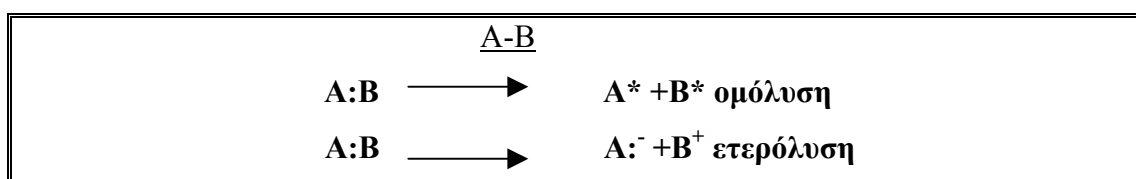
και ο αλκοολισμός είναι πηγή πολλών κακών (πονοκέφαλος, μείωση της κρίσης, μείωση της προσοχής, μείωση των αντανακλαστικών, αλλαγή της συμπεριφοράς κ.α.) η μέτρια κατανάλωση μπορεί να συνοδεύεται από θετικά αποτελέσματα ^[36].

Σε μια άλλη πολύ ενδιαφέρουσα έρευνα που διεξήχθη μεταξύ 1988-2000 (the HALE project) και μας δίνει σημαντικές πληροφορίες για το ζήτημα της μακροζωίας, γιατροί από την Ολλανδία εξέτασαν σε ηλικιωμένα άτομα το ρόλο που έπαιζαν 4 παράγοντες κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Οι 4 αυτοί παράγοντες ήταν: η Μεσογειακού τύπου Διατροφή, η αποφυγή καπνίσματος, η σωματική άσκηση 30 λεπτά καθημερινά, η εβδομαδιαία κατανάλωση αλκοόλ, περίπου 4 ποτήρια κρασιού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα άτομα που είχαν υιοθετήσει και τους τέσσερις παράγοντες είχαν 65% λιγότερες πιθανότητες να πεθάνουν από κάθε αιτία κατά τη διάρκεια των 10 ετών της έρευνας. Τα άτομα που εφάρμοσαν μόνο τη μέτρια κατανάλωση κρασιού είχαν 22% λιγότερο κίνδυνο να πεθάνουν στα 10 χρόνια της έρευνας, ενώ η Μεσογειακή Διατροφή από μόνη της μείωνε κατά 23% τον κίνδυνο θανάτου ^[37].

Κεφάλαιο 2^ο: Οξειδωτικό στρες**2.1 Μηχανισμός δράσης ελευθέρων ριζών^[38]**

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

Ελεύθερη ρίζα (free radical) ονομάζεται κάθε άτομο ή μόριο με ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο στην εξωτερική του στοιβάδα σε αντίθεση με τις μη ελεύθερες ρίζες οι εξωτερικές στοιβάδες των οποίων καλύπτονται από ζεύγη ηλεκτρονίων με αντίθετη στροφορμή. Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να προέλθουν είτε από αντιδράσεις οξειδοαναγωγής είτε από ομολυτική διάσπαση ενός ομοιοπολικού δεσμού, όπου τα ηλεκτρόνια τα οποία αποτελούσαν πριν το δεσμό μοιράζονται από ένα σε κάθε ομάδα. Αυτή η πορεία παρουσιάζεται στην εικόνα 2.1.



Εικόνα 2.1 : Ομολυτική και ετερολυτική διάσπαση ενός ομοιοπολικού δεσμού

Η πρώτη γνωστή περίπτωση που έγινε αναφορά σε αντίδραση στην οποία να εμπλέκονται ελεύθερες ρίζες ήταν από τον Fenton το 1894. Στο πείραμα του, που αναφέρεται σε αυτή τη μελέτη, περιγράφεται η δημιουργία ενός εντυπωσιακού βιολετί χρώματος μετά την ανάμειξη μιας σταγόνας δισθενούς θεικού σιδήρου με μια σταγόνα υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) σε αλκαλικό περιβάλλον. Ο καθηγητής Fenton παρατήρησε ότι η αντίδραση ήταν ασυνήθιστη και ότι ο σίδηρος αντιδρούσε καταλυτικά. Αρκετά χρόνια μετά, όταν ποια είχε εξακριβωθεί η ύπαρξη των ελευθέρων ριζών προτάθηκε ένας ακριβέστερος μηχανισμός ο οποίος συνηθίζεται να καλείται αντίδραση Fenton. Ο μηχανισμός αυτός στηρίζεται στη δημιουργία ριζών υδροξυλίου (*OH) κατά την αναγωγή του H₂O₂ όπως απλοποιημένα απεικονίζεται στην αντίδραση:



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

λειτουργιών. Αυτές μπορεί να είναι είτε δραστικές μορφές οξυγόνου είτε δραστικές μορφές αζώτου (ROS και RNS), όπως φαίνεται στον πίνακα 2.1.

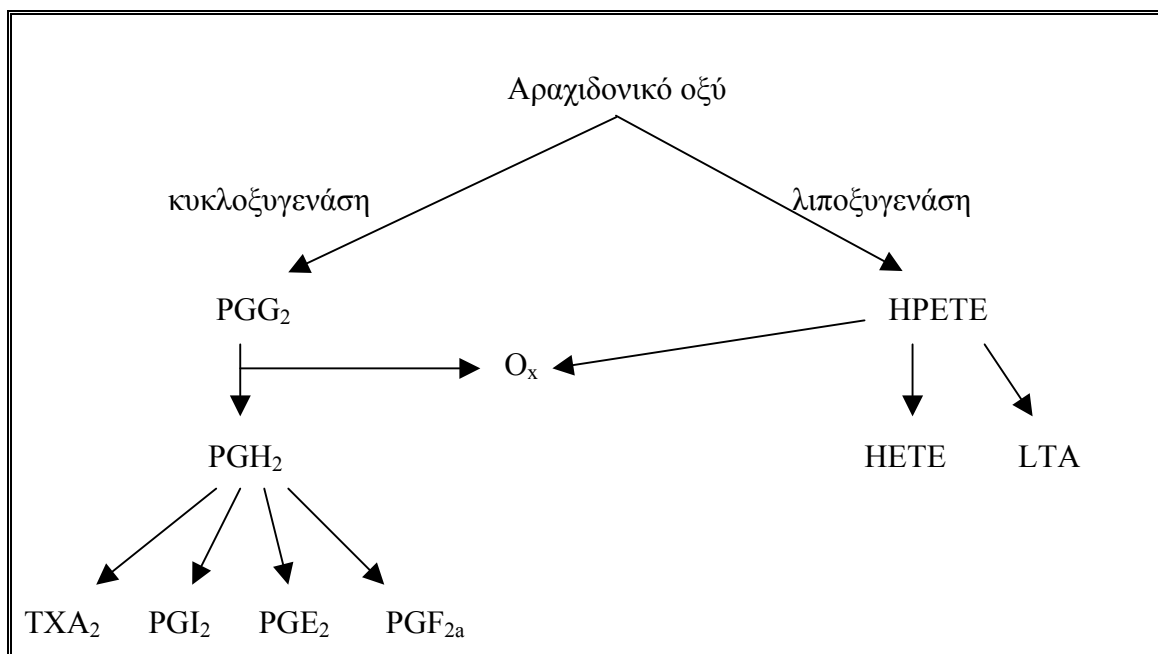
Πίνακας 2.1: Δραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου ^[39]

Ένωση	Όνομα
<i>Ελεύθερες Ρίζες</i>	
O ₂ ^{*-}	ανιόν σουπεροξειδίου
HO ₂ [*]	υδροϋπεροξειδική ρίζα
*OH	ρίζα υδροξυλίου
RO [*]	ρίζα αλκοξειδίου
ROO [*]	ρίζα υπεροξειδίου
<i>Μη ελεύθερες ρίζες</i>	
H ₂ O ₂	υπεροξείδιο του υδρογόνου
ROOH	οργανικά υπεροξείδια
O ₂	μονήρες οξυγόνο
O ₃	όζον
HClO	υποχλωριώδες οξύ
<i>Δραστικές μορφές Αζώτου</i>	
NO ₂ [*] και NO [*]	διοξείδιο και μονοξείδιο του αζώτου
ONOO ⁻	Υπεροξυνιτρώδες

Οι ελεύθερες ρίζες αναπτύσσονται ενδογενώς στον οργανισμό σε ένα σύνολο μεταβολικών διαδικασιών και αυξάνονται από εξωτερικούς παράγοντες. Άλλωστε η εποχή μας χαρακτηρίζεται από πληθώρα επιβαρυντικών για την υγεία παραγόντων όπως η ατμοσφαιρική ρύπανση, το κάπνισμα, το άγχος της καθημερινότητας, η σωματική κόπωση, η κακή διατροφή, τα χημικά πρόσθετα των τροφών, η έκθεση στην έντονη ηλιακή ακτινοβολία καθώς και η χρήση φαρμάκων. Ελεύθερες ρίζες μπορούν να προκύψουν από:

- Υπεριώδης και ιονίζουσες ακτινοβολίες.
- Ραδιόλυση του H₂O
- Φαγοκύτωση
- Αντιδράσεις που καταλύονται από την οξειδάση της ξανθίνης
- Αναπνευστική αλυσίδα στα μιτοχόνδρια

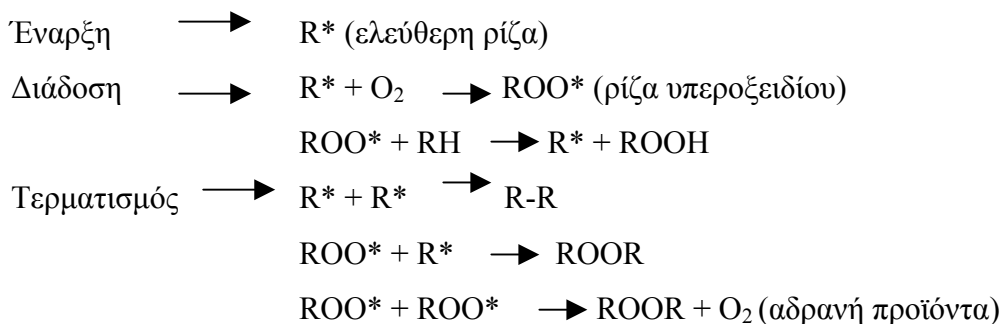
- Μεταβολισμός κατεχολαμινών
- Οξείδωση αιμοσφαιρίνης
- Οξειδοαναγωγική ανακύκλωση
- Αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων σε ενδοπλασματικό δίκτυο και πυρήνα
- Μεταβολισμός εικοσανοειδών



Εικόνα 2. 2 : Μεταβολισμός αραχιδονικού οξέος ^[40]

- Αντιδράσεις αυτοοξείδωσης ^[41]

Η αυτοοξείδωση είναι μια αυτοκαταλυόμενη αλυσιδωτή αντίδραση με το οξυγόνο η οποία προχωρά με το μηχανισμό των ελευθέρων ριζών. Έχει τρία στάδια, την έναρξη, τη διάδοση και τον τερματισμό, που περιγράφονται στις παρακάτω αντιδράσεις:



2.1.1 Βλάβες που προκαλούνται από ελεύθερες ρίζες ^[38]

Η ανακάλυψη του ρόλου των ελευθέρων ριζών στις χρόνιες εκφυλιστικές ασθένειες είναι το ίδιο σημαντική με την ανακάλυψη του ρόλου των μικροοργανισμών στις μολυσματικές ασθένειες. Υψηλής δραστηριότητας μόρια οξυγόνου (μονήρες οξυγόνο) και ρίζες οξυγόνου όπως το ανιόν του υπεροξειδίου ($\text{O}_2^{\cdot-}$) και η ρίζα υδροξυλίου ($\text{OH}^{\cdot}$) δημιουργούνται όπως περιγράφηκε παραπάνω από το μοριακό οξυγόνο με διέγερση ή με μονοσθενή αναγωγή αντίστοιχα. Οι ελεύθερες ρίζες είναι ιδιαίτερα δραστικές διότι αυτά τα μόρια περιέχουν ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Ανεξέλεγκτη δημιουργία ελευθέρων ριζών στο κύτταρο θα είχε καταστροφικές συνέπειες, διότι μπορούν να αντιδράσουν με όλα τα βασικά συστατικά του κυττάρου, όπως αναλύονται στην εικόνα 2.3, και εύκολα να οξειδώσουν και να βλάψουν ζωτικά βιολογικά μόρια όπως υδατάνθρακες, λίπη, πρωτεΐνες και DNA, όπως και τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα που είναι ενσωματωμένα στις κυτταρικές μεμβράνες και είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στην οξείδωση, διαδικασία γνωστή ως υπεροξείδωση των λιπιδίων.



Εικόνα 2.3 : Αντιδράσεις ελευθέρων ριζών με κυτταρικά συστατικά

Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δίνουμε στην αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών και αυτό γιατί υπάρχουν πλήθος ασθενειών που αναπτύσσονται και εξελίσσονται ταχύτατα εξαιτίας της παρουσίας τους. Τέτοιες ασθένειες φαίνονται στον πίνακα 2.2. Το **οξειδωτικό στρες** σχετίζεται άμεσα με την παραγωγή ελευθέρων ριζών και με τους φυσικούς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς. Όταν οι οξειδωτικοί μηχανισμοί υπερτερούν των αντίστοιχων αντιοξειδωτικών του οργανισμού τότε τα επίπεδα των ελευθέρων ριζών υπερβαίνουν τα φυσιολογικά όρια και βρισκόμαστε μπροστά στο λεγόμενο οξειδωτικό στρες, φαινόμενο καταστρεπτικό για τους ιστούς.

Πίνακας 2.2. Ασθένειες που συνδέονται με την αυξημένη συγκέντρωση ελευθέρων ριζών ^[42]

▪ Παχυσαρκία	▪ Ρευματοπάθειες
▪ Αρτηριοσκλήρυνση	▪ Αυτοάνοσα νοσήματα
▪ Χρόνια πολυαρθρίτιδα	▪ Τοξικώσεις από μέταλλα
▪ Ελκώδης κολίτιδα	▪ Πρόωρη γήρανση
▪ Φλεγμονές	▪ Νόσος Parkinson
▪ Δερματικές παθήσεις	▪ Νόσος Alzheimer
▪ Ισχαιμία	▪ Σκλήρυνση κατά πλάκας
▪ Καταρράκτης	▪ Παγκρεατίτιδα
▪ Καρκίνος	

Οξειδωτικό στρες και αντιγήρανση ^[42]

Από αρχαιοτάτων χρόνων οι άνθρωποι προσπάθησαν να ανακαλύψουν το ελιξίριο της ζωής. Τους απασχολούσε τόσο η κατάκτηση της μακροβιότητας όσο και η αιώνια νεότητα. Τι είναι όμως αυτό που φθείρει και καταστρέφει τους ιστούς προκαλώντας το γήρας και τα νοσήματα φθοράς;

Πολλοί είναι οι ερευνητές που προσπάθησαν και συνεχίζουν, να απαντήσουν τα ερωτήματα αυτά. Οι περισσότερες έρευνες τα τελευταία σαράντα χρόνια συμφωνούν στην ύπαρξη των ελευθέρων ριζών οξυγόνου, οι οποίες ευθύνονται για την καταστροφή του κυττάρου και τον θάνατο του. Αυτή η διαδικασία ονομάζεται διαδικασία οξείδωσης, προκαλεί βλάβες στον οργανισμό μας και είναι μια από τις κύριες αιτίες γήρανσης.

Οξειδωτικό στρες και παχυσαρκία ^[42]

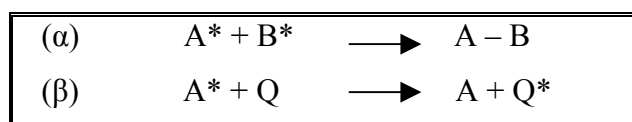
Τα άτομα που είναι παχύσαρκα έχουν υψηλά επίπεδα ελευθέρων ριζών, που αυξάνουν την πιθανότητα εκδήλωσης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Σε έρευνα στην Ιατρική Σχολή της Βοστόνης βρέθηκε ότι τα παχύσαρκα άτομα εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα οξειδωτικού στρες, το οποίο καταδεικνύει σαφώς την επικινδυνότητα του υπερβολικού βάρους. Στην έρευνα αυτή βρέθηκε ότι υπήρχε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ του ΔΜΣ και του οξειδωτικού στρες. Ισχυρή συσχέτιση βρέθηκε επίσης στα άτομα που καπνίζουν και σε αυτά που έπασχαν από σακχαρώδη διαβήτη.

2.2 Αντιοξειδωτικά ^[38,43, 44]

Ως αντιοξειδωτική μπορεί να χαρακτηριστεί οποιαδήποτε ουσία που όταν είναι παρούσα σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε σχέση με τη συγκέντρωση κάποιου υποστρώματος, καθυστερεί σημαντικά ή αποτρέπει την οξείδωση αυτού του υποστρώματος. Ο φυσιολογικός ρόλος των αντιοξειδωτικών ως απενεργοποιητές ελευθέρων ριζών και των υδροξυλιωμένων ελευθέρων ριζών είναι να εμποδίσουν τα συστατικά του κυττάρου από την καταστροφή που προκύπτει ως συνέπεια των χημικών αντιδράσεων με ελεύθερες ρίζες. Όταν η διαθεσιμότητα των αντιοξειδωτικών είναι μειωμένη, αυτή η καταστροφή μπορεί να συσσωρευτεί και να επιφέρει αποτελέσματα **οξειδωτικού στρες**. Τα οξειδωτικά έχουν τη δυνατότητα να σταθεροποιήσουν ή να απενεργοποιήσουν τις ελεύθερες ρίζες πριν αυτές επιτεθούν σε κύτταρα και βιολογικούς στόχους. Γι' αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικά για τη διατήρηση ιδανικής υγείας του κυττάρου.

Η χημική έννοια του όρου 'αντιοξειδωτικό' αναφέρεται στη τάση ενός μορίου για απόδοση ενός ηλεκτρονίου (e^-) προς έναν οξειδωτικό παράγοντα, συνήθως ελεύθερη ρίζα, με αποτέλεσμα την προφύλαξη άλλων μορίων τα οποία θα ήταν πιθανοί στόχοι αυτού του παράγοντα.

Μετά την αντίδραση μιας ελεύθερης ρίζας με ένα μόριο μη ελεύθερη ρίζα, τουλάχιστον ένα από τα προϊόντα της αντίδρασης θα πρέπει οπωσδήποτε να είναι εκ νέου ελεύθερη ρίζα (λόγω της αφαίρεσης ενός ηλεκτρονίου από το ζεύγος ηλεκτρονίων). Η νέα ελεύθερη ρίζα αντιδρά περαιτέρω με τη σειρά της σχηματίζοντας νέες ελεύθερες ρίζες. Έτσι έχουμε αλυσιδωτές αντιδράσεις, οι οποίες εάν δεν ανασταλούν με κάποιο τρόπο θα είχαν σαν αποτέλεσμα την πλήρη καταστροφή του βιολογικού υλικού. Αλυσιδωτές αντιδράσεις ελευθέρων ριζών μπορούν να σταματήσουν με δύο τρόπους όπως φαίνεται και στην εικόνα 2.4.



Εικόνα 2.4 : Τερματισμός αλυσιδωτών αντιδράσεων ελευθέρων ριζών

Στην πρώτη περίπτωση (α) δύο μόρια ελεύθερες ρίζες αντιδρούν μεταξύ τους συνεισφέροντας από ένα ηλεκτρόνιο η κάθε μια, σχηματίζοντας έναν ομοιοπολικό

δεσμό, ενώ στη δεύτερη (β) η ελεύθερη ρίζα A* αντιδρά με ένα άλλο μόριο Q σχηματίζοντας μια νέα ελεύθερη ρίζα Q*. Σ' αυτή την περίπτωση όμως η ελεύθερη ρίζα της ένωσης Q είναι μια από τις εξαιρέσεις οι οποίες δεν είναι δραστικές και έτσι διακόπτεται η ακολουθία των αντιδράσεων. Οι πιθανότητες για την περίπτωση (α) είναι εξαιρετικά μειωμένες λόγω του ότι τα A* και B* είναι πολύ δραστικά μόρια και κατά συνέπεια η συγκέντρωσή τους δεν είναι ποτέ τόσο υψηλή. Αντιδράσεις του τύπου (β) είναι κατ' εξοχήν υπεύθυνες για την αντιμετώπιση ελεύθερων ριζών οι οποίες σχηματίζονται στο κύτταρο. Φυσιολογικές ενώσεις με ιδιότητες αντίστοιχες του μορίου Q είναι οι βιταμίνες C (ασκορβικό οξύ) και E (α- τοκοφερόλη) όπως και οι φαινολικές ενώσεις.

Φαίνεται από τα παραπάνω ότι για να χαρακτηριστεί μια ένωση π.χ. φαινόλη ως αντιοξειδωτικό πρέπει να έχει δύο ιδιότητες:

- 1) Όταν είναι παρούσα σε χαμηλή συγκέντρωση συγκριτικά με το προς οξείδωση υπόστρωμα, να μπορεί να καθυστερήσει ή να αποτρέψει την αυτοοξείδωση ή την προκληθείσα από ελεύθερες ρίζες οξείδωση.
- 2) Η ελεύθερη ρίζα που σχηματίζεται μετά τη δράση της πρέπει να είναι σταθερή (μέσω ενδομοριακού υδρογονικού δεσμού) σε περαιτέρω οξείδωση.

Ακόμη ένα αντιοξειδωτικό πρέπει να ανταγωνίζεται αποτελεσματικά με το υπόστρωμα και την ενεργή διάμεση ουσία, να επαναγεννάται γρήγορα από το βιολογικό σύστημα, να έχει πρόσβαση στην ενεργή διάμεση ουσία στο μικροπεριβάλλον, καθώς και να βρίσκεται στον ίδιο χώρο με το προς οξείδωση υπόστρωμα ^[45].

2.2.1 Είδη και πηγές αντιοξειδωτικών ^[46]

Τα αντιοξειδωτικά έχουν τις εξής ιδιότητες:

- Η ανασταλτική δράση τους εστιάζεται στον ενδοκυττάριο χώρο. Αυτό σημαίνει ότι μπορούν να διαπερνούν με κάποιο τρόπο τις κυτταρικές μεμβράνες και να βρίσκονται στην κατάλληλη στιγμή στο κατάλληλο σημείο και στην κατάλληλη συγκέντρωση.
- Μπορούν να βοηθούν τους αμυντικούς μηχανισμούς του κυττάρου συντελώντας για παράδειγμα, στη διατήρηση της στάθμης της γλουταθειόνης και κατ' επέκταση βοηθώντας στην απομάκρυνση του H₂O₂.

- Μπορούν να δράσουν ως χηλικοί παράγοντες δεσμεύοντας οξειδοαναγωγικά ενεργά ιόντα μετάλλων και άρα αναστέλλοντας τη συμμετοχή τους σε αντιδράσεις παραγωγής κυτταροτοξικών προϊόντων.
- Σε ορισμένες περιπτώσεις προάγουν τη βιοσύνθεση νέων πρωτεϊνών, οι οποίες ενέχονται είτε στην άμυνα ή σε επιδιορθωτικούς μηχανισμούς των κυττάρων.
- Προστατεύουν τα κύτταρα αναστέλλοντας τις διαδικασίες μεταγωγής του σήματος, τις οποίες προκαλεί ο συγκεκριμένος οξειδωτικός παράγοντας.

Τα αντιοξειδωτικά είτε παράγονται από τον ίδιο τον ανθρώπινο οργανισμό (ενδογενή), είτε προέρχονται από τη διατροφή μας (εξωγενή), είτε αποτελούν φάρμακα. Στον πίνακα 2.3 και 2.4 παραθέτονται τα ενδογενή και τα εξωγενή αντιοξειδωτικά.

Πίνακας 2.3: Ενδογενή αντιοξειδωτικά ^[47]

Αμινοξέα	Γλουταθειόνη Λεβοντόπα (L- DOPA)
Ένζυμα	Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης S- τρανσφεράση της γλουταθειόνης Υπεροξειδάση της δισμουτάσης (SOD) Καταλάση
Ορμόνες	Διυδροεπιανδροστερόνη (DHEA) Μελατονίνη
Πρωτεΐνες	Αλβουμίνη ορού
Νουκλεοτίδια	Ριβονουκλεϊκό οξύ
Μεταβολίτες	Ουρικό οξύ
Χρωστικές	Μελανίνη

Πίνακας 2.4: Εξωγενή αντιοξειδωτικά ^[47]

Αμινοξέα & παράγωγα	Κυστεΐνη (κυρίως η N-ακετυλ-μορφή) Κυστίνη Ταυρίνη και τυροσίνη
Συνθετικά	Ethoxiquin

Αυξίνες	Πολλές διαιτητικές ινδόλες
Υδατάνθρακες	β-1,3-γλυκάνη
Καροτενοειδή & χρωστικές	β-καροτένιο Καθαξανθίνη Καπσορουβίνη Χλωροφύλλη Λυκοπένιο
Ένζυμα	Παπαΐνη Θεοπρολίνη
Λιγνάνες	Gomisan A Wuweizisu C Σεσαμινόλη
Λιποειδή	β-ecdysterone Συζευγμένο λινολεϊκό οξύ (CLA) Ουρσολικό οξύ
Μέταλλα	Γερμάνιο Σελήνιο Βανάδιο
Πολυφαινόλες	Φλαβονόλες (π.χ. κερκετίνη) Ανθοκυανιδίνες Καφεϊκό οξύ Κατεχίνες Κουρκουμινοειδή (π.χ. κουρκουμίνη) Ελλαγικό οξύ Γαλλικό οξύ Φερουλικό οξύ γ- ορυζανόλη Ισοφλαβονοειδή Καιμπερόλη Μυρικετίνη Γκινκολίδια (από το φυτό Σαλυσβουρία ή Ginko) Τυροσόλη και υδροξυ-τυροσόλη Προανθοκυανιδίνες Ρεσβερατρόλη Ολευρωπαΐνη Μίγμα βιοφλαβονοειδών
Πρωτεΐνες	Αλβουμίνη Χλωροφυλλίνη (το άλας της χλωροφυλλίνης με Na, Cu)
	α-υδροξυοξέα (π.χ. γαλακτικό) Κιτρικό οξύ Φυτικό οξύ

Οργανικά οξέα	Ουρικό οξύ Ganoderic acid
Φάρμακα	Ασπιρίνη Μιμητικό του SOD
Αναστολείς ενζύμων	Αναστολείς πρωτεάσης
Κινόνες	Συνένζυμο Q10 Nordihydroguaiaretic acid (NOGA)
«Έξυπνα φάρμακα»	Centrophenoxine Hydergine Iderbenone L- DOPA
Σουλφουρικά συστατικά	Αλλισίνη Διθειοθειόνες Γλυκοσιλινικά
Βιταμίνες	Ινοσιτόλη Λιποϊκό οξύ Τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες (βιταμίνη E) π- αμινοβενζοϊκό οξύ (PABA) A B1 B2 B5 B6 C
Συνθετικά	Βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT) Βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA)
Αιθέρια έλαια	Καρνοσόλη Επιροσμανόλη & ισοροσμανόλη

Η αντιοξειδωτική κατάσταση του οργανισμού αναφέρεται στην ισορροπία μεταξύ των αντιοξειδωτικών και των προ-οξειδωτικών μηχανισμών του, αφού τα αντιοξειδωτικά μπορούν σε κατάλληλη συγκέντρωση να δράσουν ως προ-οξειδωτικά. Δηλαδή μπορούν να προκαλέσουν οξείδωση ενεργοποιώντας αλυσιδωτές αντιδράσεις, επιταχύνοντάς αυτές, ή ακόμα επηρεάζοντας τη συγκέντρωση μορίων απαραίτητων σε τέτοιες αντιδράσεις. Όταν δημιουργηθεί στον οργανισμό σταδιακή και ήπια αύξηση της οξείδωσης, προκαλείται αντιστοίχως αύξηση της παραγωγής ενδογενών αντιοξειδωτικών ώστε να επέλθει ξανά η ισορροπία με αποτέλεσμα να λειτουργεί έτσι ένας μηχανισμός ανάδρασης (ή αρνητικής ανατροφοδότησης).

Η σημαντική ανισορροπία που ευνοεί την οξείδωση ορίζεται ως οξειδωτικό στρες και μπορεί να προκληθεί από:

- 1) Αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών
- 2) Εξασθένηση του οξειδωτικού συστήματος λόγω χαμηλής πρόσληψης αντιοξειδωτικών με την τροφή, χαμηλής ενδογενούς παραγωγής ή αυξημένης χρήσης.^[48]

Η πρόληψη της εμφάνισης του οξειδωτικού στρες είναι σημαντική για τη διατήρηση καλής υγείας. Έτσι ο οργανισμός είναι εφοδιασμένος με πολλούς αμυντικούς μηχανισμούς που εμποδίζουν την καταστροφική επίδραση του οξειδωτικού στρες. Η πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού περιλαμβάνει αντιοξειδωτικά που εμποδίζουν τη δημιουργία των ελεύθερων ριζών όπως: καταλάση, τρανσφερίνη, αιμοπηκτίνη, αλβουμίνη, καροτενοειδή, βιταμίνη Ε. η δεύτερη γραμμή άμυνας απαρτίζεται από αντιοξειδωτικές ουσίες που μπορούν να αναστείλουν ή να διακόψουν τι αλυσιδωτές αντιδράσεις που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες όπως: βιταμίνη C, ουρικό οξύ, χολερυθρίνη, αλβουμίνη, φλαβονοειδή. Στην Τρίτη γραμμή άμυνας δρουν τα αντιοξειδωτικά ένζυμα τα οποία μπορούν να επιδιορθώσουν τη ζημιά που έχει ήδη δημιουργηθεί σε κάποιο μόριο όπως: λιπάσες, πρωτεάσες, επιδιορθωτικά ένζυμα του DNA. Οι σημαντικότερες πηγές αντιοξειδωτικών φαίνονται στον πίνακα 2.5

Πίνακας 2.5 Πηγές αντιοξειδωτικών ^[42]

Βιταμίνη Α	Αυγό, βούτυρο, γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα, συκώτι, ιχθυέλαια
Βιταμίνη C	Φρούτα, κυρίως εσπεριδοειδή, (πορτοκάλια, μανταρίνια), φραγκοστάφυλα, φράουλες, ακτινίδια, κεράσια, μούρα, πεπόνι, ντομάτα, λάχανο, πράσινη πιπεριά, πράσινα φυλλώδη λαχανικά (μαρούλι, σπανάκι), σταυρανθή (μπρόκολο, κουνουπίδι, λαχανάκια Βρυξελλών)
Β-καροτένιο	Φρούτα κυρίως εσπεριδοειδή, (πορτοκάλια, μανταρίνια), λαχανικά πράσινου, κίτρινου και πορτοκαλί χρώματος, ντομάτες, και επίσης (σε μικρότερες ποσότητες) βερίκοκα, γλυκοπατάτες, καρπούζι, κολοκύθα
Βιταμίνη Ε	Φυτικά έλαια, (ηλιέλαιο, αραβοσιτέλαιο, βαμβακέλαιο), και κυρίως ελαιόλαδο, δημητριακά ανεπεξέργαστα, σόγια, αμύγδαλα, καρύδια, φουντούκια, λαχανικά σκούρα πράσινα, λαχανικά φυλλώδη, φύτρα σταριού, αυγά
Σελήνιο	Κρέας, συκώτι, θαλασσινά, αβοκάντο, ελιές, ξηροί καρποί, δημητριακά, σπόροι, φρούτα και λαχανικά που φυτρώνουν στο έδαφος
Φλαβονοειδή	Αρακάς, βατόμουρα, εσπεριδοειδή, κρασί, κουμ κουάτ, κρεμμύδια, μέλι, μήλα, μπρόκολο, πικρή σοκολάτα, σόγια, σταφύλια, τσάι πράσινο και μαύρο, φασολάκια πράσινα και επίσης στους ανθούς λαχανικών και λουλουδιών και στα φύκια
Ψευδάργυρος	Δημητριακά, συκώτι, όσπρια, θαλασσινά, σπόροι σιταριού, μαγιά μπύρας, αυγά
Ανθοκυανίνες	Γογγύλια, κάρδαμο, κεράσια, κουνουπίδι, κραμβολάχανο, λάχανο κατσαρό, μούρα, μπρόκολο, μύρτιλλα, σπαράγγια, σταφύλια, φράουλες
Ελλαγικό οξύ	Βατόμουρα, κεράσια, σταφύλια, φράουλες
Λυκοπένιο	Ντομάτες (φρέσκες, λιαστές και επεξεργασμένα προϊόντα ντομάτας) και επίσης (λιγότερο) γκρέιπφρουτ, καρπούζι και πιπεριές
Φαινόλες	Ελαιόλαδο, ελιές, εσπεριδοειδή, κακάο, κρασί, λιναρόσπορος, μπρόκολο, σκόρδο, σοκολάτα πικρή, τσάι πράσινο.
Συνένζυμο Q10	Σαρδέλα, σκουμπρί, σόγια

Σύμφωνα με όλα τα παραπάνω ο ρόλος των αντιοξειδωτικών είναι πολύ σημαντικός διότι:

- Προστατεύουν τις κυτταρικές μεμβράνες, εξουδετερώνοντας τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου.
- Δρουν καρδιοπροστατευτικά: Αυξάνουν την ανθεκτικότητα των αγγείων, περιορίζουν τους φλεγμονώδεις παράγοντες, αποτρέπουν την οξείδωση της LDL χοληστερόλης και συμβάλλουν στον έλεγχο των επιπέδων της αρτηριακής πίεσης και της ομοκυστεΐνης.
- Ασκούν αντικαρκινική δράση : Μπλοκάρουν ή εμποδίζουν την προσκόλληση επικίνδυνων ενζύμων στους ιστούς, αδρανοποιούν καρκινογόνες ουσίες που προκαλούν μεταλλάξεις σε υγιή κύτταρα κι επιβραδύνουν τους μηχανισμούς καρκινογένεσης.
- Βελτιώνουν τις πνευματικές ικανότητες και την ψυχική διάθεση, προστατεύοντας τους νευροδιαβιβαστές από την οξείδωση και βελτιώνοντας την εγκεφαλική μικροκυκλοφορία.
- Διατηρούν το δέρμα ελαστικό και το προφυλάσσουν από την πρόωρη γήρανση, περιορίζοντας τη διάσπαση του κολλαγόνου.
- Προστατεύουν οστά και αρθρώσεις, περιορίζοντας οιδήματα, φλεγμονές και εκφυλιστικές αλλοιώσεις.
- Βελτιώνουν τη λειτουργική κατάσταση του αμφιβληστροειδούς χιτώνα των ματιών και ενισχύουν την όραση.
- Δρουν αντιαλλεργικά σε μεγάλο φάσμα αλλεργιών.
- Διαφυλάσσουν τα αποθέματα άλλων απαραίτητων θρεπτικών ουσιών στον οργανισμό, αποτρέπουν την καταστροφή τους και, σε ορισμένες περιπτώσεις, ενισχύουν τη δράση τους.

Συνεπώς η καθημερινή πρόσληψη αντιοξειδωτικών συστατικών μέσω της διατροφής είναι σημαντικό βήμα στην πρόληψη ή τη θεραπεία πολλών σοβαρών νοσημάτων ^[42].

2.2.2 Αντιοξειδωτική Δίαιτα

Οι επιστήμονες του USDA των ΗΠΑ κατέταξαν πρόσφατα τα τρόφιμα σε μια κλίμακα ανάλογα με την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, την κλίμακα ORAC (oxygen reagent absorbance capacity) δηλαδή την ικανότητα των τροφίμων να δρουν ως εκκαθαριστές ελεύθερων ριζών. Οι ειδικοί προτείνουν μια 'αντιοξειδωτική' διαίτα σε περίπτωση που διαγνωσθεί υψηλό οξειδωτικό στρες. Η διαίτα αυτή θα πρέπει καθημερινά να περιέχει 3000-5000 μονάδες ORAC. Η αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες με μια αντιοξειδωτική διαίτα θεωρείται απαραίτητη και πρέπει να γίνεται παράλληλα με την θεραπεία των νοσημάτων που συνυπάρχουν π.χ. παχυσαρκία, σακχαρώδης διαβήτης, υπέρταση, καρδιαγγειακά νοσήματα. Παρακάτω ακολουθεί ο πίνακας 2.6 ενδεικτικός των τιμών ORAC/100g των λαχανικών και φρούτων που αναλύθηκαν από το U.S.D.A ^[49].

Πίνακας 2.6: Αντιοξειδωτική ικανότητα τροφίμων ^[42]

Ξερά δαμάσκηνα	5770
Σταφίδες	2830
Μύρτιλλα	2400
Βατόμουρα	2036
Λαχανίδες	1770
Φράουλες	1540
Σπανάκι	1260
Λαχανάκια Βρυξελλών	980
Φρέσκα δαμάσκηνα	949
Φύτρα τριφυλλιού	930
Μπρόκολο	890
Παντζάρια	840
Πορτοκάλια	750
Κόκκινες γλυκές πιπεριές	710
Κόκκινα σταφύλια	739
Κεράσια	670
Κρεμμύδια	450
Καλαμπόκι	400
Ακτινίδια	602
Γκρέιπ φρούτ	483
Μελιτζάνες	390

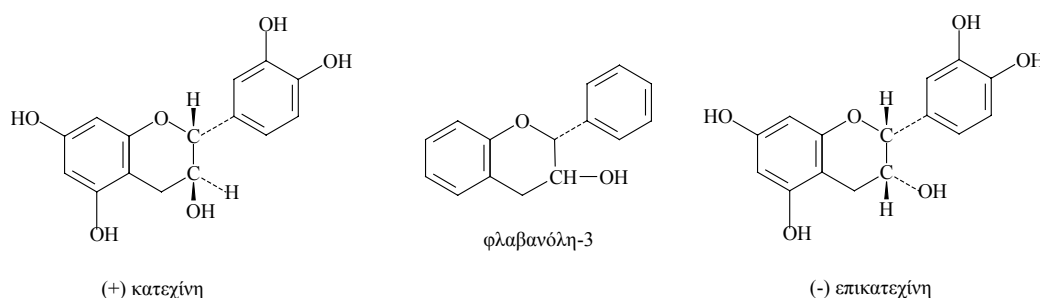
2.3 Τα αντιοξειδωτικά στο κρασί

Πολλές εργασίες έχουν υποστηρίξει την ευεργετική επίδραση της ισορροπημένης κατανάλωσης κρασιού, ιδιαίτερα του κόκκινου, στην υγεία (*French paradox*). Η θετική επίδραση του κρασιού αποδίδεται σε μικροσυστατικά του σταφυλιού όπως η ρεσβερατρόλη, τα φλαβονοειδή και οι ανθοκυανίνες.

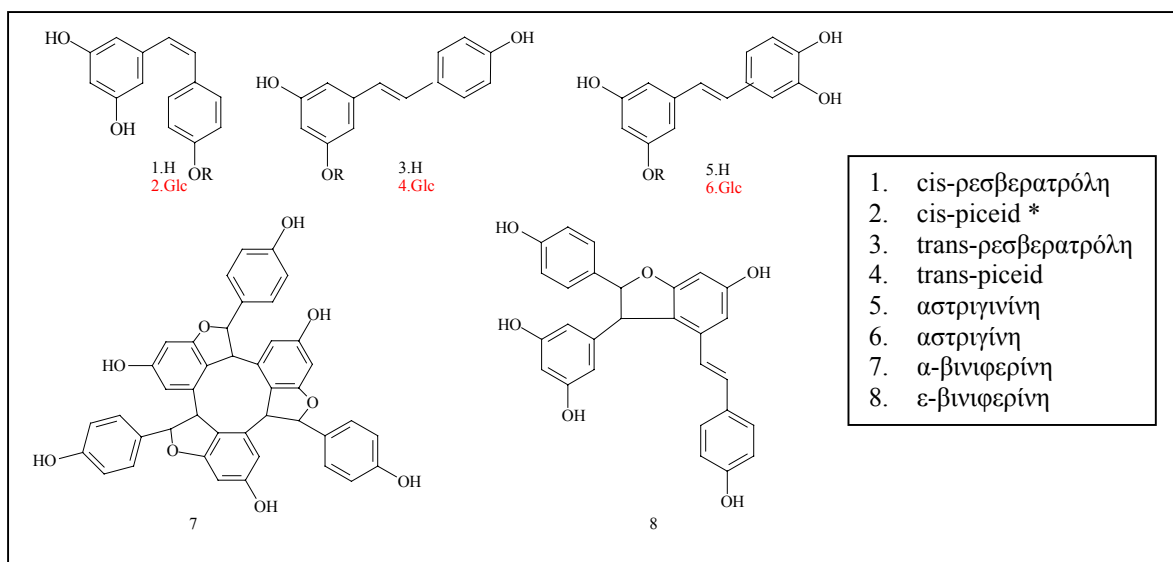
Τα κυριότερα **αντιοξειδωτικά** που περιέχονται στο κρασί είναι **φλαβονόλες** όπως κερκετίνη, μυρισετίνη και απιγενίνη, **φλαβανόλες** όπως κατεχίνη, επικατεχίνη και επιγαλλοκετεχίνη, **στιλβένια** όπως ρεσβερατρόλη, παλλιδόλη, **ταννίνες** και πολυμερή ανθοκυανινών. Σε πολλές ποικιλίες κρασιών έχει μελετηθεί το περιεχόμενό τους σε **ανθοκυανιδίνες**. Οι κυριότερες που συναντώνται στο κρασί είναι η μαλβινιδίνη, πεονιδίνη, πετουνιδίνη, κυανιδίνη και η δελφινιδίνη. Ακόμη στα κρασιά περιέχονται **φαινολικά οξέα** όπως το γαλλικό, το καφεϊκό, καφεϋλοτριγικό, p- κουμαρικό και το p- κουμαρούλοτριγικό. Μερικά από τα παραπάνω συστατικά που αποτελούν την ομάδα των φαινολικών συστατικών του κρασιού παρουσιάζονται στις εικόνες 2.5, 2.6, 2.7 ενώ οι αντιοξειδωτικές δράσεις των περισσότερων ενώσεων του οίνου υπόκεινται σε διάφορες μελέτες ^[50, 51, 52].

Βασική Ένωση	Βασικός Τύπος	Άγλυκο Φαινολικό παράγωγο	Θέση ομάδων	
			-OH	-OCH ₃
φλαβανόνες		Ναριγγενίνη	4'	
		Εσπεριτίνη	3'	4'
		Εριδιοκτύλη	3',4'	
φλαβονόλες		Καιμπφερόλη	4'	
		Κερκετίνη	3',4'	
		Μυρικετρίνη	3',4',5	
		Ραμνετίνη	'	7
			3',4'	

Εικόνα 2.5: Οι κυριότερες φλαβανόνες και φλαβονόλες που συναντώνται στους οίνους ελεύθερες και ως ετεροζίτες



Εικόνα 2.6: Δομές της φλαβονόλης-3 και των υδροξυλιομένων παραγώγων της που περιέχονται στους οίνους



Εικόνα 2.7: Τα κυριότερα στιλβένια που συναντώνται στους οίνους

Στην έρευνα των Landrault et al αναλύθηκε το πολυφαινολικό περιεχόμενο 34 κόκκινων και 18 λευκών κρασιών (πίνακας 2.7) ^[53].

Πίνακας 2.7: Ποσοτική ανάλυση πολυφαινολών σε κόκκινες και λευκές ποικιλίες κρασιού (mg/l κρασιού)

	Κόκκινες ποικιλίες	Λευκές ποικιλίες
κατεχίνη	1,4- 85,1	2,3- 28,7
επικατεχίνη	N.D*.- 195,1	0,2- 71,7
αστιλβίνη	6,4- 15,6	0,6- 4,4
κερκετίνη	1,5- 12,8	N.D.- 1,29
απιγενίνη	< 4,7	N.D.
μυρισετίνη	1,5- 8,0	N.D.
Trans-ρεσβερατρόλη	0,9-3,8	N.D.- 0,2
Cis-ρεσβερατρόλη	N.D.- 0,9	N.D.- 0,1
παλλιδόλη	0,5-4,8	N.D.
γαλλικό οξύ	5,6- 70,0	N.D.- 3,1
καφεϊκό οξύ	2,5- 17,9	N.D.
p- κουμαρικό οξύ	0,9- 16,0	N.D- 2,2
Πολυφαινολικό Περιεχόμενο (μέθοδος Folin- Ciocaitu εκφρασμένο σε mg/l γαλλικού οξέος)	364,2- 858	77,1- 436,2

Αντιοξειδωτική Ικανότητα (μέθοδος DPPH* εκφρασμένη σε mM trolox)	0,73-1,37	N.D.
--	-----------	------

*N.D. = not defined (μη καθορισμένο)

Η αντιοξειδωτική δράση των φαινολικών συστατικών του κρασιού έγκειται στη δέσμευση των διαφόρων ελεύθερων ριζών αζώτου ή οξυγόνου, όπως υπεροξειδικές, υδροξυλικές, υπεροξυνιτρώδες (ONOO) κτλ. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα:

- α) την προστασία των μεμβρανικών λιποειδών των ενδοθηλιακών κυττάρων από την υπεροξείδωση,
- β) την διασφάλιση διαφόρων ενδοθηλιακών παραγόντων, όπως η προστακυκλίνη, από πιθανή καταστροφή,
- γ) την αποτροπή οξείδωσης της LDL,
- δ) τη διέγερση των ενδογενών αντιοξειδωτικών ενζύμων κατά του οξειδωτικού στρες,
- ε) την αναστολή της οξειδάσης της ξανθίνης και της NADPH οξειδάσης, ενζύμων που κινητοποιούν την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων ROS και
- στ) την προστασία από την οξείδωση ενός σημαντικού παράγοντα παραγωγής NO, του συμπαραγόντα τετραυδροβιοπρωτεΐνη με συνέπεια την αποτροπή ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας ^[54, 10].

Κεφάλαιο 3⁰: Σύσταση και Βιολογικές δράσεις κρασιού**3.1 Περί Οίνου^[55]**

Το κρασί είναι ένα αλκοολούχο ποτό, προϊόν ζύμωσης των σταφυλιών ή του χυμού των σταφυλιών (μούστος). Ποτά παρεμφερή του κρασιού παράγονται επίσης από άλλα φρούτα ή άνθη ή σπόρους, αλλά η λέξη κρασί από μόνη της σημαίνει πάντα κρασί από σταφύλια.

Ο άνθρωπος ασχολείται με την παραγωγή κρασιού εδώ και πολλά χρόνια αλλά μόνο στα μέσα του 19^{ου} αιώνα με τις έρευνες του Λουί Παστέρ, έμαθε ότι η παραγωγή όλων των κρασιών βασίζεται σε μια μικροβιολογική δράση, την αλκοολική ζύμωση.

3.1.1 Οινοποιία^[56, 57]

Οι ρώγες του σταφυλιού, που αποτελεί και τη πρώτη ύλη του κρασιού, περιέχουν σάκχαρα, οργανικά οξέα και νερό (πάνω από το 70%). Τα γενικά χαρακτηριστικά του κάθε κρασιού (γεύση, χρώμα) διαμορφώνονται από ένα σύνολο παραμέτρων όπως ποικιλία αμπέλου, έδαφος και έκταση αμπελώνα, από τις ετήσιες καιρικές συνθήκες, τις καλλιεργητικές τεχνικές, μέθοδος οινοποίησης.

Μετά τη διαδικασία του τρύγου ακολουθεί η γλευκοποίηση, η διαδικασία δηλαδή κατά την οποία παραλαμβάνεται ο μούστος από το σταφύλι. Για την έκθλιψη του μούστου χρησιμοποιούνται διάφορες μέθοδοι, συνηθέστερα με τη χρήση διάφορων ειδικών μηχανημάτων που λειτουργούν συνθλίβοντας το σταφύλι ανάμεσα σε περιστρεφόμενους κυλίνδρους ή με υδραυλική πίεση.

Στην οινοποίηση, στη μετατροπή δηλαδή του μούστου σε κρασί, κυρίαρχο ρόλο παίζει η αλκοολική ζύμωση. Το οινόπνευμα που περιέχει το κρασί παράγεται από σάκχαρα τα του μούστου με την αντίδραση της αλκοολικής ζύμωσης. Για την ομαλή, χωρίς σταμάτημα, εξέλιξη της, θα πρέπει, σε όλη τη διάρκεια της, ο πληθυσμός των ζυμομυκήτων να είναι επαρκής. Οι ζυμομύκητες υπάρχουν αδρανοποιημένοι στο φλοιό των σταφυλιών και καθώς έρχονται σε επαφή με το μούστο, πολλαπλασιάζονται και επιτελούν τη ζύμωση. Εκτός από αιθυλική αλκοόλη παράγεται και διοξείδιο του άνθρακα. Η διαδικασία της ζύμωσης διαρκεί συνήθως 8-25 μέρες. Είναι σύνηθες να παρατείνεται ή να διακόπτεται η ζύμωση με τεχνητά μέσα, κυρίως μέσω της διατήρησης της θερμοκρασίας σε χαμηλά ή υψηλά επίπεδα αντίστοιχα. Ο

χρόνος της ζύμωσης είναι καθοριστικός για το κρασί που θα παραχθεί τελικά. Επιπλέον γίνεται συνήθως λόγος για λευκή και ερυθρή οινοποίηση (πίνακας 3.1, 3.2), ανάλογα με το χρώμα του παραγόμενου κρασιού.

Πίνακας 3.1: ΤΑ ΒΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΛΕΥΚΗΣ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ^[58]

1. Παραλαμβάνονται τα σταφύλια.	Κυρίως από λευκές ποικιλίες (λευκό από λευκά ή blanc de blancs), η ερυθρωπές, αλλά και από ερυθρές ποικιλίες με λευκή σάρκα (λευκό από ερυθρά ή blanc de noirs).
2. Απομακρύνονται τα κοτσάνια και απομονώνονται οι ρώγες.	Έτσι δεν μεταδίδονται οι χορτώδεις γεύσεις τους στο μούστο.
3. Οι ρώγες σπάζουν ελαφρά.	Προαιρετικά.
4. Παραλαβή μούστου: παραλαμβάνεται ο μούστος που ρέει ελεύθερα και κατόπιν με ελαφρά συμπίεση ο μούστος πίεση. Με την άσκηση υψηλής πίεσης στα σταφύλια, επιβαρύνεται ο μούστος με στερεά αιωρήματα, (κομμάτια φλοιών, μεγαλομόρια, φυτικά κύτταρα), τις λάσπες. Γι' αυτό το λόγο, η πίεση πρέπει να είναι μαλακή, ομοιογενής σε όλη τη μάζα τους και προοδευτική, συνθήκες που ικανοποιούνται από τα ασυνεχή πνευματικά μεμβρανο-πιεστήρια.	Στη σάρκα της ρώγας διακρίνονται τρεις ζώνες. Η εσωτερική ζώνη, που περικλείει τα κουκούτσια και είναι η πιο φτωχή σε σάκχαρα, η εξωτερική ζώνη, αμέσως κάτω από το φλοιό και η μέση ζώνη με τη μεγαλύτερη ποσότητα σακχάρων. Η συγκέντρωση των οξέων αυξάνει από την περιφέρεια στο κέντρο. Έτσι την καλύτερη αναλογία σακχάρων – οξέων παρουσιάζει η μέση ζώνη, που είναι και η πηγή του πρόρρογου, που εκρέει ελεύθερα από τα θλιπτήρια και κατά το γέμισμα των πιεστηρίων ή με την άσκηση ελαφράς πίεσης. Η διαφορετική αυτή κατανομή δίνει τη δυνατότητα επιλογής μούστου με διαφορετική σύσταση και ποιότητα.
5. Απολάσπωση του μούστου που παραμένει σε μια δεξαμενή στους 8-10 °C και για 24 ώρες περίπου.	Έτσι καθιζάνουν τα αιωρούμενα στερεά του μούστου ενώ η πολύ χαμηλή θερμοκρασία αναστέλλει τη δράση των ζυμομυκήτων και δεν ξεκινά η ζύμωση.
6. Αλκοολική ζύμωση σε θερμοκρασία 16-20 °C	Η χαμηλή θερμοκρασία ζύμωσης συμβάλλει στη διατήρηση των αρωμάτων.
7. Μετάγγιση, Επεξεργασία, εμφιάλωση	Το λευκό κρασί μεταγγίζεται και υφίσταται τις απαραίτητες φυσικές διεργασίες. (μεταγγίσεις, σταθεροποιήσεις, διανυγώσεις).

Πίνακας 3.2: ΤΑ ΒΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΗΣ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ^[58]

1. Παραλαμβάνονται τα σταφύλια.	Από ερυθρές ποικιλίες
2. Απομακρύνονται τα κοτσάνια	Όπως στον πίνακα 2.1
3. Οι ρώγες σπάζουν ελαφρά.	Όπως στον πίνακα 2.1
4. Αλκοολική ζύμωση & εκχύλιση. Στην εκχύλιση, ο μούστος με τα στέμφυλα (δηλ. τους φλοιούς και τα κουκούτσια), μένουν σε επαφή για κάποιο διάστημα ενώ ταυτόχρονα γίνεται ζύμωση στους 26-30 °C.	Τα στέμφυλα ανεβαίνουν στην επιφάνεια του μούστου και σχηματίζουν το «καπέλο». Κατά την εκχύλιση, οι ανθοκυάνες, οι τανίνες και τα αρώματα, περνούν από τους φλοιούς στο μούστο. Η εκχύλιση ευνοείται από την υψηλή θερμοκρασία και την περιοδική ανάμιξη και ομογενοποίηση στέμφυλων και μούστου.
5. Απομάκρυνση των ζυμωμένων στέμφυλων : όταν το πέρασμα των συστατικών του φλοιού στο ζυμούμενο μούστο θεωρηθεί ικανοποιητικό, τα τσίπουρα απομακρύνονται (οδηγούνται στο πιεστήριο όπου παραλαμβάνονται οι πιέσεις) και η ζύμωση συνεχίζεται απουσία στέμφυλων.	Οι «πιέσεις» αποζυμώνουν ξεχωριστά. Το κρασί πίεσης μετά από αναλυτικό και οργανοληπτικό έλεγχο της ποιότητάς του ενδέχεται να αναμιχθεί με το υπόλοιπο ερυθρό κρασί (εκροής).
6. Μηλογαλακτική ζύμωση. Εφόσον κριθεί απαραίτητο, το κρασί υφίσταται τη μηλογαλακτική ζύμωση.	Τα μηλογαλακτικά βακτήρια του κρασιού μετατρέπουν το ισχυρό μηλικό οξύ στο πιο ασθενές γαλακτικό οξύ και έτσι μειώνεται η οξύτητα του κρασιού.
7. Μετάγγιση, Επεξεργασία, εμφιάλωση	Το ερυθρό κρασί μετά την επεξεργασία του (διαυγάσεις, σταθεροποιήσεις) εμφιαλώνεται. Εφόσον επιδέχεται παλαίωση παραμένει για κάποιο διάστημα σε δρύινα βαρέλια και κατόπιν σε φιάλες.

3.2 Σύσταση κρασιού ^[1, 10, 59]

Το κρασί αποτελείται από μια σειρά χημικών ενώσεων των οποίων η πρωταρχική μορφή βρίσκεται ήδη στους χυμούς της ρώγας του σταφυλιού. Πιο αναλυτικά τα βασικά συστατικά του κρασιού παρουσιάζονται στον πίνακα 3.3.

Πίνακας 3.3: Βασικά συστατικά κρασιού

Συστατικό	Ποσοστό
Νερό	80-85%
Αλκοόλες- Αιθανόλη	9-15%
Λοιπά συστατικά	~3%

Το κρασί αποτελείται κατά κύριο λόγο από νερό (σ' αυτό οφείλεται ο υδάτινος χαρακτήρας του κρασιού) και από εκατοντάδες έως και χιλιάδες άλλες χημικές ουσίες που συνεισφέρουν στη διαμόρφωση της γεύσης και της υφής του (20-30 g/lt. περίπου από αυτές είναι στέρεες και βρίσκονται σε διάλυση). Οι σημαντικότερες από όλες αυτές τις ουσίες είναι:

- **Τα οργανικά συστατικά** (Οργανικά οξέα, Αλκοόλες, Αρωματικές ενώσεις, Σάκχαρα, Πολυσακχαρίτες, Φαινολικές ενώσεις, Αζωτούχες ενώσεις, Ένζυμα, Βιταμίνες, Λιποειδή)

- **Τα ανόργανα συστατικά**

Ανιόντα : Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , F^- , Br^- , I^-

Κατιόντα : K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^+

Οργανικά Συστατικά

1. Οργανικά οξέα

Είναι υπεύθυνα για:

- τη ξινή γεύση των κρασιών
- την προστασία των κρασιών από μικροβιολογικές ή χημικές προσβολές
- τη διατήρηση του χρώματος

Τα κυριότερα οξέα είναι το τρυγικό οξύ (2-5g/l), μηλικό οξύ (0-4g/l), κιτρικό οξύ (0.1g/l).

2. Αλκοόλες

Η αιθανόλη $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, μετά το νερό, είναι το σημαντικότερο συστατικό του κρασιού αποτελεί το 9-15% του όγκου του. Η γλυκερόλη είναι το 3^ο συστατικό του κρασιού σε περιεκτικότητα 5-20 g/l. Οι αλκοόλες, τα σάκχαρα και η γλυκερόλη είναι

τα γλυκά συστατικά του κρασιού και εξουδετερώνουν τη ξινή γεύση των οξέων και την πικρή των φαινολικών ενώσεων.

3. Αρωματικές Ενώσεις

Το άρωμα του κρασιού οφείλεται κυρίως στις ανώτερες αλκοόλες και τους εστέρες. Σημαντική συμμετοχή όμως έχουν και άλλες ενώσεις: αλδεύδες, κετόνες, τερπένια, κ.α.

4. Σάκχαρα

Μερικά σάκχαρα που περιέχονται στο κρασί είναι γλυκόζη, φρουκτόζη, γαλακτόζη. Ανάλογα με την περιεκτικότητά τους, το κρασί διακρίνεται σε :

- Ξηρό ≤ 2 g/l
- Ημίξηρο 2-18 g/l
- Ημίγλυκο 18-40 g/l
- Γλυκό >40 g/l

5. Πολυσακχαρίτες

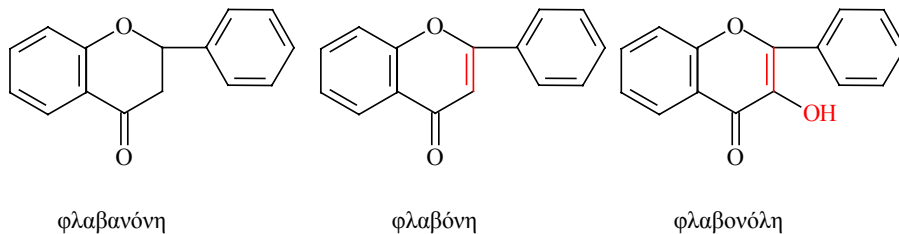
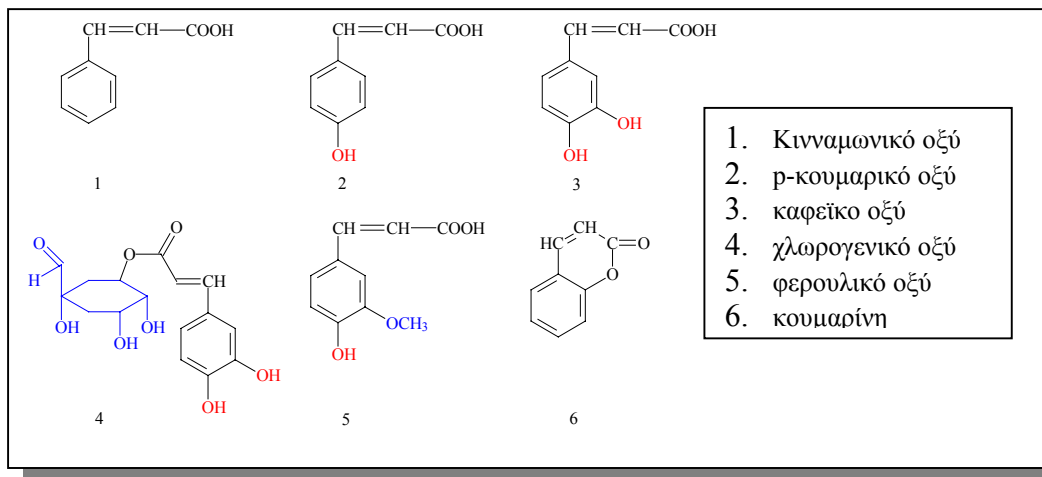
Οι πηκτίνες, τα κόμμεα, η δεξτράνη είναι προστατευτικά κολλοειδή, προστίθενται στο κρασί για να προστατευτεί η διαύγειά του μετά την εμφιάλωση.

6. Φαινολικές Ενώσεις

Είναι οι ενώσεις που περιέχουν τη χαρακτηριστική ομάδα της φαινόλης. Τις διακρίνουμε σε 4 οικογένειες :

- Τα φαινολικά οξέα
- Τις φλαβόνες
- Τις ανθοκυάνες
- Τις ταννίνες

Οι φαινολικές ενώσεις είναι υπεύθυνες για το χρώμα και τη γεύση (στυφάδα) του κρασιού, την αντιοξειδωτική και αντιβακτηριακή προστασία και βοηθούν στην παλαίωση του. Από αυτές οι πιο συχνά απαντώμενες σε όλους τους τύπους κρασιών παρουσιάζονται στις εικόνες 3.1 και 3.2. ^[60]

**Εικόνα 3.1: Κατηγορίες φαινολικών παραγώγων****Εικόνα 3.2: Τα σημαντικότερα φαινολικά οξέα που υπάρχουν στον οίνο**

7. Αζωτούχες Ενώσεις

Οι αζωτούχες ενώσεις (πρωτεΐνες, πολυπεπτίδια, αμινοξέα) υπάρχουν στα στερεά μέρη του σταφυλίου, άρα οι ερυθροί οίνοι είναι πιο πλούσιοι σε αζωτούχες ενώσεις σε σχέση με τους λευκούς.

Οι αζωτούχες ενώσεις προσδίδουν αρωματικές ιδιότητες στο κρασί και αποτελούν θρεπτικά συστατικά των ζυμών και των βακτηρίων.

8. Βιταμίνες

Είναι οργανικές ενώσεις που σε απειροελάχιστες δόσεις είναι απαραίτητες για την ανάπτυξη, τη διατήρηση, και τη λειτουργία των οργανισμών, η απουσία τους προκαλεί χαρακτηριστικές διαταραχές και βλάβες. Το κρασί είναι πλούσιο σε βιταμίνες και οι κυριότερες που περιέχονται σ' αυτό είναι:

- B1 ή θειαμίνη
- B2 ή ριβοφλαβίνη
- B3 ή νικοτιναμίδα
- B4 ή αδενίνη
- B5 ή παντοθενικό οξύ
- B12 ή κοβαλαμίνη
- I ή μεσοινοσιτόλη
- H ή βιοτίνη
- C ή ασκορβικό οξύ
- P ή βιταμίνη της διαπερατότητας

- Β6 ή πυριδοξίνη

9. Ένζυμα

Στο κρασί περιέχονται πολυάριθμα ένζυμα όπως καταλάσες, οξειδάσες, ιμπερτάσες, πρωτεάσες κ.α.

Ανόργανα Συστατικά

Το κρασί περιέχει 2-4 g/l ανόργανα συστατικά:

Ανιόντα (Cl^- , SO_4^{-2} , PO_4^{-2})

Κατιόντα (K^+ , Na^+ , Ca^{+2})

Πίνακας 3.4: Τυπική σύσταση οίνων (% βάρους) ^[10]

Συστατικό	Επιτραπέζιοι Οίνοι		Επιδόρπιοι Οίνοι	
	Λευκός	Ερυθρός	Λευκός	Ερυθρός
Νερό	87	87	76	74
Αιθανόλη	10	10	14	14
Άλλα πτητικά	0,04	0,04	0,05	0,05
Σάκχαρα	0,05	0,05	8	10
Πηκτίνες	0,3	0,3	0,25	0,25
Γλυκερόλη	1,1	1,1	0,9	0,9
Οξέα	0,7	0,6	0,5	0,05
Φαινόλες	0,01	0,2	0,01	0,1
Αμινοξέα	0,25	0,25	0,2	0,2
Λίπη, Τερπένια	0,01	0,02	0,01	0,02
Βιταμίνες κ.α.	0,01	0,01	0,01	0,01
Σύνολο	100	100	100	100

3.3. Βιολογικές δράσεις κρασιού

Πληθώρα επιστημονικών δεδομένων οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η κατανάλωση κρασιού, στο πλαίσιο της μεσογειακής δίαιτας, ασκεί ευεργετική δράση στην υγεία μας. Συγκεκριμένα οι μέχρι τώρα μελέτες έχουν αποδείξει ότι το κρασί εμφανίζει:

1. Αγγειοδιασταλτική δράση
2. Αντιφλεγμονώδη δράση
3. Αντιθρομβωτική δράση
4. Αντιμικροβιακή και αντιβακτηριαδική δράση
5. Αντικαρκινική δράση
6. Αντιαλλεργική δράση
7. Δράση στα επίπεδα των λιποειδών
8. Αντιοξειδωτική δράση

3.3.1 Αγγειοδιασταλτική δράση

Σε έρευνα των Rathel και συνεργατών μελετήθηκε η επίδραση του κόκκινου κρασιού στην ενδοθηλιακή συνθάση μονοξειδίου του αζώτου. Το νιτρικό οξείδιο (NO) που απελευθερώνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω της ενδοθηλιακής συνθάσης είναι ένα προστατευτικό μόριο που εκτός από τις αγγειοδιασταλτικές ικανότητες μπορεί να προστατεύσει από την αρτηριοσκλήρυνση, αφού παρεμποδίζει τη συνάθροιση των αιμοπεταλίων, την προσκόλληση λεμφοκυττάρων, των πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων και την έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στην αθηροσκλήρωση. Οι ερευνητές βρήκαν ότι το κόκκινο κρασί ενίσχυε σημαντικά την έκφραση της ενδοθηλιακής συνθάσης του NO και επομένως στην απελευθέρωση του NO από τα ενδοθηλιακά κύτταρα ^[61].

Άλλα πειράματα έχουν δείξει ότι οι πολυφαινόλες συντελούν στην αύξηση της ελαστικότητας των στεφανιαίων αρτηριών, μέσω της παραγωγής του παράγοντα EDGF (Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor), ο οποίος έχει ενεργό ρόλο στη διατήρηση του αγγειακού τόνου και της πίεσης του αίματος και στην αύξηση της απελευθέρωσης προστακυκλίνης. Οι πολυφαινόλες του κρασιού φαίνεται ότι ενεργοποιούν συγκεκριμένα μονοπάτια κινασών στα ενδοθηλιακά κύτταρα με αποτέλεσμα την χαλάρωση των αρτηριών, μέσω της κινητοποίησης του EDHF. Η ενεργοποίηση των μονοπατιών γίνεται μέσω της φωσφορυλίωσης των κινασών. Επίσης, οι πολυφαινόλες δημιουργούν τοπικά στην αρτηρία και ελεγχόμενα μικρές

ποσότητες υπεροξειδίων, ώστε να αυξηθούν τα αποθέματα ασβεστίου στο ενδοθήλιο, άρα και τα κανάλια που εξαρτώνται από το ασβέστιο και εμπλέκουν την παραγωγή EDHF, μέσω οξείδωσης της κυστεΐνης των κυτταρικών μεμβρανών ^[62]. Πειραματικές μελέτες στο αρτηριακό ενδοθήλιο έδειξαν ότι πολυφαινόλες, όπως οι προανθοκυανιδίνες και οι 3-φλαβανόλες αυξάνουν την απελευθέρωση της προστακυκλίνης, ενώ δε συμβαίνει το ίδιο με την κερκετίνη ^[63].

3.3.2 Αντιφλεγμονώδη δράση

Μια μελέτη από το Πανεπιστήμιο της Βαρκελώνης έδειξε ότι οι γυναίκες που πίνουν μέτριες ποσότητες κρασιού μπορεί να έχουν λιγότερη φλεγμονή στα αιμοφόρα αγγεία. Στην μελέτη αυτή το βάρος δόθηκε στις πιθανές επιδράσεις του κρασιού στην φλεγμονή. Η φλεγμονή είναι μέρος της αντίδρασης του σώματος στην βλάβη. Πιστεύεται ότι η χρόνια χαμηλού επιπέδου φλεγμονή ως αντίδραση σε στρεσογόνους παράγοντες όπως το κάπνισμα, η υψηλή χοληστερόλη και η παχυσαρκία, συντελεί στην οικοδόμηση των πλακών στο εσωτερικό τοίχωμα των αρτηριών. Η φλεγμονή μπορεί επίσης να κάνει τις πλάκες να διαρραγούν πιο εύκολα και να δημιουργηθεί θρόμβος που στη συνέχεια μπορεί να προκαλέσει έμφραγμα. Αξίζει να αναφερθεί ότι, ενώ μέχρι πρόσφατα για την ανάπτυξη στεφανιαίας νόσου «ενοχοποιούνταν» η αθηρωματική πλάκα και η αύξηση των επιπέδων χοληστερόλης στο αίμα, σήμερα έχει βρεθεί ότι υπάρχει πολύ μεγάλη σχέση της νόσου με την ύπαρξη φλεγμονής στα στεφανιαία αγγεία. Μια από τις νεότερες επιστημονικές ανακαλύψεις είναι επίσης ότι η ισχαιμία, μία από τις συχνότερες εκδηλώσεις της στεφανιαίας νόσου, όταν δεν είναι θανατηφόρος, μπορεί να έχει ευεργετικό ρόλο στην προστασία του μυοκαρδίου ^[64].

Ο Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF) είναι ένα ισχυρότατο φλεγμονώδες μόριο που μεταξύ των άλλων σημαντικών δράσεων προκαλεί συσώρευση των αιμοπεταλίων, των κυττάρων δηλαδή που παίζουν σημαντικό ρόλο στο σημείο τραυματισμού ενός αγγείου σχηματίζοντας θρόμβο (πήγμα αίματος). Η χρόνια φλεγμονή εξαιτίας υψηλών επιπέδων PAF παίζει σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας, στη δημιουργία της αθηροσκλήρωσης και την πρόκληση καρδιαγγειακών νοσημάτων, εμφραγμάτων και εγκεφαλικών. Το κόκκινο κρασί παρουσιάζει προστατευτική δράση έναντι της προκαλούμενης από τον PAF συσώρευσης των αιμοπεταλίων. Συγκεκριμένα σε μελέτες των Φραγκοπούλου και

συνεργατών βρέθηκε ότι τόσο τα ερυθρά κρασιά όσο και τα λευκά περιέχουν αναστολείς του PAF [65, 66, 67, 68].

Τα φαινολικά του κρασιού αναστέλλουν την απελευθέρωση και την σύνθεση της ισταμίνης και της προσταγλανδίνης οι οποίες είναι υπεύθυνες για την φλεγμονή. Επιστημονικά δεδομένα συγκλίνουν στην προστατευτική δράση των φαινολικών συστατικών έναντι της αθηροσκλήρυνσης, μέσω της καθυστέρησης ή της αποτροπής της φλεγμονώδους διαδικασίας. Συγκεκριμένα, τα φαινολικά συστατικά αναστέλλουν την προσκόλληση των λεμφοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα, μέσω της ρύθμισης της παραγωγής κυτταροκινών, της έκφρασης των μορίων προσκόλλησης και της απελευθέρωσης χημοκινών. Οι πολυφαινόλες των σταφυλιών και του κρασιού έχει βρεθεί ότι μειώνουν τα μόρια προσκόλλησης στα μονοκύτταρα και στα T-λεμφοκύτταρα, μειώνουν τις συγκεντρώσεις των TNF- α , IL-6, ICAM-1, VCAM-1, μειώνουν τα μονοκύτταρα και τα T-λεμφοκύτταρα και εμποδίζουν το σχηματισμό αθηρωματικής πλάκας. Επιπρόσθετα, μειώνουν τις συγκεντρώσεις του παράγοντα K στα μονοκύτταρα. Ο παράγοντας K κινητοποιεί τη δράση των κυτταροκινών μέσω του μονοπατιού κινάση της τροσίνης, το οποίο αναστέλλεται από τις πολυφαινόλες του κρασιού, όπως η ρεσβερατρόλη, και μέσω ελευθέρων ριζών, που δεσμεύονται. Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι 5 mg/ml προανθοκυανιδίνων κρασιού απορρυθμίζουν την εκ του TNF- α προκληθείσα έκφραση του VCAM-1 στο ανθρώπινο ενδοθήλιο, οδηγώντας στην μείωση προσκόλλησης λευκοκυττάρων και T-κυττάρων, ενώ 100 mg /ημέρα για ένα μήνα μειώνουν τα επίπεδα των VCAM-1, ICAM-1, E-σελεκτίνης σε ασθενείς με αθηροσκλήρυνση [69].

3.3.3 Αντιθρομβωτική δράση

Αθηρωματογένεση ή αγγειογένεση είναι μια διαδικασία που χαρακτηρίζεται από την πρόωρη αποδόμηση των εξωκυτταρικών μεταλλοπρωτεϊνών (MMP), ακολουθούμενη από τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων και την ωρίμανση των αγγείων. Οι πολυφαινόλες έχοντας αντιαγγειογόνο δράση προλαμβάνουν την ενεργοποίηση των MMP, την έκφραση του αυξητικού παράγοντα VEGF (αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας) και τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων. Φυσιολογικοί ενεργοποιητές των MMP είναι η θρομβίνη και η πλασμίνη. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι οι πολυφαινόλες του κρασιού προλαμβάνουν την ενεργοποίηση των MMP στα λεία μυϊκά κύτταρα. Αυτή

η δράση σχετίζεται με την ικανότητα αναστολής της δραστηριότητας της θρομβίνης. Η ανασταλτική δράση παρατηρείται σε συγκεντρώσεις τουλάχιστον 3 mg/l πολυφαινόλων [69, 70].

Άλλα πειράματα σε ζώα έχουν δείξει ότι η χορήγηση τροφίμων πλούσιων σε πολυφαινόλες οδηγεί στη σταδιακή μείωση του πάχους της αθηρωματικής πλάκας ή την αποτροπή δημιουργίας της, λόγω της αποτροπής πολλαπλασιασμού των μυϊκών κυττάρων των αρτηριών [10].

Από άλλες μελέτες συνοψίζεται ότι η αντιθρομβωτική δράση του κρασιού οφείλεται:

1. Στην αύξηση της HDL
2. Στη μείωση της οξείδωσης της LDL
3. Στην αύξηση του NO (προφυλάσσει το αγγείο και προκαλεί αγγειοδιαστολή)
4. Στην αναστολή της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων με διάφορους μηχανισμούς (έτσι εμποδίζεται η δημιουργία θρόμβων στις αρτηρίες).
5. Στην αύξηση της ινωδόλυσης (διευκολύνεται η διάλυση των θρόμβων)

Η επίδραση στα αιμοπετάλια διαπιστώθηκε και με πείραμα στον άνθρωπο σε εθελοντές που κατανάλωναν επί μία εβδομάδα ανά 24ωρο 300ml κόκκινο κρασί. Η ειδική εξέταση έδειξε στο τέλος σημαντική μείωση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων [71].

3.3.4 Αντιμικροβιακή και αντιβακτηριαδική δράση

Είναι γνωστό ότι στην αρχαιότητα χρησιμοποιούσαν κρασί για να αποστειρώσουν νωπά προϊόντα καθώς και για το πλύσιμο πληγών. Το έριχναν ακόμη στο νερό για να προφυλαχθούν από παθογόνους μικροοργανισμούς, που αναπτύσσονταν σε πηγές ή ποτάμια. Η αντιμικροβιακή και αντιβακτηριακή ιδιότητά του κρασιού αποδίδεται στην αλκοόλη, στα οξέα, αλλά κυρίως στις ταννίνες που περιέχει. Σε έρευνα διαπιστώθηκε ότι εκχυλίσματα λευκού και κόκκινου κρασιού χωρίς αλκοόλ 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* [72].

3.3.5 Αντικαρκινική δράση

Τα ερευνητικά αποτελέσματα της ομάδας του Κουρέτα σχετικά με την διερεύνηση του χημειοπροστατευτικού-αντικαρκινικού ρόλου των οινοποιητικών προϊόντων της Ελλάδος στη πρόληψη μεταλλάξεων κατέληξε στα εξής συμπεράσματα:

α) Τα αμπελοκομικά εκχυλίσματα σε μικρές συγκεντρώσεις αναστέλλουν τη μεταλλαξιογόνο δράση των οξειδωτικών παραγόντων στα βακτηριακά κύτταρα, καθώς και τις επαγόμενες από τις ελεύθερες ρίζες θραύσεις του πλασμιδιακού DNA. Έτσι, η ανασταλτική δράση των εκχυλισμάτων της αμπέλου -έναντι των βλαβών που προκαλούνται στο DNA από οξειδωτικούς παράγοντες- είναι ο μηχανισμός μέσω του οποίου επιδεικνύουν χημειοπροστατευτική δράση κατά της καρκινογένεσης.

β) Μελέτη της επίδρασή τους στη δράση του ενζύμου τοποϊσομεράση I, που παρουσιάζει αυξημένη δράση σε καρκινικά κύτταρα και η αναστολή του θεωρείται ένδειξη χημειοπροστατευτικής- αντικαρκινικής δράσης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα εκχυλίσματα της αμπέλου αναστέλλουν τη δράση της τοποϊσομεράσης I. Η αναστολή αυτού του ενζύμου πιθανά αποτελεί ένα από τους μηχανισμούς στους οποίους οφείλεται η αντικαρκινική δράση των οινοποιητικών εκχυλισμάτων.

γ) Αρκετές από τις ουσίες του οίνου (πολυφαινόλες) είναι σε θέση να προστατεύσουν την SP-A πρωτεΐνη (επιφανειοδραστικού παράγοντα του πνεύμονα) από την οξείδωση που προκαλεί το όζον, με αποτέλεσμα να είναι σε θέση να προστατεύσουν τους πνεύμονες από τις δυσμενείς επιδράσεις (φλεγμονή, καρκινώματα) των ρυπαντών της ατμόσφαιρας^[73].

Στην έρευνα των Soleas και συνεργατών έγινε σύγκριση των αντικαρκινικών ιδιοτήτων τεσσάρων πολυφαινολών του κόκκινου κρασιού. Η κερκετίνη ήταν η πιο δραστική ενώ η λιγότερο ήταν το γαλλικό οξύ. Η (+) – κατεχίνη και η trans ρεσβερατρόλη εμφάνισαν μέτρια αντικαρκινική δράση^[10].

Σύμφωνα με άλλα πειράματα παρατηρήθηκε ότι τα πολυφαινολικά συστατικά του κρασιού μειώνουν τα επίπεδα των πρωτεϊνών οξείας φάσης στα καρκινικά κύτταρα και στους πληθυσμούς καρκινικών και ενδοθηλιακών κυττάρων. Επομένως η κατανάλωση κρασιού μπορεί να έχει αντικαρκινική δράση^[74].

3.3.6 Αντιαλλεργική δράση

Στα φλαβονοειδή του κρασιού έχει αποδοθεί και η αντιαλλεργική δράση του. Τα φλαβονοειδή προκαλούν αναστολή της δράσεις των ενζύμων (φωσφοδιεστεράση του cAMP και η ΑΤΡάση) που αυξάνουν την έκκριση της ισταμίνης τόσο από τα μαστοκύτταρα όσο και από τα βασεόφιλα [75].

Πολύ συχνά οι πάσχοντες από αλλεργία αναφέρουν σημαντική ανακούφιση με την χρησιμοποίηση του εκχυλίσματος σταφυλιού. Επίσης χρησιμοποιείται για το ρυθμιστικό του ρόλο στο ανοσοποιητικό σύστημα αφού διεγείρει την έκκριση αντιφλεγμονωδών ορμονών.

3.3.7 Επίδραση στα επίπεδα των λιπιδίων

Η αυξημένη συγκέντρωση των λιπιδίων στην κυκλοφορία του αίματος είναι ένας βασικός παράγοντας κινδύνου αθηροσκλήρυνσης. Τα φαινολικά συστατικά του κρασιού μειώνουν την ολική χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια, αυξάνουν την HDL και μειώνουν την LDL, αποτρέποντας έτσι τη δημιουργία αθηρωματικών πλακών στις αρτηρίες [54].

Μελέτες σε ζώα προτείνουν ότι οι πολυφαινόλες αντιδρούν με τους πρωτεϊνικούς μεταφορείς της χοληστερόλης στην ψυκτροειδή παρυφή, εμποδίζοντας την απορρόφηση της στα εντεροκύτταρα και προωθώντας την απέκκριση της από τον οργανισμό. Οι Pal και συνεργάτες έδειξαν ότι όταν επώαστηκαν Caco-2 κύτταρα με κόκκινο κρασί παρατηρήθηκε 17% μείωση της απολιποπρωτεΐνης apoB48. Φαίνεται ότι υπάρχει ένας μηχανισμός με τον οποίο αλλαγές στην απορρόφηση χοληστερόλης επηρεάζουν τη φυσιολογική ρύθμιση της παραγωγής apoB48, διακόπτοντας τη σύνθεση χυλομικρών και μειώνοντας τη συγκέντρωση της χοληστερόλης στο αίμα. Τα φλαβονοειδή ναριγενίνη και εσπεριτίνη μειώνουν την έκκριση apoB στα ηπατοκύτταρα, γεγονός που συνδέεται με μείωση των εστέρων χοληστερόλης (CE, Cholesteryl Ester), του ενζύμου ACAT2 (Acyl-CoA Cholesterol Acyltransferase) και της MTP (Microsomal Transfer Protein), πρωτεΐνης υπεύθυνης για τη δημιουργία χυλομικρών [76].

Τα φαινολικά συστατικά έχειδειχθεί ότι μειώνουν τη συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων στο αίμα, ενώ αυξάνουν τη συγκέντρωση της HDL. Οι πολυφαινόλες των σταφυλιών αλλάζουν το μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών μειώνοντας τα τριγλυκερίδια του πλάσματος και τις συγκεντρώσεις της apoB. Πειράματα σε ζώα

έδειξαν ότι οι πολυφαινόλες μείωσαν τη VLDL από 50% σε 39%, ενώ σε ανθρώπους μείωσαν τα τριγλυκερίδια, την apoB, την apoE και την LDL. Οι πολυφαινόλες των σταφυλιών μειώνουν τις συγκεντρώσεις των apoB, apoE στο πλάσμα, τροποποιώντας το μεταβολισμό της VLDL και μειώνοντας τη συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων, μέσω της αναστολής της λιπολυτικής δραστηριότητας του ενζύμου λιποπρωτεΐνη λιπάση (LPL, Lipoprotein Lipase) ^[77]. Επίσης, οι πολυφαινόλες αυξάνουν την HDL στο αίμα. Πρόκειται για τη λιποπρωτεΐνη που κάνει αντίστροφη μεταφορά χοληστερόλης, απομακρύνοντας τη χοληστερόλη από τα κύτταρα των αρτηριών. Οι πολυφαινόλες αυξάνουν τη ρευστότητα των μεμβρανών των λιποειδών της LDL, μειώνοντας την οξείδωση της, με αποτέλεσμα την αύξηση της HDL που κάνει αντίστροφη μεταφορά της χοληστερόλης, δεδομένου ότι στην οξειδωμένη της μορφή η HDL είναι ανενεργή ^[78].

Οι πολυφαινόλες δρουν ευεργετικά υπέρ της πρόληψης της αθηροσκλήρυνσης και μέσω μείωσης της LDL. Πολλές μελέτες που αφορούν την κατανάλωση πολυφαινολών του κρασιού εμφανίζουν τη δράση ενός ειδικού μηχανισμού, σύμφωνα με τον οποίο οι πολυφαινόλες επιδρούν στα ηπατοκύτταρα Hep G-2, απορυθμίζοντας τη δραστηριότητα του υποδοχέα της LDL. Αυτή η απορύθμιση σχετίζεται με την ικανότητα των πολυφαινολών να αυξάνουν τις συγκεντρώσεις της ενδοκυτταρικής χοληστερόλης στο ήπαρ, αφού μειώνουν την απορρόφηση της χοληστερόλης της τροφής, οπότε ενεργοποιείται διαδικασία μείωσης του υποδοχέα της LDL, άρα και της ίδιας της LDL χοληστερόλης. Μετανάλυση μελετών δείχνει ότι οι πολυφαινόλες του τσαγιού, του ελαιολάδου, του κακάου, της σόγιας και του κόκκινου κρασιού μειώνουν τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης, της apoB και της LDL, ενώ αυξάνουν την HDL και την apoA-I ^[78, 79].

3.3.8 Αντιοξειδωτική δράση

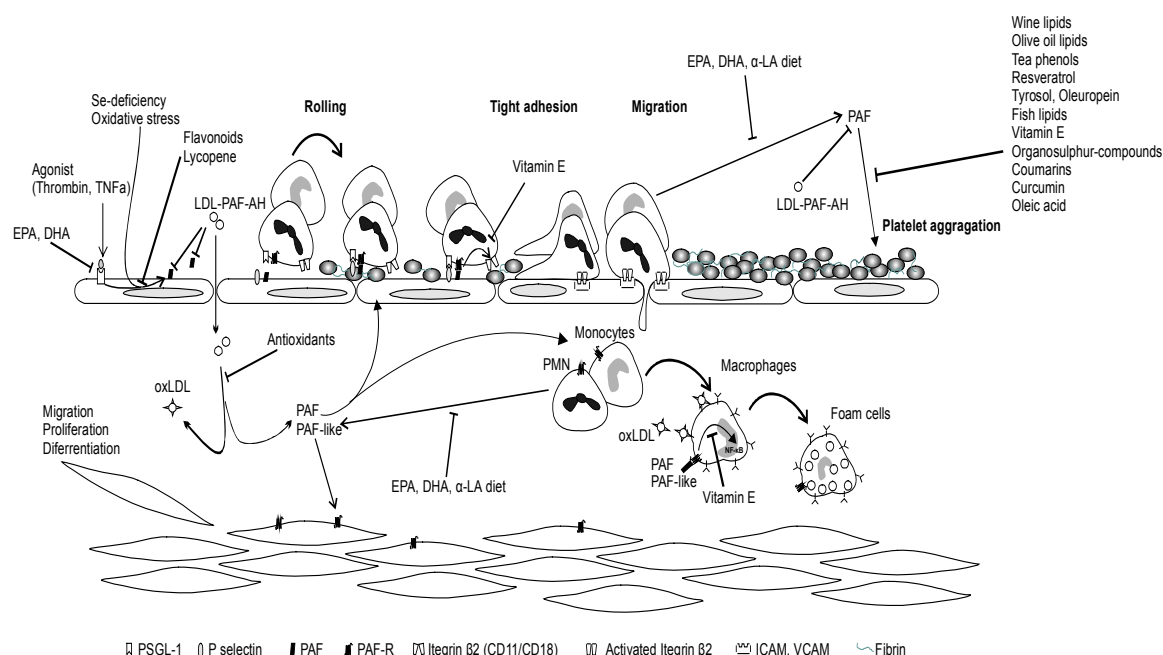
Το κρασί και ιδιαίτερα το κόκκινο, έχει επαινεθεί αρκετά για τις ευεργετικές επιδράσεις του στην υγεία. Ως ποτό πλούσιο σε αντιοξειδωτικά, είναι επόμενο να έχει μελετηθεί αρκετά όσον αφορά το βαθμό που συμβάλει στον εκκαθαρισμό των ελεύθερων ριζών, δρώντας ενάντια στο οξειδωτικό στρες ^[80].

Αν και ο αντιοξειδωτικός ρόλος των φαινολικών συστατικών του κρασιού στην εκκαθάριση των ελεύθερων ριζών είναι πολυδιάστατος, όπως περιγράφηκε στο 2^ο κεφάλαιο, η προστασία της LDL από την οξείδωση αποτελεί τη σημαντικότερη, ίσως, δράση των πολυφαινολών στον τομέα της πρόληψης της στεφανιαίας νόσου,

δεδομένης της μεγάλης συνεισφοράς της LDL στην αθηρωματογένεση. Η οξειδωμένη LDL προκύπτει από την οξείδωση των λιποειδών και την τροποποίηση των απολιποπρωτεϊνών που βρίσκονται εντός αυτής. Η οξείδωση της LDL λαμβάνει χώρα στον υποενδοθηλιακό χώρο του αρτηριακού τοιχώματος και στη διαδικασία εμπλέκονται αφενός μεν οι ρίζες ROS και RNS, αφετέρου δε ειδικά ένζυμα, όπως η λιποξυγενάση, η NADPH οξειδάση, το κυτόχρωμα P450 κ. α. Κατά την οξείδωση παράγονται υδροϋπεροξειδία, αλδεύδες, κετόνες και άλλες ρίζες, οι οποίες κινούνται προς νέα μόρια LDL. Επιπλέον η οξείδωση της LDL οδηγεί στην παραγωγή PAF και οξειδωμένων φωσφολιποειδών τα οποία αποτελούν και ισχυρούς φλεγμονώδεις μεσολαβητές ^[81].

Η διαδικασία της οξείδωσης της LDL πραγματοποιείται εντός του ενδοθηλίου, όπου όλα τα βασικά κύτταρα, δηλαδή τα ενδοθηλιακά, τα λεία μυϊκά και τα μακροφάγα, δύναται να οξειδώσουν την LDL. Η αντίδραση της LDL με τα μακροφάγα, υπό συνθήκες οξειδωτικού στρες, ενεργοποιεί κυτταρικές οξυγενάσες, οι οποίες παράγουν ROS και RNS, ρίζες υπεύθυνες για την οξείδωση της LDL. Η οξείδωση της LDL εξαρτάται από το οξειδωτικό επίπεδο της LDL και των μακροφάγων. Η έντονη οξείδωση των μακροφάγων διευκολύνει την οξείδωση της LDL. Το οξειδωτικό επίπεδο της LDL καθορίζεται από την ισορροπία ανάμεσα στην τάση οξείδωσης των λιπαρών οξέων και της χοληστερόλης εντός της LDL και στην αντιοξειδωτική άμυνα της LDL ^[10, 82].

Η οξειδωμένη LDL και κυρίως τα οξειδωμένα φωσφολιποειδή και ο PAF, θεωρούνται ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες αθηροσκλήρυνσης, διότι προκαλεί διέγερση διαδικασιών πολλαπλασιασμού των αρτηριακών κυττάρων, μετατρέπει τα μακροφάγα σε αφρώδη κύτταρα και κινητοποιεί φλεγμονώδεις ουσίες ^[83]. Η οξειδωμένη LDL προκαλεί την έκφραση των μορίων προσκόλλησης στα ενδοθηλιακά κύτταρα, όπως ICAM-1, VCAM-1 και E-σελεκτίνης, που λειτουργούν ως διεγερτικοί παράγοντες και προκαλούν τη δέσμευση των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο, την είσοδο τους εντός της αρτηρίας και το μετασχηματισμό τους σε μακροφάγα. Η απομάκρυνση των μακροφάγων εμποδίζεται από την LDL, οπότε συσσωρεύονται, αυξάνονται και μετασχηματίζονται στα αφρώδη κύτταρα, που είναι πλούσια σε λιπαρά οξέα και χοληστερόλη, υπεύθυνα για την πάχυνση της αθηρωματικής πλάκας ^[84].



Εικόνα 3.3: Τα στάδια δημιουργίας της αθηρωματικής πλάκας [85]

Τα τελευταία χρόνια έχουν διεξαχθεί πληθώρα μελετών in vitro και in vivo σε ζωικά μοντέλα σχετικές με τη δράση των φαινολικών συστατικών στην οξείδωση της LDL. Στα in vitro πειράματα χρησιμοποιείται χαλκός ή σίδηρος για την οξείδωση της LDL και τα περισσότερα έδειξαν ότι διάφορα φαινολικά συστατικά, όπως το καφεϊκό, το φερουλικό οξύ και το p- κουμαρικό, ιδίως παρουσία α-τοκοφερόλης, προστατεύουν την LDL από την οξείδωση [83, 86].

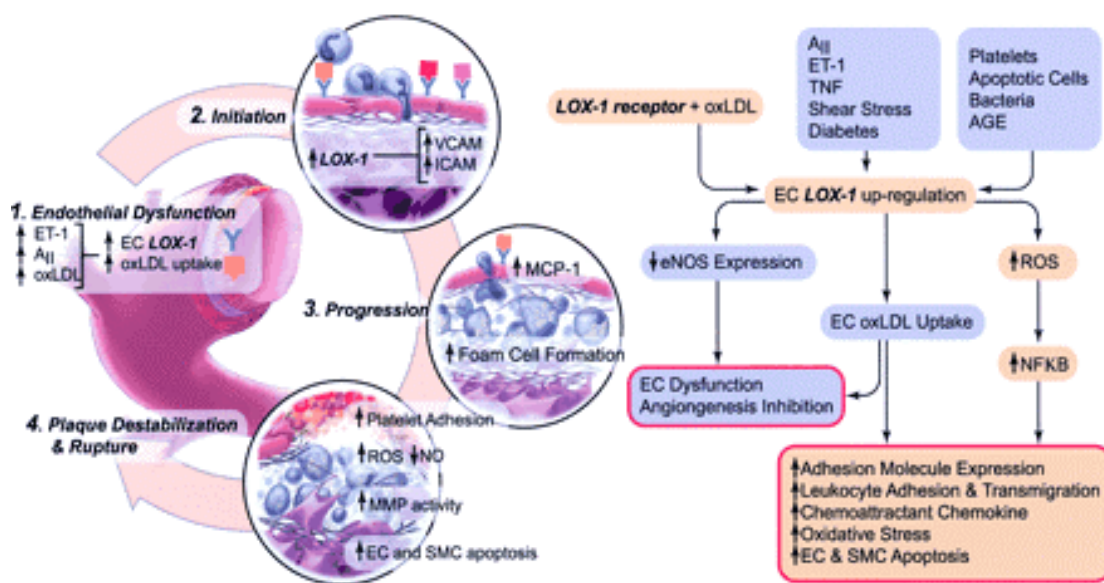
Σε μελέτες του Vinson και συνεργατών, εξετάστηκε η οξείδωση της LDL χοληστερόλης τόσο σε κύτταρα hamster όσο και στα ανθρώπινα με τη μέθοδο των TBARS και αποδείχτηκε ότι τα κλάσματα κόκκινου και λευκού κρασιού προστατεύουν την LDL από την οξείδωση περισσότερο από το ασκορβικό οξύ και την α- τοκοφερόλη [10].

Άλλα πειράματα σε ποντίκια εμφάνισαν μείωση του επιπέδου οξείδωσης της LDL, ανάλογη της χορηγηθείσας ποσότητας πολυφαινολών και αύξηση της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος, παρουσίας φαινολικών συστατικών [10].

Επίσης το κρασί μπορεί να αναστείλει τη δράση οξειδωτικών ενζύμων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των εικοσανοειδών, όπως η κυκλοξυγενάση (Cox) και η λιποξυγενάση (Lox). Τα εικοσανοειδή είναι λιποειδή που δρουν και ως ορμόνες που παράγονται από τα απαραίτητα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας, ενώ

περιλαμβάνουν ένα μεγάλο αριθμό υποκατηγοριών, όπως: προσταγλανδίνες, θρομβοξάνες, λευκοτριένια, υδροξυλιωμένα απαραίτητα λιπαρά οξέα, λιποξίνες που είναι σημαντικοί λιποειδικοί μεσολαβητές αλλά αποτελούν και προφλεγμονώδεις παράγοντες. Τα δύο κύρια ενζυμικά συστήματα που εμπλέκονται στη σύνθεση των εικοσανοειδών είναι η οδός κυκλοξυγενάσης και λιποξυγενάσης. Μέσω της Cox παράγονται οι προσταγλανδίνες και οι θρομβοξάνες. Οι προσταγλανδίνες εμπλέκονται στον πολλαπλασιασμό κυττάρων, παρέχουν ερεθίσματα για την καρκινογένεση και εμποδίζουν την ομαλή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και οι θρομβοξάνες εμπλέκονται σημαντικά στη συσώρευση των αιμοπεταλίων. Τα λευκοτριένια (πχ. 5-HETE (5-υδοξυ- 6,8,11,14 εικοσανοϊκό οξύ), παράγονται μέσω της οδού της λιποξυγενάσης. Η παραγωγή των παραπάνω προφλεγμονωδών παραγόντων μπορεί να γίνεται από διάφορα κύτταρα, όπως και από τα αιμοπετάλια που είναι κύτταρα του αίματος ^[10].

Τα αιμοπετάλια αποτελούν ένα παράγοντα που διαδραματίζει σημαντικότερο ρόλο στην παθογένεση των καρδιαγγειακών παθήσεων, αφενός μεν διότι, όπως έχει αναφερθεί, όταν ενεργοποιηθούν προσκολλώνται στο ενδοθήλιο και προωθούν την αθηρωματογένεση, αφετέρου δε διότι η συσσωμάτωση τους οδηγεί σε θρόμβωση. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων λαμβάνει χώρα μέσω της διέγερσης διάφορων παραγόντων συμπεριλαμβανομένης και της διέγερσης της θρομβίνης. Η διέγερση της θρομβίνης ακολουθείται από την σύνθεση εικοσανοειδών, κυτοκινών και προστανοειδών, γεγονός σημαντικό για την παθοφυσιολογική φλεγμονώδη διαδικασία, ενώ τα ενεργοποιούμενα αιμοπετάλια συμμετέχουν στη φλεγμονή απελευθερώνοντας σεροτονίνη, ισταμίνη και PAF (Platelet Activation Factor). Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, μέσω θρομβίνης, προάγει τη φλεγμονώδη διαδικασία, προωθώντας την προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο κολλαγόνο και το ινωδογόνο του ενδοθηλίου, την παραγωγή μιτωτικών και αυξητικών παραγόντων εντός του ενδοθηλίου, τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων και την δημιουργία αθηροσκληρώσεως. Αναφορικά με τη συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων, πρόκειται για μία διαδικασία η οποία προωθείται από LPS μικροοργανισμών, μέσω διέγερσης της παραγωγής της θρομβοξάνης A2 (TXA2), η οποία προωθεί τη συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων. Στη διαδικασία εμπλέκεται το μονοπάτι του αραχιδονικού οξέος, που ενεργοποιεί τη διαδικασία αναγέννησης των ελεύθερων ριζών ^[87, 88, 89].



Εικόνα 3.4: Ο ρόλος της λιποξυγενάσης στη φλεγμονή ^[90]

Η ρεσβερατρόλη του κρασιού φάνηκε ότι μειώνει τη συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων, αναστέλλοντας τη βιολογική τους δραστηριότητα, μέσω της ρύθμισης της αντίδρασης των αιμοπεταλίων με τη θρομβίνη, της τροποποίησης του μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος και της αποτροπής παραγωγής ελευθέρων ριζών και υπεροξειδίων. Στη διαδικασία εμπλέκεται και η αναστολή του μονοπατιού της κυκλοξυγενάσης. Οι Russo και συνεργάτες μελέτησαν *in vitro* τις αντιθρομβωτικές ιδιότητες του κόκκινου κρασιού βρίσκοντας δράση των προκυανιδίων, αλλά όχι των φαινολικών οξέων και των φλαβονολών ^[91]. Οι Teede και Nestel και συνεργάτες παρατήρησαν ότι οι ισοφλαβόνες δεν επιτρέπουν την ενεργοποίηση θρομβογόνων παραγόντων, όπως προθρομβίνη ^[92]. Demrow και συνεργατών έδειξαν *in vivo* ότι ο χυμός σταφυλίων έχει αντιαιμοπεταλιακή δράση, ενώ οι ευεργετικές δράσεις του χυμού σταφυλιού φαίνεται ότι οφείλονται στην ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C, στην αύξηση του NO και στη μείωση των υπεροξειδίων ^[93].

Τέλος σε μελέτη των Brand- Williams και συνεργατών αναδεικνύεται η ικανότητα πολλών φαινολικών που υπάρχουν στο κρασί να δεσμεύουν της ελεύθερες ρίζες του DPPH* εμφανίζοντας έτσι ισχυρή αντιοξειδωτική δράση αφού μειώνουν τις υπεύθυνες για την πρόκληση του οξειδωτικού στρες ελεύθερες ρίζες ^[94].

Σε άλλες ερευνητικές εργασίες πραγματοποιήθηκαν δοκιμασίες οξείδωσης με σίδηρο και ασκορβικό οξύ σε λιποειδή (λινελαϊκό οξύ) και αποδείχτηκε ότι οι πολυφαινόλες προκαλούν αναστολή της υπεροξείδωσης των λιποειδών ^[95].

Συμπερασματικά σύμφωνα με όλα τα παραπάνω το κρασί φαίνεται να προστατεύει την οργάνισμο από το οξειδωτικό στρες αφού αναστέλλει την οξείδωση της LDL χοληστερόλης αλλά συμβάλει και στον εκκαθαρισμό των ελεύθερων ριζών που δημιουργούνται από διάφορες αιτίες και είναι υπεύθυνες για την ανάπτυξη διαφόρων ασθενειών. Τέλος το κρασί μπορεί να αναστείλει τη δράση οξειδωτικών ενζύμων που είναι υπεύθυνα για την έναρξη των διαδικασιών οξείδωσης και φλεγμονής στα ανθρώπινα κύτταρα.

3.4 Λευκό έναντι Κόκκινο

Τα τελευταία χρόνια ολοένα και αυξανόμενος είναι ο αριθμός των επιδημιολογικών μελετών που υποστηρίζουν ότι η καθημερινή, μέτρια κατανάλωση κόκκινου κρασιού ελαττώνει τον κίνδυνο θανάτου από στεφανιαία νόσο. Η καρδιοπροστατευτική δράση της μέτριας κατανάλωσης κρασιού, προέρχεται κυρίως από τις αντιοξειδωτικές και αγγειοδιασταλτικές ικανότητες του κόκκινου κρασιού. Αυτές αφορούν κυρίως την αποτροπή οξείδωσης της LDL, η οποία σχετίζεται με την έναρξη των διαδικασιών αθηροσκλήρυνσης, αλλά και την αποτροπή του καταστροφικού για τη λειτουργικότητα των αρτηριών οξειδωτικού στρες.

Τόσο το κόκκινο αλλά και το λευκό κρασί έχουν μελετηθεί για την ικανότητα τους να προστατεύουν τον οργανισμό από τις οξειδωτικές διαδικασίες. Τελευταία πειραματικά δεδομένα ^[96] αποδίδουν τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα του κόκκινου κρασιού στη μεγάλη περιεκτικότητα (20πλάσια) του σε φαινολικά παράγωγα και κυρίως τα φλαβονοειδή (πολυφαινόλες) έναντι του λευκού, τη μόνη σταθερή διαφορά τους. Τα συστατικά αυτά:

- έχουν πιο ισχυρή αντιοξειδωτική δράση έναντι της βιταμίνης E στην προστασία της LDL χοληστερίνης από την οξείδωση και
- ενισχύουν την ενδοθηλιακή παραγωγή νιτρικού οξειδίου που προκαλεί ηρεμία στους μύες και θεωρείται βασικός μηχανισμός άμυνας στην αθηρωμάτωση.

Επίσης σε άλλη μελέτη ^[97] αναφέρεται ότι μετρήθηκε η αντιοξειδωτική δράση στον ορό του αίματος ανθρώπου, της βιταμίνης C (100mg) και του κόκκινου (300ml) και λευκού (300ml) κρασιού μέχρι 2 ώρες μετά τη λήψη τους. Αποδείχτηκε σημαντική αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης μεταξύ πρώτης και δεύτερης ώρας

στον ίδιο βαθμό για το κόκκινο κρασί και τη βιταμίνη C αλλά όχι για το λευκό κρασί. Επίσης η αντιοξειδωτική δράση του κόκκινου κρασιού αποδείχτηκε σημαντικά μεγαλύτερη αυτής του λευκού κρασιού και του χυμού του μήλου, του πορτοκαλιού και του σταφυλιού.

Σε πείραμα που έγινε σε κουνέλια ^[98] τρεφόμενα με δίαιτα πλούσια σε χοληστερίνη επί 3μηνο οι ερευνητές έδιναν ίδιες δόσεις νερού, μπύρας, ούισκι κόκκινου και λευκού κρασιού και στη συνέχεια παρατήρησαν τις αθηρωματικές βλάβες της αορτής και των μεγάλων αγγείων. Με έκπληξη διαπίστωσαν ότι τη μεγαλύτερη ελάττωση σε συχνότητα αθηρωματικών βλαβών (83%) είχε το κόκκινο κρασί. Η κατανάλωση βέβαια ποσότητας κρασιού θα μπορούσε να έχει επίπτωση στο ισοζύγιο διαβητικών και στον έλεγχο υπερτριγλυκεριδαιμίας αλλά κάτι τέτοιο φαίνεται να μη συμβαίνει.

Σύμφωνα με άλλη μελέτη ^[99] το κόκκινο κρασί όπου περιέχεται ρεσβερατρόλη, επιμήκυνε τη ζωή μονοκύτταρων μυκήτων έως και κατά 80%. Η ρεσβερατρόλη είναι πιθανόν να έχει παρόμοια δράση στον άνθρωπο και να χρησιμοποιηθεί στο μέλλον για την επιβράδυνση των βλαβών που σχετίζονται με το γήρας.

Πρέπει πάντως να αναφερθεί ότι οι περισσότερες επιδημιολογικές μελέτες δεν διακρίνουν το λευκό από τα κόκκινα κρασιά. Επιπλέον υπάρχει πληθώρα μελετών που δεν υποστηρίζουν την υπεροχή του κόκκινου έναντι του λευκού κρασιού. Τα αντικρουόμενα αυτά δεδομένα ενισχύουν την άποψη ότι τελικά αυτό που είναι σημαντικό όσον αφορά την αντιοξειδωτική ικανότητα του οίνου, δεν είναι το χρώμα αλλά η ποικιλία του σταφυλιού που παίζει καθοριστικό ρόλο καθώς επίσης και ότι το είδος των φαινολικών που περιέχονται σε αυτό και όχι η συνολική τους ποσότητα ^[66, 67, 68].

Συνοψίζοντας τα παραπάνω στον πίνακα 3.5 από διάφορες μελέτες ^[100, 101, 102] που ασχολήθηκαν με τις ιδιότητες του κρασιού διαπιστώνονται οι ευεργετικές δράσεις του στην υγεία.

Πίνακας 3.5: Ευεργετικές δράσεις κόκκινου και λευκού κρασιού

ΤΥΠΟΣ ΚΡΑΣΙΟΥ	ΙΔΙΟΤΗΤΑ	ΟΦΕΙΛΕΤΑΙ ΣΕ:	ΕΡΕΥΝΑ
ΠΑΛΑΙΩΜΕΝΟ ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ	Βελτιώνει τη λειτουργία της καρδιάς	Αυξημένη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών ουσιών, <i>‘ολιγομερικές προκυανιδίνες’</i>	2007 , Παν/μιο Λονδίνου
ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ	Αυξάνει το αντι - οξειδωτικό προφίλ Μειώνει το οξειδωτικό στρες	Αντιοξειδωτικές ουσίες	2007 , University of Newcastle, Nutr.J
ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ	Ευεργετική δράση σε νεφρικές παθήσεις	Προστατευτική δράση πολυφαινολών	2007 , University of Palermo, Nutrition
ΛΕΥΚΟ&ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ	Ευεργετική δράση σε καρδιοπάθειες	Σε συνδυασμό με ω-3 λιπαρά οξέα	2008 , Université Joseph Fourier de Grenoble, Am.Heart.J
ΛΕΥΚΟ&ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ	Ευεργετική δράση στην αρτηριακή πίεση	Προστατευτική δράση πολυφαινολών	2007 , University of Palermo, Angiology
ΛΕΥΚΟ&ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ	Αύξηση HDL: <i>‘Καλής χοληστερόλης’</i> Μείωση LDL: <i>‘Κακής χοληστερόλης’</i> Μείωση ενδοαγγειακών θρομβώσεων	Αλκοόλη Κατεχίνες, Κερκετίνη Σαλικυλικά	Παγκόσμια Μελέτη MONIKA

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 4^ο : Σκοπός

Το οξειδωτικό στρες αφορά την αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών στον οργανισμό συγχρόνως με την εξασθένηση του φυσιολογικού αντι -οξειδωτικού του συστήματος. Είναι μια κατάσταση που μπορεί να ευθύνεται για την εκδήλωση πολλών παθολογικών καταστάσεων όπως η αθηροσκλήρωση.

Η μετριοπαθής κατανάλωση κρασιού αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της Ελληνικής παράδοσης αλλά και της Μεσογειακής Δίαιτας γενικότερα. Αρκετές μελέτες έχουν επισημάνει τις ευεργετικές ιδιότητες της μέτριας κατανάλωσης του κρασιού στην υγεία, ενώ ιδιαίτερος λόγος έχει γίνει για τις ισχυρότατες αντιοξειδωτικές ουσίες που περιέχονται στο κρασί.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης εκχυλισμάτων λευκού και κόκκινου κρασιού στην εκκαθάριση των ελευθέρων ριζών και στην οξείδωση των λιποειδών.

Κεφάλαιο 5^ο : Πειραματικές Μέθοδοι**5.1. Εκχύλιση ολικών λιποειδών κατά Blight-Dyer^[103]**

- Όργανα:
- 2 Διαχωριστικές χοάνες του 1L.
 - Ογκομετρικοί κύλινδροι των 100 και 500 ml.
 - 2 σφαιρικές φιάλες των 500 ml.
 - Υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες.
 - Περιστρεφόμενη συσκευή εξάτμισης σε ελαττωμένη πίεση (flash evaporator)
- Αντιδραστήρια:
- Οργανικοί διαλύτες (χλωροφόρμιο, μεθανόλη) αναλυτικής καθαρότητας.
- Αρχή μεθόδου:
- Με κατάλληλης ποιότητας μονοφασικό σύστημα διαλυτών επιτυγχάνεται η εκχύλιση όλων των λιποειδών, καθώς επίσης και εκχύλιση μικρών ποσοτήτων υδατοδιαλυτών ουσιών (π.χ. άλατα, αμινοξέα, σάκχαρα, κλπ.). Με τη μετατροπή του μονοφασικού συστήματος σε διφασικό, στη χλωροφορμική φάση (πολική φάση) κατανέμονται όλα τα λιποειδή, ενώ στην υδατική φάση κατανέμονται τα υδατοδιαλυτά συστατικά.
- Αναλυτική πορεία:
- Το δείγμα εκχειλίζεται στη διαχωριστική χοάνη με μίγμα χλωροφορμίου:μεθανόλης:νερού (1:2:0,8 v/v/v), και στη συνέχεια προστίθενται υπολογισμένες ποσότητες χλωροφορμίου και νερού προκειμένου η αναλογία να γίνει 1:1:0,9 v/v/v. Η χλωροφορμική στιβάδα μεταφέρεται σε σφαιρική φιάλη και ο διαλύτης απομακρύνεται με περιστρεφόμενη συσκευή εξάτμισης με ελαττωμένη πίεση σε θερμοκρασία 30-35 °C. Τα λιποειδή μεταφέρονται σε μικρή ποσότητα

μίγματος χλωροφορμίου – μεθανόλης σε δοκιμαστικό σωλήνα για περαιτέρω ανάλυση.

5.2. Κατανομή κατά αντιρροή ^[104]

➤ Όργανα / Αντιδραστήρια:

- Υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες.
- Υάλινες πιπέτες Pasteur.
- Οργανικοί διαλύτες (πετρελαϊκός αιθέρας, αιθανόλη) αναλυτικής καθαρότητας.

➤ Αρχή μεθόδου:

Τα ολικά λιποειδή κατανέμονται σε διφασικό σύστημα πετρελαϊκού αιθέρα – αιθανόλης (87%). Τα πολικά λιποειδή κατανέμονται στη φάση της αιθανόλης, ενώ τα ουδέτερα λιποειδή κατανέμονται στη φάση του πετρελαϊκού αιθέρα. Για τον καλύτερο ποσοτικό διαχωρισμό των λιποειδών, η πορεία αυτή πραγματοποιείται 8 φορές συνολικά.

➤ Αναλυτική πορεία:

Τα ολικά λιποειδή εξατμίζονται και αναδιαλύονται σε 9,0 ml πετρελαϊκού αιθέρα προεξισορροπημένου με 87% αιθανόλη. Προστίθενται 3,0 ml αιθανόλης προεξισορροπημένης με πετρελαϊκό αιθέρα. Το διάλυμα αναδεύεται ισχυρά. Παραλαμβάνεται η αιθανολική φάση (κάτω φάση - πολική) η οποία μεταφέρεται σε δεύτερο σωλήνα που περιέχει 9,0 ml πετρελαϊκό αιθέρα. Ακολουθεί ισχυρή ανάδευση και παραλαβή της αιθανολικής φάσης. Στη συνέχεια προστίθεται στον πρώτο σωλήνα 3,0 ml 87% αιθανόλης και επαναλαμβάνεται η ίδια διαδικασία. Στο τέλος της όλης διαδικασίας, η αιθανολική φάση (8*3,0 ml) περιέχει τα φωσφολιποειδή, ενώ στη φάση του πετρελαϊκού αιθέρα (2*9,0 ml) περιέχονται τα ουδέτερα λιποειδή.

5.3. Μέθοδος διαχωρισμού των διαφορετικών φαινολικών κλασμάτων^[105]**➤ Όργανα:**

- Κωνικές εσφυρισμένες φιάλες
- Υάλινα σιφώνια
- Υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες.
- Υάλινες πιπέτες Pasteur.
- Περιστρεφόμενη συσκευή εξάτμισης σε ελαττωμένη πίεση (flash evaporator)
- Αέριο άζωτο
- Φυγόκεντρος Solval

➤ Αντιδραστήρια:

- Οργανικοί διαλύτες (οξικός αιθυλεστέρας, αιθανόλη) αναλυτικής καθαρότητας.
- Αέριο άζωτο

➤ Αρχή μεθόδου:

Πραγματοποιώντας εκχύλιση υγρού-υγρού παραλαμβάνονται 4 κλάσματα τα οποία περιέχουν διαφορετικές κλάσεις φαινολικών ενώσεων.

➤ Αναλυτική πορεία:

Απομακρύνεται η αλκοόλη από το δείγμα του κρασιού σε συσκευή εξάτμισης με περιστροφή υπό κενό σε θερμοκρασία 25-30°C. Στο υπόλειμμα της εξάτμισης (μη αλκοολούχο κρασί) ρυθμίζεται το pH 2.0 και εκχειλίζεται 3 φορές με 150 ml οξικού αιθυλεστέρα. Για τον καλύτερο διαχωρισμό των φάσεων πραγματοποιείται φυγοκέντρωση στα 500 g για 10 λεπτά. Η υδατική φάση (κλάσμα FI) περιέχει τις ανθοκυανίνες ενώ η οργανική φάση η οποία περιέχει τα υπόλοιπα φαινολικά συστατικά εξατμίζεται μέχρι ξηρού και αναδιαλύεται σε 100 ml νερού pH 7.0. Στη συνέχεια πραγματοποιείται ξανά εκχύλιση 3 φορές με 100 ml οξικού αιθυλεστέρα. Η οργανική που προκύπτει (κλάσμα FII) περιέχει τις προκυανιδίνες, κατεχίνες, επικατεχίνες και γλυκοζίτες της κερκετίνης. Στην υδατική φάση ρυθμίζεται το pH 2.0 και πραγματοποιείται ξανά εκχύλιση με 3 φορές 100 ml οξικού αιθυλεστέρα. Η

οργανική φάση που προκύπτει (κλάσμα FIII) περιέχει τα φαινολικά οξέα, και το παράγωγο της κερκετίνης με γλυκουρονικό οξύ. Η υδατική αποτελεί το κλάσμα FIV και περιέχει τα υπόλοιπα φαινολικά συστατικά. Όλα τα κλάσματα εξατμίστηκαν μέχρι ξηρού και αναδιαλύθηκαν σε συγκεκριμένο όγκο νερού (υδατικές) ή αιθανόλης (οργανικές).

5.4. Προσδιορισμός φαινολικών^[106]

➤ Όργανα:

- Φωτόμετρο Pharmacia Biotech/Nova spec II.

➤ Αντιδραστήρια:

- Διάλυμα Folin – Ciocalteu: Διαλύονται 10g βολφραμικού νατρίου και 2,5g μολυβδαινικού νάτριο σε 70 ml νερό. Προστίθενται 5ml φωσφορικού οξέος 85% και 10ml πυκνού υδροχλωρικού οξέος. Το όλο μίγμα αφήνεται σε επαναρροή για 10 ώρες. Ύστερα προστίθενται 16g θειικού λιθίου, 5ml νερό και μια σταγόνα βρώμιου και ακολουθεί επαναρροή για 15 λεπτά. Αφήνεται να κρυώσει σε θερμοκρασία δωματίου και φέρεται σε όγκο 100ml συμπληρώνοντας με νερό (εξασθενημένα σύμπλοκα των φωσφομολυβδαινικού/φωσφοβολφραμικού οξέων με τις ακόλουθες μορφές σχηματίζονται στο διάλυμα: $3\text{H}_2\text{O}\cdot\text{P}_2\text{O}_5\cdot 13\text{WO}_3\cdot 5\text{MoO}_3\cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $3\text{H}_2\text{O}\cdot\text{P}_2\text{O}_5\cdot 14\text{WO}_3\cdot 4\text{MoO}_3\cdot 10\text{H}_2\text{O}$).
- Πρότυπο διάλυμα τυροσόλης συγκέντρωσης 1mg/ml αιθανόλης.
- Διάλυμα Na_2CO_3 35% w/v.

➤ Αρχή μεθόδου:

Παρουσία του αντιδραστηρίου του Folin – Ciocalteu, οι φαινόλες οξειδώνονται προς τις αντίστοιχες κινόνες και τα προαναφερθέντα οξέα, ανάγονται μερικώς από την κατάσταση σθένους +6, σε ένα μίγμα ενώσεων με σθένη +6 και +5, που έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή συμπλόκου μπλε χρώματος το οποίο τελικά φωτομετρείται στα 725nm.

➤ Αναλυτική πορεία:

Το προς εξέταση δείγμα εξατμίζεται μέχρι ξηρού σε ρεύμα αζώτου. Προστίθενται διαδοχικά 3,5ml νερό, 0,1ml Folin – Ciocalteu και αναδεύουμε ισχυρά. Μετά από παραμονή 3 λεπτών προστίθενται 0,4ml Na₂CO₃ 35% και το όλο μίγμα αφού αναδευτεί εντόνως αφήνεται προς αντίδραση για μία ώρα και φωτομετρείται στα 725nm. Παράλληλα γίνεται τυφλός προσδιορισμός καθώς και προσδιορισμός σε πρότυπα διαλύματα γαλλικού οξέος από 1 – 60μg οπότε και κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς με βάση την οποία υπολογίζεται η συγκέντρωση του προς ανάλυση δείγματος.

5.5.. Εκκαθάριση ελευθέρων ριζών DPPH^[107]

➤ Όργανα:

- Υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες
- Σωληνάκια erendorff
- Αυτόματες πιπέτες και ρύγχη (tips)
- Πλάκες 96 πηγαδιών για φωτομέτρηση στο ορατό φως
- Επωαστικός κλίβανος memmert
- Φωτόμετρο sunrise tecan για μέτρηση απορρόφησης πλάκας 96 πηγαδιών

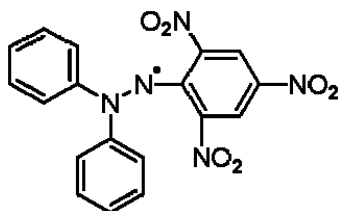
➤ Αντιδραστήρια:

- Απόλυτη αιθανόλη
- DPPH 0,4 mg/μl σε 4 αιθανόλη. Σε κάθε πείραμα ζυγίζονται 0,8 mg DPPH και αναδιαλύονται σε 2 ml απόλυτης αιθανόλης
- Διάλυμα ρεσβερατρόλης σε αιθανόλη. Ζυγίζονται 0,1 mg ρεσβερατρόλης και αναδιαλύονται σε 1 ml αιθανόλης.
- Διάλυμα κερκετίνης σε αιθανόλη. Ζυγίζονται 0,1 mg κερκετίνης και αναδιαλύονται σε 1 ml αιθανόλης.
- Διάλυμα ασκορβικού οξέος σε αιθανόλη. Ζυγίζονται 0,2 mg ασκορβικού οξέος και αναδιαλύονται σε 1 ml αιθανόλης.
- Διάλυμα γαλλικού οξέος σε αιθανόλη. Ζυγίζονται 0,02 mg γαλλικού οξέος και αναδιαλύονται σε 1 ml αιθανόλης.

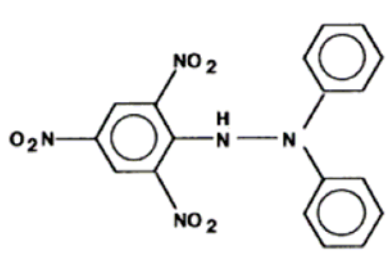
➤ Αρχή μεθόδου:

Το DPPH (1,1 διφαινυλο-2-πικρυλ-υδραζύλιο) είναι μια σταθερή ελεύθερη ρίζα, η οποία έχει ένα μονήρες ηλεκτρόνιο (εικόνα 5.1 α) το οποίο απεντοπίζεται στο συνολικό μόριο. Ο απεντοπισμός του ηλεκτρονίου δίνει χαρακτηριστικό μπλέ-μοβ χρώμα σε διάλυμα αιθανόλης που απορροφά περίπου στα 510 nm. Όταν στο διάλυμα βρεθεί ένωση δότης Η προκύπτει η ανηγμένη μορφή (εικόνα 5.1 β) του DPPH η οποία δεν είναι ελεύθερη ρίζα. Το μωβ χρώμα χάνεται και τη θέση του παίρνει το κίτρινο που οφείλεται στις πικρυλ-ομάδες του μορίου. Η μείωση της απορρόφησης στα 510 nm είναι αντιστρόφως ανάλογη της ποσότητας των ελευθέρων ριζών DPPH στο διάλυμα.

α)



β)



Εικόνα 5.1 α) Ελεύθερη ρίζα DPPH β) Ανηγμένη μορφή της ρίζας DPPH

➤ Αναλυτική πορεία:

Σε πλάκα 96 πηγαδιών τοποθετείται κατάλληλη ποσότητα αιθανόλης ώστε ο τελικός όγκος της δοκιμασίας να είναι 200 μL . Στη συνέχεια προστίθεται το εκχύλισμα το οποίο είναι διαλυμένο σε αιθανόλη, διαφορετική ποσότητα σε κάθε πηγάδι της πλάκας, και τέλος το 35 μL DPPH (έναρξη αντίδρασης). Πραγματοποιείται επώαση στους 37°C για 30 λεπτά και για 1 ώρα. Στο τέλος κάθε χρονικής στιγμής πραγματοποιείται φωτομέτρηση στα 492 nm. Τα αποτελέσματα έχουν εκφραστεί ως εκκαθάριση των ριζών DPPH που πραγματοποιήθηκε στα 30 λεπτά και στη 1 ώρα.

5.6. Μέθοδος υπεροξειδωσης λιποειδών παρουσία σιδήρου^[95]

➤ Όργανα:

- Υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες
- Σωληνάκια erendorff
- Αυτόματες πιπέτες και ρύγχη (tips)
- Ογκομετρική φιάλη των 100 ml
- Πλαστικές κυψελίδες διατομής 1 cm* 1 cm όγκου 1 ml
- Επωαστικός κλίβανος memmert
- Υδατόλουτρο Edelstahl Rost frei
- Φυγόκεντρος errendorf centrifuge 5417 C
- Φωτόμετρο Novaspec II pharmacia Biotech

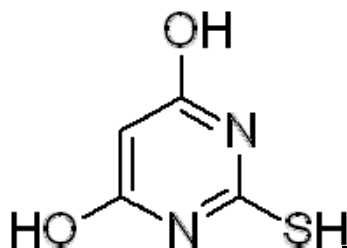
➤ Αντιδραστήρια:

- Απόλυτη αιθανόλη
- Tris(Τρι-υδοξυλαμινομεθάνιο) HCl 100 mM. Ζυγίζονται 1,2114 g Tris HCl και αναδιαλύονται σε νερό. Ρυθμίζεται το PH στα 7,5 και συμπληρώνεται ο όγκος σε ογκομετρική φιάλη μέχρι τα 100 ml.
- Λινελαϊκό οξύ (cis - Δ^9, Δ^{12} - δεκαοκταδιενοϊκό) 20 mM. Ζυγίζονται 0,0284 g λινελαϊκού οξέος σε 5 ml Tris HCl.
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 40 mM. Ζυγίζονται 0,056 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ και αναδιαλύονται σε 5 ml νερό.
- Ασκορβικό οξύ 20 mM. Παρασκευάζεται ασκορβικό οξύ 2 mg/ml με ζύγιση 2 mg ασκορβικού οξέος και αναδιαλύεται σε 1 ml νερό. Από το παραπάνω διάλυμα αναδιαλύονται 175 μl ασκορβικού 2 mg/ml σε 1 ml νερό και δημιουργείται ασκορβικό οξύ 2 mM και στη συνέχεια γίνεται αραίωση 1/10 και προκύπτει το ασκορβικό οξύ 20 mM.
- NaOH 50 mM. Ζυγίζονται 0,1946 g και αναδιαλύονται σε 97,3 ml H_2O .
- TBA (2- θειοβαρβιτουρικό) 1% w/v. Ζυγίζεται 1 gr TBA και αναδιαλύεται σε 100 ml NaOH 50 mM.
- TCA (τριχλωροξικό οξύ) 40% w/v. Ζυγίζονται 40 gr TCA σε 100 ml νερό.

- Διάλυμα ρεσβερατρόλης σε αιθανόλη. Ζυγίζονται 2 mg ρεσβερατρόλης και αναδιαλύονται σε 1 ml αιθανόλης.
- Διάλυμα κερκετίνης σε αιθανόλη. Ζυγίζονται 2 mg κερκετίνης και αναδιαλύονται σε 1 ml αιθανόλης.
- Διάλυμα γαλλικού οξέος σε αιθανόλη. Ζυγίζονται 4 mg γαλλικού οξέος και αναδιαλύονται σε 1 ml αιθανόλης.

➤ Αρχή μεθόδου:

Το λινελαϊκό οξύ παρουσία του ασκορβικού οξέος και των ιόντων σιδήρου (Fe_2^+) οξειδώνεται σε μηλονηλοαλδεϋδη (MDA). Η αντίδραση τερματίζεται με την προσθήκη τριχλωροξικού οξέος (TCA). Η προσθήκη στη συνέχεια του θειοβαρβιτουρικού οξέος (εικόνα 5.2) οδηγεί στη δημιουργία ροζ-κόκκινου συμπλόκου MDA-TBA το οποίο φωτομετρείται στα 532 nm. Παρουσία κάποιας αντιοξειδωτικής ένωσης η ποσότητα του λινελαϊκού που οξειδώνεται θα είναι μικρότερη και άρα μικρότερες ποσότητες MDA και συμπλόκου MDA-TBA θα σχηματισθούν.



Εικόνα 5.2: Δομή θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA)

➤ Αναλυτική πορεία:

1. Σε erendorf προστίθενται 30 μl Tris HCl, 500 μl λινελαϊκό οξύ, κατάλληλη ποσότητα αιθανόλης ή νερού (ανάλογα με το αν το δείγμα είναι υδατικό ή οργανικό), 10 μl ασκορβικού οξέως και τέλος 10 μl $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (έναρξη αντίδρασης) ώστε ο τελικός όγκος της κάθε αντίδρασης να είναι 650 μl . Παράλληλα πραγματοποιήθηκε τυφλό δείγμα α) όπου περιείχε όλα τα αντιδραστήρια εκτός των εκχυλισμάτων και το σίδηρο ($A_{\text{τυφλού}}$) και β) όπου περιείχε όλα τα αντιδραστήρια εκτός των εκχυλισμάτων ($A_{\text{δείγμα αναφοράς}}$). Για τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων από όλες τις απορροφήσεις αφαιρέθηκε η $A_{\text{τυφλού}}$.

2. Αμέσως τα δείγματα τοποθετούνται στον επωαστικό κλίβανο για 10 λεπτά.

3. Στη συνέχεια γίνεται διακοπή της αντίδρασης με την προσθήκη 103,5 μl διαλύματος TCA.
4. Από το κάθε δείγμα λαμβάνονται 500 μl και τοποθετούνται σε καινούργια erendorf και στη συνέχεια προστίθενται 200 μl TBA σε κάθε δείγμα. Αμέσως τα δείγματα τοποθετούνται στο υδατόλουτρο για 10 λεπτά στους 95°C.
5. Όταν βγουν τα δείγματα από το υδατόλουτρο αφήνονται να κρυώσουν σε σκοτεινό μέρος για 5 λεπτά.
6. Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρούνται στα 3500 g για 10 λεπτά.
7. Από το κάθε δείγμα λαμβάνεται προσεκτικά ο υπερκείμενο της φυγοκέντρωσης και τοποθετείται σε κυψελίδες.
8. Πραγματοποιείται φωτομέτρηση στα 532 nm, ενώ τα αποτελέσματα εκφράζονται στο ποσοστό της αναστολής σχηματισμού του συμπλόκου MDA-TBA.

Κεφάλαιο 6^ο : Αποτελέσματα**6.1. Δείγματα**

Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν, ήταν λευκός και ερυθρός οίνος από το κτήμα Χατζημιχάλη. Συγκεκριμένα:

1. Ambelon Veriki

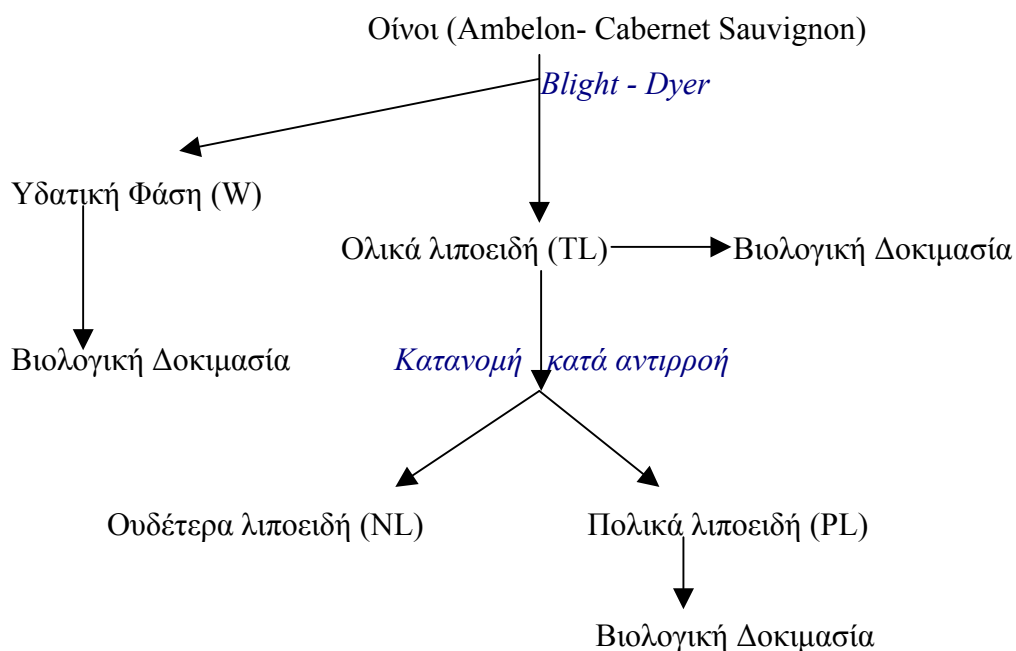
Λευκός, ξηρός οίνος του 2006, 750 ml (13% vol), κύρια ποικιλία Ρομπόλα.

2. Cabernet Sauvignon 2003

Ερυθρός, ξηρός οίνος του 2006, 750 ml (13,5% vol), κύρια ποικιλία Cabernet Sauvignon.

6.2. Εκχύλιση ολικών λιποειδών (TL) και διαχωρισμός τους σε ουδέτερα και πολικά.

Έγινε εκχύλιση των ολικών λιποειδών από τους οίνους (750 ml) με τη μέθοδο Blight – Dyer (όπως περιγράφηκε στο κεφάλαιο 5.1 και 5.2). Αφού παραλάβαμε και την υδατική φάση από τα ολικά λιποειδή κάθε κρασιού, διατηρήσαμε το 1/10, ενώ τα υπόλοιπα 9/10 διαχωρίστηκαν σε πολικά (PL) και ουδέτερα (NL) λιποειδή με κατανομή κατά αντιρροή. Τόσο τα πολικά όσο και τα ουδέτερα λιποειδή εξατμίστηκαν μέχρι ξηρού, αναδιαλύθηκαν σε συγκεκριμένο όγκο διαλύτη και αποθηκεύτηκαν σε ατμόσφαιρα αζώτου σε θερμοκρασία – 20 °C. Σε κάθε κλάσμα που προέκυψε πραγματοποιήθηκε μελέτη (βιολογική δοκιμασία) όσον αφορά την ικανότητά τους στην εκκαθάριση των ελευθέρων ριζών και στην οξείδωση των λιποειδών. Η αναλυτική πορεία όπως περιγράφηκε παρουσιάζεται στην εικόνα 6.1.



Εικόνα 6.1. Αναλυτική πορεία εκχύλισης οίνου και διαχωρισμός λιποειδών.

Πιο αναλυτικά τα αποτελέσματα σχετικά με τις ποσότητες εκχυλίσματος που περιέχει το κάθε κλάσμα παρουσιάζονται στον πίνακα 6.1.

Πίνακας 6.1: Ποσοτικά αποτελέσματα για τις ποσότητες εκχυλίσματος στο κρασί Ambelon (A) και στο Cabernet Sauvignon (C).

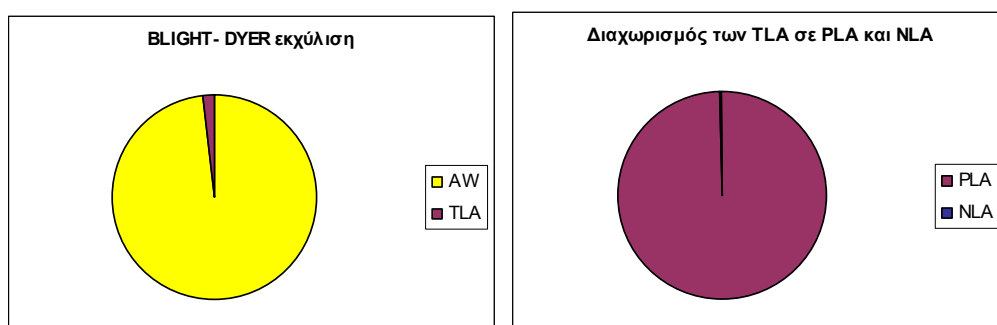
<i>Ambelon</i>		<i>Cabernet Sauvignon</i>	
Δείγμα	g	Δείγμα	g
AW	12,32	CW	22,58
TLA	0,24	TLC	0,56
PLA	0,25	PLC	0,49
NLA	0,0003	NLC	0,0007

Για το Ambelon παρατηρούμε ότι μετά την εκχύλιση Blight – Dyer το 98,1% αποτέλεσε την υδατική φάση (AW) και το 1,9% τα ολικά λιποειδή (TLA). Από τα ολικά λιποειδή το 99,8% ήταν τα πολικά λιποειδή και αποτέλεσε το κλάσμα που

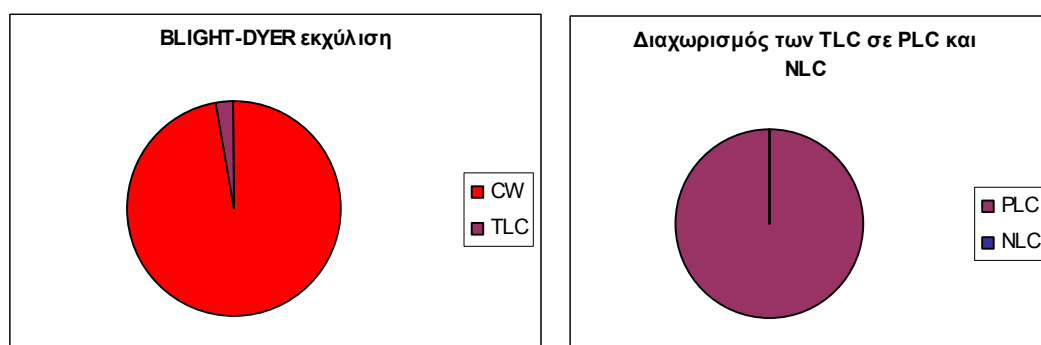
περιείχε τα πολικά (PLA) και το υπόλοιπο 0,2% έγινε το κλάσμα που περιείχε τα ουδέτερα (NLA).

Για το Cabernet Sauvignon παρατηρούμε ότι μετά την εκχύλιση Blight – Dyer το 97,6% αποτέλεσε την υδατική φάση (CW) και το υπόλοιπο 2,4% ήταν τα ολικά λιποειδή (TLC). Από αυτά το 99,9% ήταν το κλάσμα που περιείχε τα πολικά λιποειδή (PLC) και το υπόλοιπο 0,1% ήταν το κλάσμα με τα ουδέτερα (NLC).

Παραστατικά τα ποσοστά των εκχυλισμάτων που προέκυψαν μετά την επεξεργασία και των δύο τύπων κρασιών παρουσιάζονται στις εικόνες 6.2 και 6.3.



Εικόνα 6.2: Ποσοστά εκχυλισμάτων μετά από κάθε διαχωρισμό για το Ambelon.

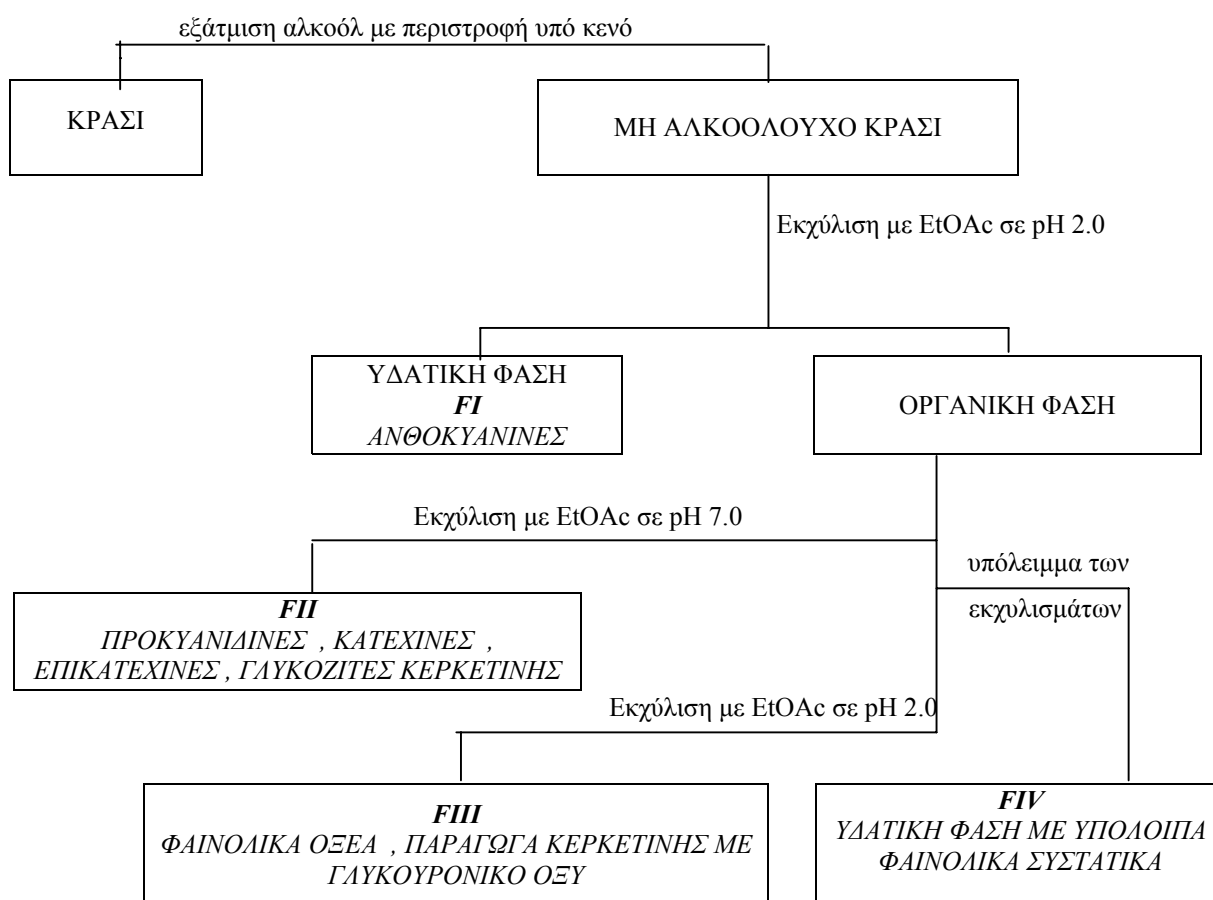


Εικόνα 6.3: Ποσοστά εκχυλισμάτων μετά από κάθε διαχωρισμό για το Cabernet Sauvignon.

Παρατηρώντας τα ποσοστά των εκχυλισμάτων που αποτελούν το κάθε κλάσμα στους δύο οίνους, βλέπουμε ότι η υδατική φάση του λευκού είναι λίγο μεγαλύτερη από του ερυθρού καθώς και ότι το ερυθρό περιέχει λίγο περισσότερη ποσότητα σε ολικά λιποειδή. Η ποσότητα των πολικών λιποειδών είναι σχεδόν η ίδια και για τους δύο τύπους κρασιών ενώ τα ουδέτερα λιποειδή αποτελούν ελαφρώς μεγαλύτερη ποσότητα για το κλάσμα του λευκού κρασιού.

6.3. Διαχωρισμός διαφορετικών κλασμάτων κρασιού ανάλογα με το φαινολικό τους περιεχόμενο.

Μετά από διαδοχικές εκχυλίσεις όπως περιγράφονται στο πειραματικό μέρος (5.3), παραλαμβάνονται 4 διαφορετικά εκχυλίσματα οίνου που περιέχουν διαφορετικές φαινολικές ενώσεις, τόσο για το λευκό όσο και για το κόκκινο. Η διαδικασία παρουσιάζεται στην εικόνα 6.4.



Εικόνα 6.4: Τα κλάσματα με τις διαφορετικές φαινολικές ενώσεις που προκύπτουν μετά τον διαχωρισμό με τις διαδοχικές εκχυλίσεις

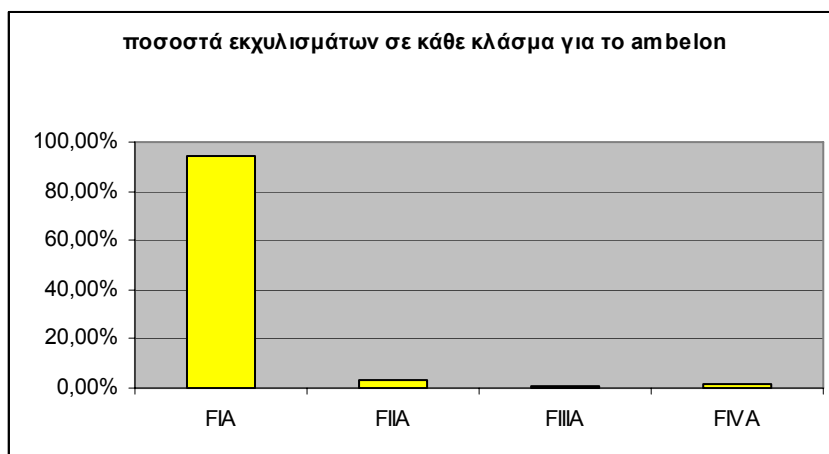
Το κάθε εκχύλισμα περιέχει και διαφορετικές ποσότητες φαινολικών ενώσεων όπως παρουσιάζεται στον πίνακα 6.2 και τις δύο ποικιλίες οίνου.

Πίνακας 6.2: Ποσότητα των διαφορετικών κλασμάτων των φαινολικών ενώσεων στο Ambelon και στο Cabernet Sauvignon.

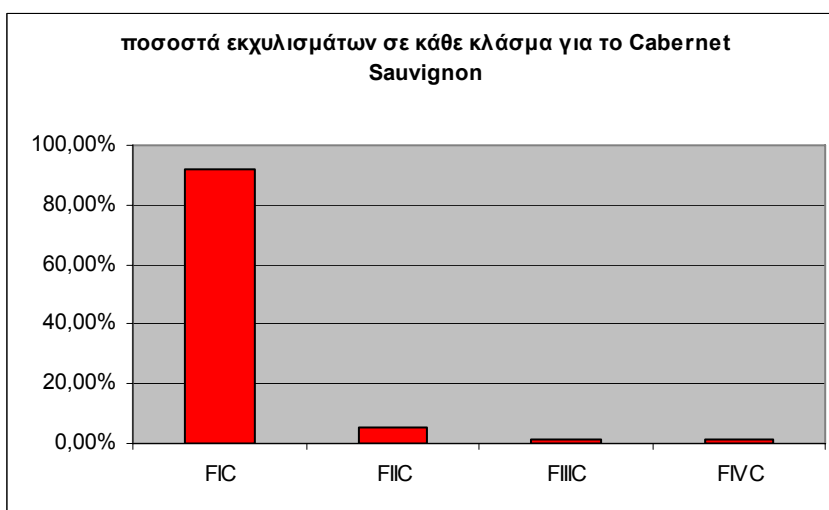
<i>Ambelon</i>		<i>Cabernet Sauvignon</i>	
Δείγμα	(g)	Δείγμα	(g)
FIA	16,26	FIA	23,52
FIIA	0,54	FIIA	1,35
FIIIA	0,15	FIIIA	0,27
FIVA	0,32	FIVA	0,38

Από το Ambelon μετά τις διαδοχικές εκχυλίσεις το 94% διαχωρίστηκε στο FI κλάσμα που περιέχει τις ανθοκυανίνες, το 3,1% αποτέλεσε το FII κλάσμα και περιέχει προκυανιδίνες, κατεχίνες, επικατεχίνες, γλυκοζίτες κερκετίνης, ενώ το 0,9% αποτέλεσε το κλάσμα FIII με τα φαινολικά οξέα και τα παράγωγα κερκετίνης με γλυκουρονικό οξύ. Τέλος το υπόλοιπο 1,8% της εκχύλισης αποτέλεσε το κλάσμα FIV που ήταν η υδατική φάση με τις υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις που δεν κατάφεραν να διαχωριστούν. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στην εικόνα 6.5.

Αντίστοιχα στο Cabernet Sauvignon το FI κλάσμα ήταν το 92,1% του οίνου προς εκχύλιση και περιέχει αντίστοιχα τις ανθοκυανίνες, το 5,3% ήταν το FII κλάσμα με τις προκυανιδίνες, κατεχίνες, επικατεχίνες, γλυκοζίτες κερκετίνης, το 1,1% ήταν το FIII με τα φαινολικά οξέα και τα παράγωγα κερκετίνης με γλυκουρονικό οξύ και τέλος το 1,5% αποτέλεσε την υδατική φάση με τις υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις, και αποτέλεσε το FIV κλάσμα. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στην εικόνα 6.6.



Εικόνα 6.5: Ποσοστά εκχυλίσματος σε κάθε κλάσμα του Ambelon



Εικόνα 6.6: Ποσοστά εκχυλίσματος σε κάθε κλάσμα του Cabernet Sauvignon

Όπως παρατηρούμε από τις παραπάνω εικόνες τόσο στο λευκό όσο και στο κόκκινο κρασί το FI κλάσμα με τις ανθοκυανίνες περιέχει το μεγαλύτερο ποσοστό εκχυλίσματος όπως προέκυψε με τη μέθοδο των διαδοχικών εκχυλίσεων. Επίσης και τα τέσσερα διαφορετικά κλάσματα στο κόκκινο δεν παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές όσον αφορά την ποσότητα των εκχυλισμάτων που περιέχουν με τα αντίστοιχα του λευκού, παρ' όλο που του κόκκινου είναι λίγο περισσότερα.

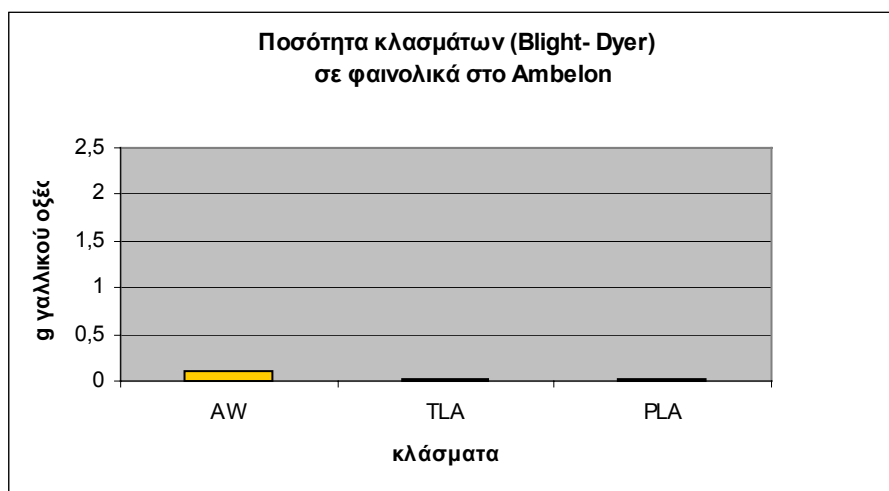
6.4. Προσδιορισμός ολικών φαινολικών στα διάφορα κλάσματα κρασιού.

Σύμφωνα με τη μέθοδο που ακολουθήθηκε (5.4) έγινε ο προσδιορισμός όλων των κλασμάτων κρασιού σε ολικά φαινολικά. Τα αποτελέσματα έχουν εκφραστεί ως g γαλλικού οξέος. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 6.3.

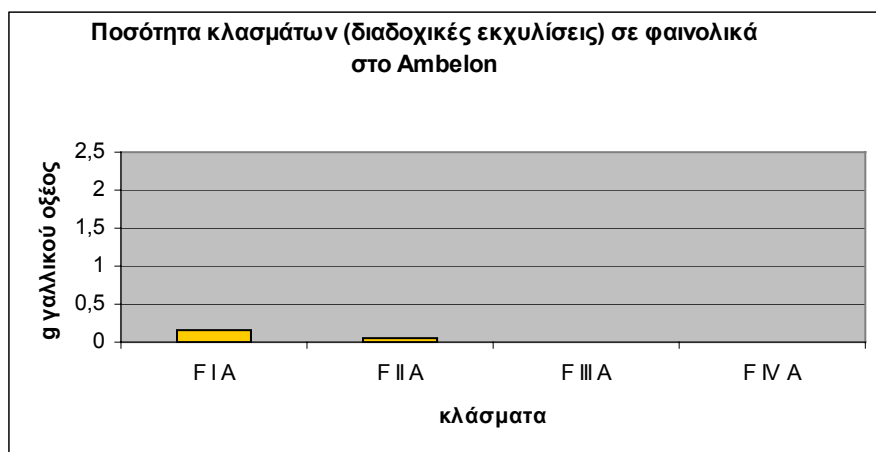
Πίνακας 6.3: Ποσότητα ολικών φαινολικών στα διάφορα κλάσματα κρασιού

<i>Ambelon</i>		<i>Cabernet Sauvignon</i>	
Κλάσματα	Γαλλικό οξύ (g)	Κλάσματα	Γαλλικό οξύ (g)
F I A	0,164	F I C	2,212
F II A	0,061	F II C	0,339
F III A	0,0013	F III C	0,026
F IV A	0,0012	F IV C	0,025
TLA	0,016	TLC	0,049
PLA	0,013	PLC	0,032
AW	0,113	CW	1,830

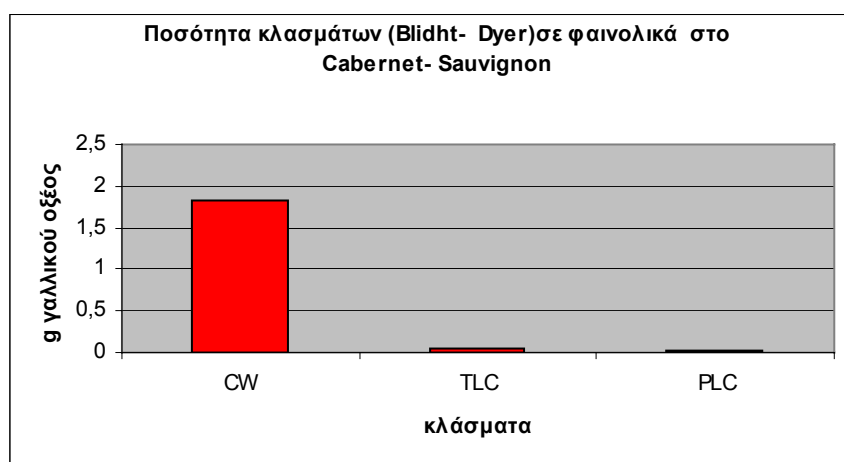
Στις εικόνες 6.7 και 6.8 φαίνονται τα αποτελέσματα για την ποσότητα σε φαινολικές ενώσεις σε κάθε κλάσμα εκχύλισης ανάλογα με την κάθε μέθοδο που ακολουθήθηκε για το λευκό, ενώ στις εικόνες 6.9 και 6.10 παρουσιάζονται τα αντίστοιχα και στο ερυθρό κρασί.



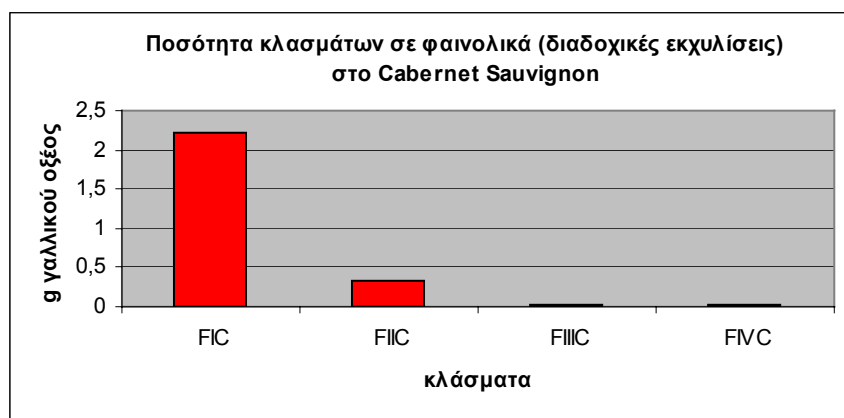
Εικόνα 6.7: Ποσότητα φαινολικών ενώσεων στα κλάσματα του Ambelon από την εκχύλιση Blight- Dyer



Εικόνα 6.8: Ποσότητα φαινολικών ενώσεων στα κλάσματα του Ambelon από τη μέθοδο των διαδοχικών εκχυλίσεων



Εικόνα 6.9: Ποσότητα φαινολικών ενώσεων στα κλάσματα του Cabernet- Sauvignon από την εκχύλιση Blight- Dyer



Εικόνα 6.10: Ποσότητα φαινολικών ενώσεων στα κλάσματα του Cabernet- Sauvignon από τη μέθοδο των διαδοχικών εκχυλίσεων

Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα όσον αφορά την εκχύλιση Blight-Dyer και στα δυο είδη κρασιού η μεγαλύτερη ποσότητα φαινολικών περιέχεται στην υδατική φάση (κλάσματα AW και CW). Τα κλάσματα που περιέχουν ολικά λιποειδή (TL) έχουν περίπου τις ίδιες ποσότητες φαινολικών και στους δύο οίνους. Το ίδιο παρατηρούμε και για τα κλάσματα των πολικών λιποειδών (PL).

Με βάση τη μέθοδο των διαδοχικών εκχυλίσεων στο λευκό κρασί η μεγαλύτερη ποσότητα φαινολικών περιέχεται στο FIA κλάσμα με τις ανθοκυανίνες και η μικρότερη στα κλάσματα FIIIA με τα φαινολικά οξέα και τα παράγωγα κερκετίνης με γλυκουρονικό οξύ και FIVA με τις υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις που δε διαχωρίστηκαν. Παρομοίως στο κόκκινο κρασί η μεγαλύτερη ποσότητα φαινολικών περιέχεται στο FIC κλάσμα και η μικρότερη στα κλάσματα FIIC και FIVC.

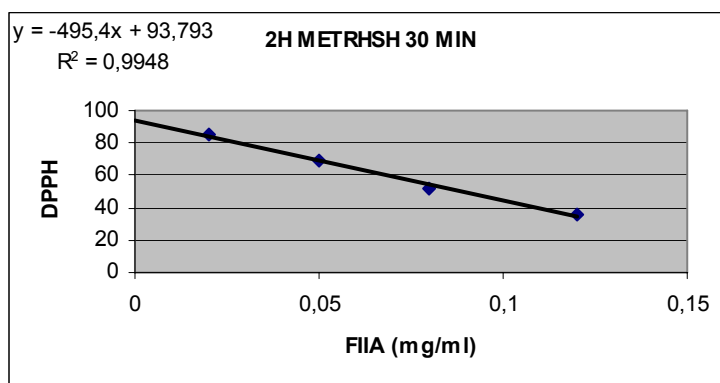
Συγκριτικά στο κόκκινο κρασί τα κλάσματα CW και FIA περιέχουν πολύ μεγαλύτερες ποσότητες φαινολικών σε σχέση με τα αντίστοιχα του λευκού. Στα υπόλοιπα κλάσματα δεν παρατηρούνται μεγάλες διαφορές

6.5. Αποτελέσματα DPPH

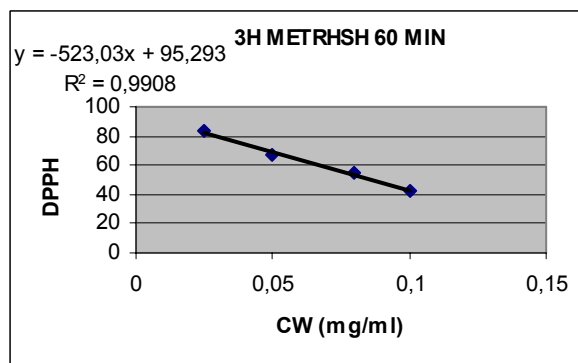
Όπως περιγράφηκε στο πειραματικό μέρος (5.5) προσπαθήσαμε να ερευνήσουμε την ικανότητα κάθε κλάσματος ξεχωριστά να δεσμεύει τις ελεύθερες ρίζες του DPPH και ως εκ' τούτου σε πιο βαθμό εμφανίζει αντιοξειδωτική δράση. Αρχικά πραγματοποιήθηκε κινητική μελέτη σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα (0, 15, 30 και 60 λεπτά) με πρότυπες ενώσεις. Σύμφωνα με αυτά τα αποτελέσματα η εκκαθαριστική δύναμη των προτύπων ενώσεων δεν παρουσίασε μεγάλες διαφορές στα 30 και 60 min. Παρόλα αυτά επιλέχθηκαν και οι δυο χρόνοι δεδομένου ότι θα χρησιμοποιούσαμε εκχυλίσματα και όχι καθαρές ενώσεις.

Έτσι προσπαθήσαμε να βρούμε το EC₅₀, δηλαδή την ποσότητα του κάθε κλάσματος που μπορεί να δεσμεύσει το 50% των ελεύθερων ριζών του DPPH. Για να βρεθεί το EC₅₀ των εκχυλισμάτων, δοκιμάστηκαν διάφορες ποσότητες από το κάθε κλάσμα στο εύρος 20-80 % της προκαλούμενης δέσμευσης. Επαναλαμβάνοντας την κάθε μέτρηση τρεις φορές στα 30 και 60 λεπτά υπολογίστηκε το % της δέσμευσης

των ελευθέρων ριζών στη συγκεκριμένη ποσότητα του εκχυλίσματος που την προκάλεσε. Στη συνέχεια κατασκευάστηκε το διάγραμμα του % δέσμευσης συναρτήσει της συγκέντρωσης του κάθε κλάσματος. Από αυτά εξήχθηκε ένας μέσος όρος και υπολογίστηκαν τα EC_{50} για τα 30 και 60 λεπτά. Ενδεικτικά παρουσιάζεται στην εικόνα 6.11 το διάγραμμα για το FIA κλάσμα στα 30 λεπτά στην εικόνα 6.12 το διάγραμμα για το για το CW κλάσμα στα 60 λεπτά.

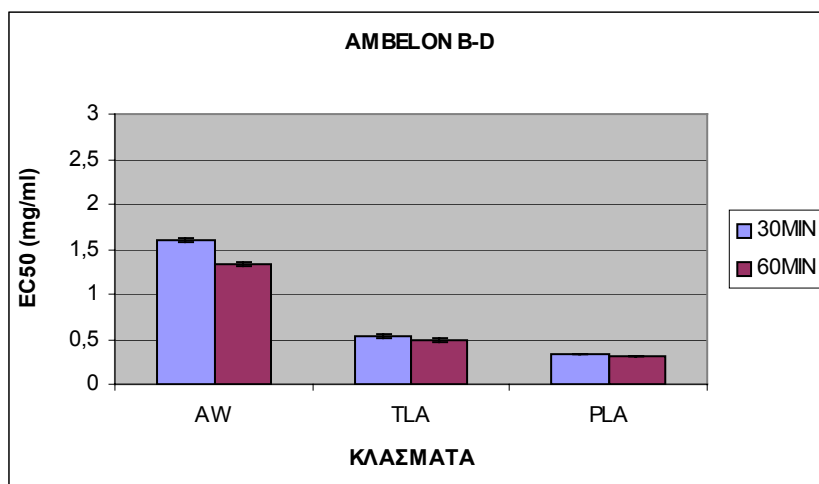


Εικόνα 6.11: Διάγραμμα της % εκκαθάρισης ελευθέρων ριζών DPPH συναρτήσει της συγκέντρωσης του κλάσματος FIA κλάσματος του Ambelon.

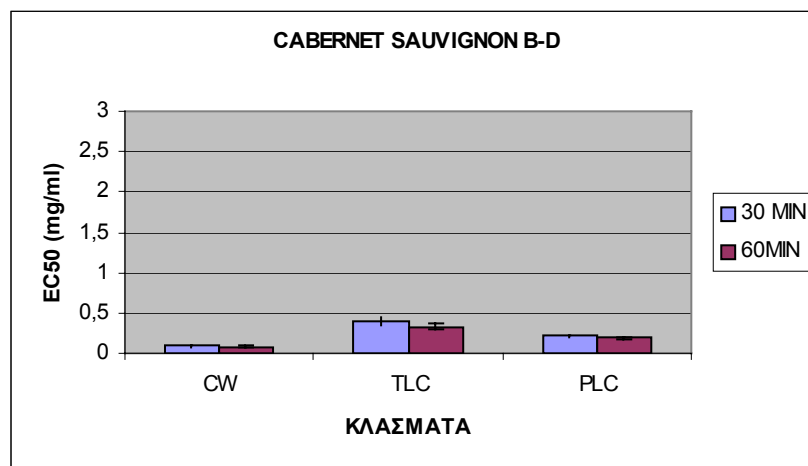


Εικόνα 6.12: Διάγραμμα της % εκκαθάρισης ελευθέρων ριζών DPPH συναρτήσει της συγκέντρωσης του κλάσματος CW κλάσματος του Cabernet- Sauvignon.

Τα αποτελέσματα των κλασμάτων από την εκχύλιση Blight- Dyer τόσο για το λευκό όσο και για το κόκκινο κρασί, από τα τρία διαφορετικά πειράματα, παρουσιάζονται στις εικόνες 6.13 και 6.14 αντίστοιχα και εκφράζονται ως μέσο όρο του $EC_{50} \pm$ τυπική απόκλιση.



Εικόνα 6.13: Τιμές EC_{50} για την εκκαθάριση των ελευθέρων ριζών DPPH των κλασμάτων της μεθόδου Blight- Dyer του Ambelon



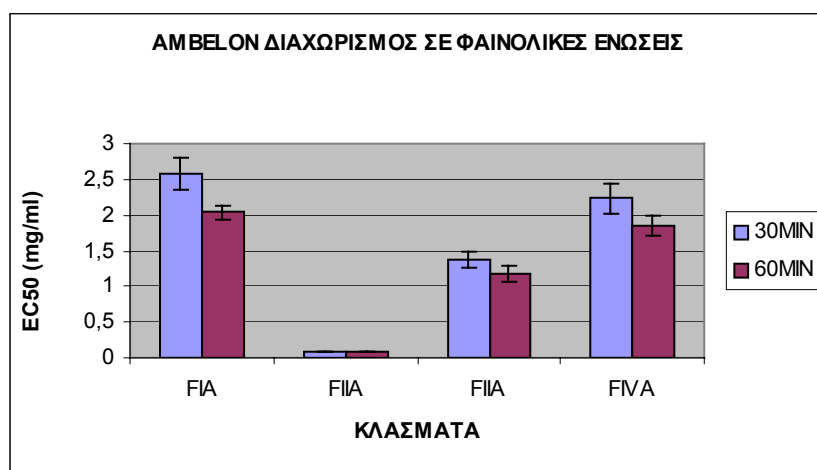
Εικόνα 6.14: Τιμές EC_{50} για την εκκαθάριση των ελευθέρων ριζών DPPH των κλασμάτων της μεθόδου Blight- Dyer του Cabernet- Sauvignon

Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα η εκκαθαριστική δύναμη των εκχυλισμάτων δεν παρουσιάζει μεγάλες διαφορές στα 30 και 60 min.

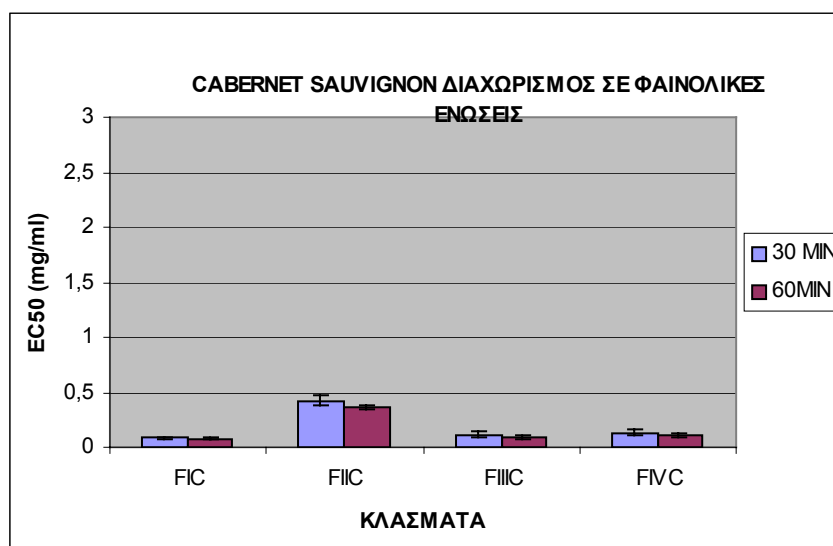
Στο λευκό κρασί το υδατικό κλάσμα, AW, παρουσιάζει μικρότερη αντιοξειδωτική δράση ($EC_{50}=1,33$ mg/ml στα 60 min) σε σχέση με το κλάσμα των ολικών λιποειδών, TLA, ($EC_{50}=0,49$ mg/ml στα 60 min). Η δράση των ολικών λιποειδών φαίνεται ότι οφείλεται στο κλάσμα των πολικών λιποειδών, PLA, ($EC_{50}=0,31$ mg/ml στα 60 min) που παρουσίασε και την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση. Αντίθετα στο κόκκινο κρασί το υδατικό κλάσμα (CW) παρουσιάζει την καλύτερη δέσμευση των ελευθέρων ριζών του DPPH ($EC_{50}= 0,08$ mg/ml). Το

κλάσμα των ολικών λιποειδών TLC με $EC_{50} = 0,33 \text{ mg/ml}$ έχει μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα που και σε αυτή την περίπτωση οφείλεται στο PLC κλάσμα των πολικών λιποειδών με $EC_{50} = 0,18 \text{ mg/ml}$.

Στις εικόνες 6.15 και 6.16 παρουσιάζονται οι τιμές των EC_{50} για την εκκαθάριση των ελευθέρων ριζών του DPPH των διάφορων κλασμάτων όπως προέκυψαν με τη μέθοδο των διαδοχικών εκχυλίσεων και εκφράζονται όπως τα παραπάνω.



Εικόνα 6.15: Τιμές EC_{50} για την εκκαθάριση των ελευθέρων ριζών DPPH των κλασμάτων της μεθόδου των διαδοχικών εκχυλίσεων του Ambelon

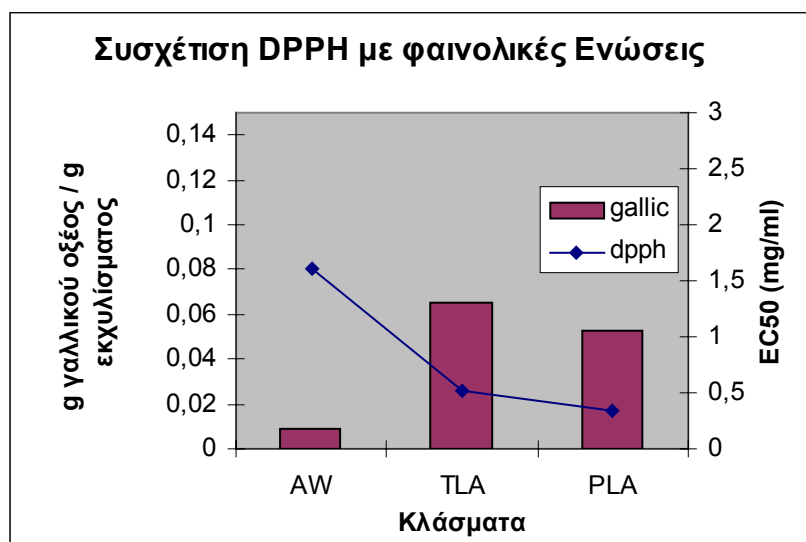


Εικόνα 6.16: Τιμές EC_{50} για την εκκαθάριση των ελευθέρων ριζών DPPH των κλασμάτων της μεθόδου των διαδοχικών εκχυλίσεων του Cabernet- Sauvignon

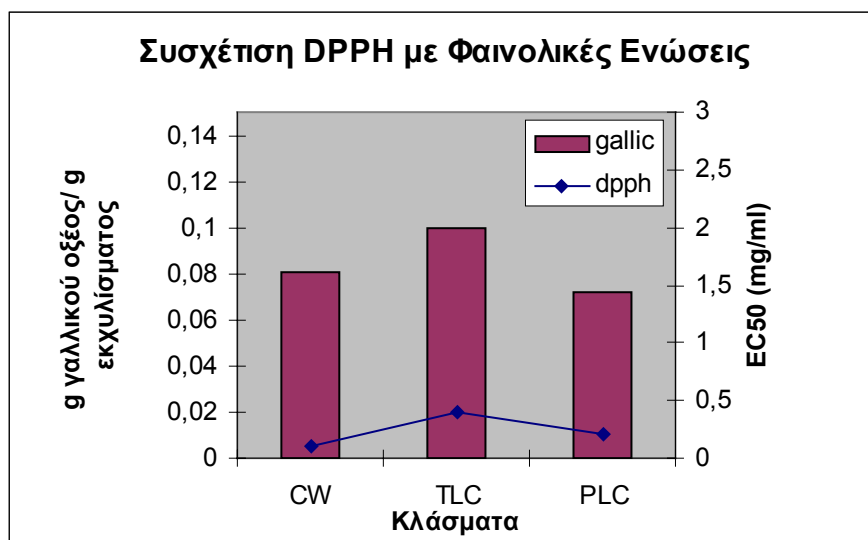
Στο λευκό κρασί μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση παρουσιάζει το κλάσμα FIIA ($EC_{50}=0,07$ στα 60 min) ενώ τη μικρότερη έχει το κλάσμα FIA ($EC_{50}=2,03$ στα 60 min). Αντίθετα στο κόκκινο τη μεγαλύτερη δράση παρουσιάζει το FIC ($EC_{50}=0,08$ στα 60 min) κλάσμα ενώ τη μικρότερη είναι το FIIC ($EC_{50}=0,36$ στα 60 min). Αξίζει να αναφερθεί ότι το FI κλάσμα περιέχει τις ανθοκυανίνες και το FII κλάσμα περιέχει προκυανιδίνες, κατεχίνες, επικατεχίνες, γλυκοζίτες κερκετίνης.

Όπως και προηγουμένως όλα τα κλάσματα του κόκκινου κρασιού παρουσιάζουν μεγαλύτερη ικανότητα εκκαθάρισης ελευθέρων ριζών αφού έχουν πολύ μικρότερες τιμές EC_{50} σε σχέση με το λευκό. Εκτός από το κλάσμα FII που είναι πιο δραστικό στο λευκό κρασί.

Θέλοντας να μελετήσουμε εάν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της αντιοξειδωτικής ικανότητας των κλασμάτων και της περιεκτικότητας σε φαινολικές ενώσεις παραθέτουμε τις εικόνες 6.17, 6.18, 6.19 και 6.20. Στον κάθετο άξονα παρουσιάζεται η συγκέντρωση των φαινολικών που περιέχεται σε κάθε κλάσμα εκφρασμένη σε g γαλλικού οξέος/ g εκχυλίσματος. Στον άλλο κάθετο άξονα παρουσιάζεται το EC_{50} της εκκαθάρισης των ελευθέρων ριζών DPPH των κλασμάτων στα 30 min.

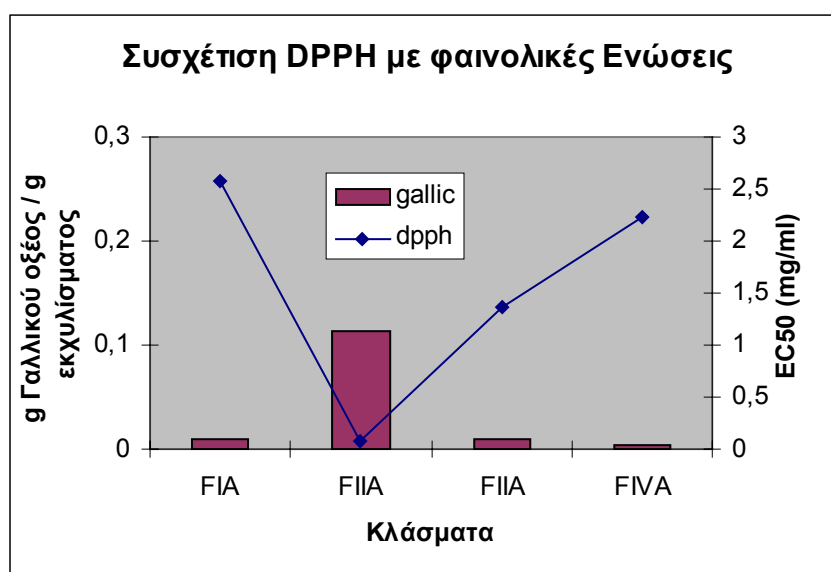


Εικόνα 6.17: Διαγράμματα συσχέτισης της συγκέντρωσης σε φαινολικές ενώσεις σε σχέση με το EC_{50} -DPPH για τα κλάσματα της μεθόδου Blight- Dyer του Ambelon

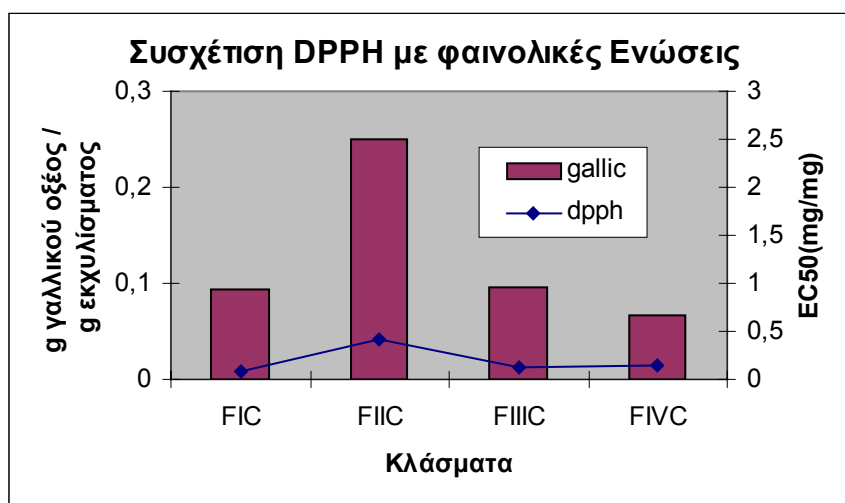


Εικόνα 6.18: Διαγράμματα συσχέτισης της συγκέντρωσης σε φαινολικές ενώσεις σε σχέση με το EC50 για τα κλάσματα της μεθόδου Blight- Dyer του Cabernet- Sauvignon

Όπως παρατηρούμε για τα κλάσματα της μεθόδου Blight- Dyer στο λευκό κρασί μεγάλη αντιοξειδωτική δράση παρουσιάζει το κλάσμα TLA με τα ολικά λιποειδή, κάτι που φαίνεται ότι οφείλεται στα πολικά λιποειδή (PLA) τα οποία όπως παρατηρούμε στο διάγραμμα έχουν τη μικρότερη τιμή EC₅₀. Η μεγαλύτερη ποσότητα σε φαινολικά περιέχεται επίσης στο TLA κλάσμα με τα ολικά λιποειδή. Στο κόκκινο κρασί και τα τρία κλάσματα παρουσιάζουν παρόμοια δραστηριότητα στην εκκαθάριση ελευθέρων ριζών, ενώ η ποσότητα των φαινολικών ενώσεων είναι λίγο μεγαλύτερη στο TLC κλάσμα των ολικών λιποειδών.



Εικόνα 6.19: Διαγράμματα συσχέτισης της συγκέντρωσης σε φαινολικές ενώσεις σε σχέση με το EC50 για τα κλάσματα της μεθόδου των διαδοχικών εκχυλίσεων του Ambelon



Εικόνα 6.20: Διαγράμματα συσχέτισης της συγκέντρωσης σε φαινολικές ενώσεις σε σχέση με το EC50 για τα κλάσματα της μεθόδου των διαδοχικών εκχυλίσεων του Cabernet- Sauvignon

Όπως παρατηρούμε για τα κλάσματα της μεθόδου των διαδοχικών εκχυλίσεων στο λευκό κρασί τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση παρουσιάζει το κλάσμα FIIA και είναι αυτό που περιέχει τις προκυανιδίνες, κατεχίνες, επικατεχίνες, γλυκοζίτες κερκετίνης το οποίο περιέχει και τη μεγαλύτερη ποσότητα φαινολικών. Τη μικρότερη αντιοξειδωτική δράση έχουν τα κλάσματα FIA, FIIIA, FIVA τα οποία περιέχουν και τη μικρότερη ποσότητα φαινολικών.

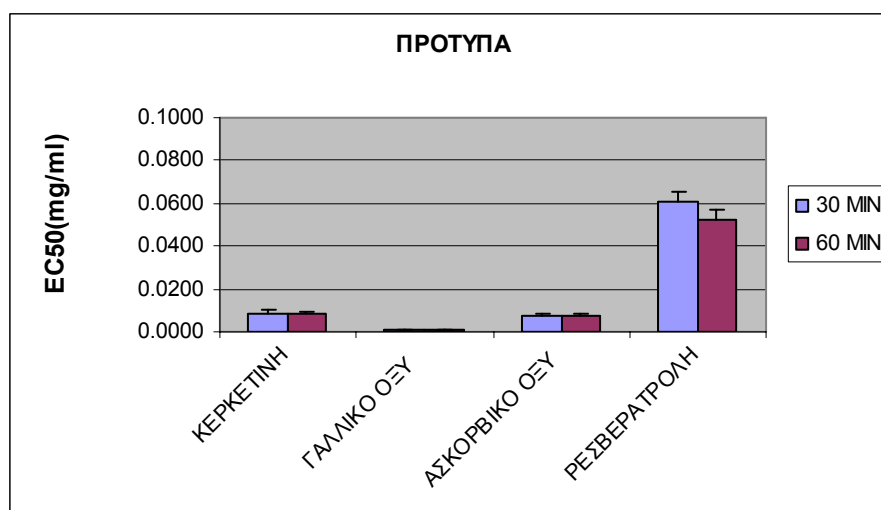
Αντίθετα στο κόκκινο κρασί τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση παρουσιάζουν τα κλάσματα FIC με τις ανθοκυανίνες, το FIIC με τα φαινολικά οξέα και τα παράγωγα κερκετίνης με γλυκουρονικό οξύ και το FIVC με τις υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις που δε διαχωρίστηκαν τα οποία έχουν παρόμοια αντιοξειδωτική δράση αλλά μικρότερη ποσότητα φαινολικών σε σχέση με το κλάσμα FIIC. Το FIIC που έχει το μεγαλύτερο EC₅₀ εμφανίζει και τη μικρότερη αντιοξειδωτική δράση.

Με βάση τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα των διάφορων κλασμάτων κρασιού δεν συμβαδίζει απαραίτητα με την ολική ποσότητα φαινολικών ενώσεων σε αυτά. Αυτό που φαίνεται επομένως να παίζει ρόλο είναι η ποιότητά των φαινολικών και όχι η ολική ποσότητα τους. Έτσι τα κλάσματα CW, που δεν περιέχει λιποειδή, και FIC, που περιέχει τις ανθοκυανίνες, είναι τα πιο δραστικά για το κόκκινο κρασί. Αντίθετα στο λευκό κρασί τα κλάσματα PLA, με τα πολικά λιποειδή, και το FIIA, που περιέχει προκυανιδίνες, κατεχίνες, επικατεχίνες, και γλυκοζίτες της κερκετίνης, εμφανίζουν τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση. Οι

ποσότητες των φαινολικών οξέων που περιέχονται σε αυτά τα κλάσματα δε φαίνεται να συμβαδίζουν με την αντιοξειδωτική ικανότητα. Στο λευκό κρασί τα κλάσματα TLA και FIIA περιέχουν τις μεγαλύτερες ποσότητες φαινολικών ενώσεων και στο κόκκινο τα αντίστοιχα κλάσματα TLA και FIIA.

6.5.1. Επιδράσεις προτύπων ενώσεων στην εκκαθάριση των ελεύθερων ριζών του DPPH

Με σκοπό να συγκρίνουμε τα αποτελέσματα των εκχυλισμάτων μας με την επίδραση που έχουν κάποιες πρότυπες ενώσεις στην δέσμευση των ελευθέρων ριζών DPPH, μελετήσαμε τέσσερις τέτοιες ενώσεις το ασκορβικό οξύ, τη ρεσβερατρόλη, την κερκετίνη και το γαλλικό οξύ. Πραγματοποιώντας τα πειράματα ακριβώς με τον ίδιο τρόπο που έγιναν τα πειράματα για τα διάφορα εκχυλίσματα εξήχθηκαν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στην εικόνα 6.21.



Εικόνα 6.21: Τιμές EC₅₀ για την εκκαθάριση των ελευθέρων ριζών DPPH πρότυπων ενώσεων

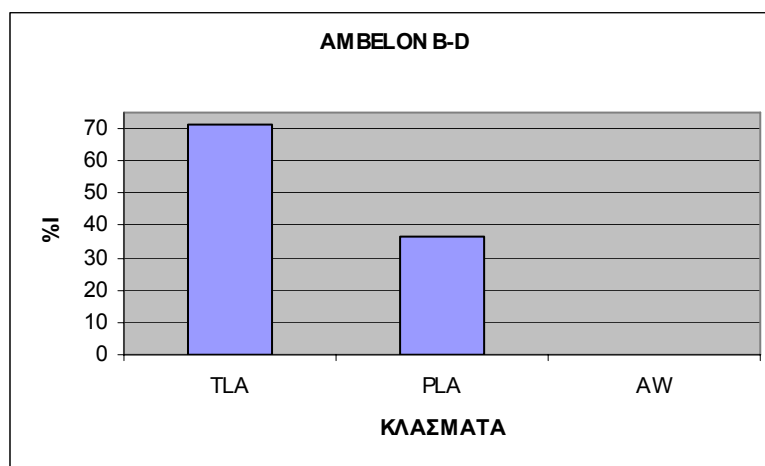
Όπως παρατηρούμε τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα εμφανίζει το γαλλικό οξύ (EC₅₀=0,0086 στα 60 min) και τη μικρότερη η ρεσβερατρόλη (EC₅₀=0,06 στα 60 min). Επίσης παρατηρούμε ότι το ασκορβικό και η κερκετίνη έχουν παρόμοια δράση παρόλο που μόνο η κερκετίνη είναι φαινολική ένωση. Οι πρότυπες ενώσεις παρουσιάζουν συνολικά μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από όλα τα κλάσματα του λευκού και του κόκκινου κρασιού. Βέβαια κάτι τέτοιο είναι

αναμενόμενο αφού τα πρότυπα διαλύματα είναι καθαρές ενώσεις ενώ τα εκχυλίσματα που εξετάστηκαν είναι μίγματα τόσο δραστικών όσο και μη δραστικών ενώσεων.

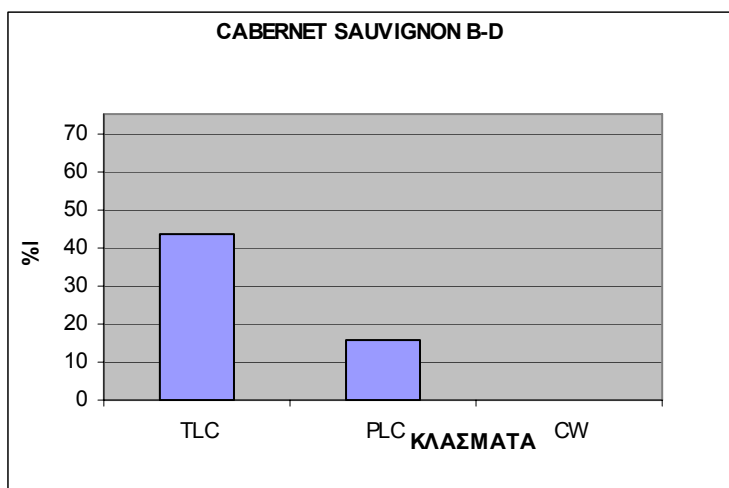
6.6. Αποτελέσματα υπεροξείδωσης λιποειδών παρουσία σιδήρου

Προσπαθώντας να προσεγγίσουμε την αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων από μια άλλη οπτική γωνία επιλέξαμε να δοκιμάσουμε την ικανότητά τους να αναστέλλουν την οξείδωση του λινελαϊκού παρουσία ιόντων σιδήρου και ασκορβικού οξέος (Μέθοδοι 5.6.). Επειδή η ποσότητες των προς εξέταση εκχυλισμάτων μας ήταν σχετικά μικρές επιλέξαμε να δοκιμάσουμε μια ποσότητα απ' όλα τα εκχυλίσματα που αντιστοιχεί στα 500 μg , η οποία ήταν η μεγαλύτερη ποσότητα εκχυλίσματος που χρησιμοποιήθηκε στη μέθοδο DPPH.

Τα αποτελέσματα φαίνονται στις εικόνες 6.22 και 6.23 για τη μέθοδο Blight-Dyer και στις εικόνες 6.24 και 6.25 για τη μέθοδο των διαδοχικών εκχυλίσεων και προέκυψαν από τρία διαφορετικά πειράματα. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως % αναστολή (I%) του δείγματος αναφοράς (απουσία εκχυλίσματος).

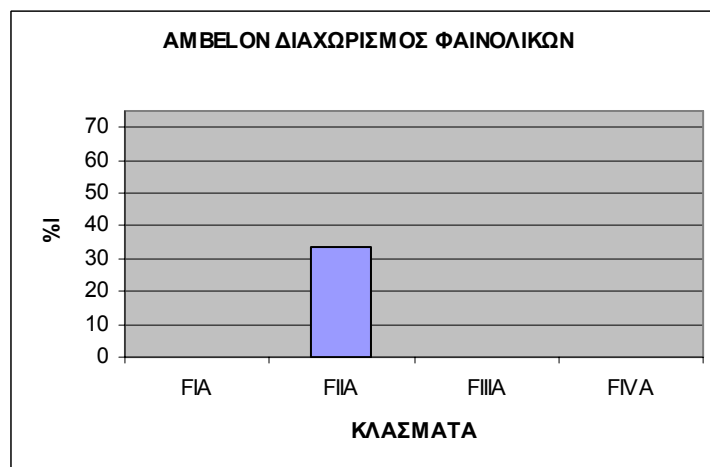


Εικόνα 6.22: Αναστολή της οξείδωσης του λινελαϊκού από τα κλάσματα (500 μg) της μεθόδου Blight- Dyer του Ambelon

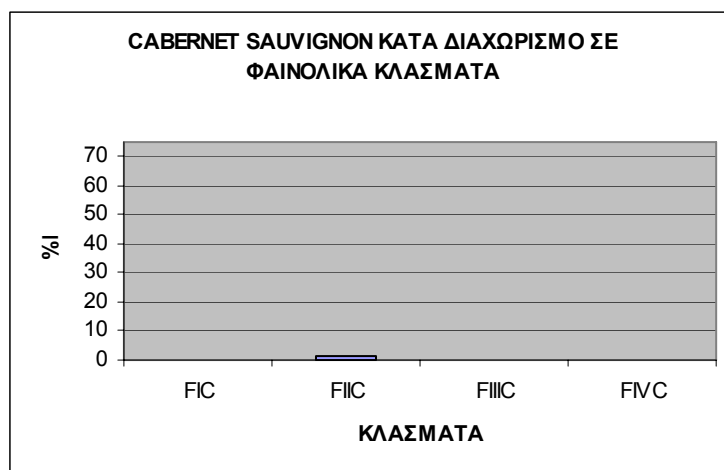


Εικόνα 6.23: Αναστολή της οξείδωσης του λινελαϊκού από τα κλάσματα (500μg) της μεθόδου Blight- Dyer του Cabernet- Sauvignon

Παρατηρούμε ότι τη μεγαλύτερη αναστολή στην οξείδωση του λινελαϊκού προκαλεί το TLA κλάσμα των ολικών λιποειδών στο λευκό και το αντίστοιχο TLC κλάσμα στο κόκκινο κρασί. Τα υδατικά κλάσματα AW και CW δεν παρουσιάζουν καμία επίδρασή όσον αφορά την αναστολή στην οξείδωση του λινελαϊκού. Συγκριτικά στα δύο κρασιά τη μεγαλύτερη αναστολή της οξείδωσης του λινελαϊκού προκαλούν τα εκχυλίσματα του λευκού κρασιού Ambelon.



Εικόνα 6.24: Αναστολή της οξείδωσης του λινελαϊκού από τα κλάσματα (500μg) της μεθόδου των διαδοχικών εκχυλίσεων του Ambelon

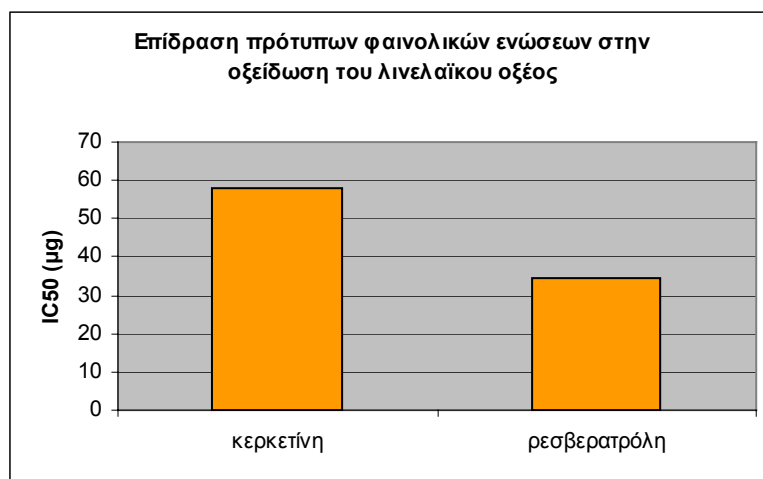


Εικόνα 6.25: Αναστολή της οξείδωσης του λινελαϊκού από τα κλάσματα (500μg) της μεθόδου των διαδοχικών εκχυλίσεων του Cabernet- Sauvignon

Παρατηρούμε για τα εκχυλίσματα που προέκυψαν με τη μέθοδο των διαδοχικών εκχυλίσεων ότι μόνο τα FII κλάσματα που περιέχουν προκυανιδίνες, κατεχίνες, επικατεχίνες, γλυκοζίτες κερκετίνης εμφανίζουν κάποια αναστολή στην προκαλούμενη από το Fe και το ασκορβικό οξύ οξείδωση του λινελαϊκού οξέος. Το FIIA του λευκού κρασιού παρουσιάζει τη μεγαλύτερη αναστολή έναντι του κόκκινου.

6.6.1. Επιδράσεις προτύπων ενώσεων στην αναστολή της οξείδωσης του λινελαϊκού

Όπως και στην προηγούμενη μέθοδο έτσι και σε αυτή προσπαθήσαμε να δούμε την επίδραση των πρότυπων ενώσεων στην οξείδωση του λινελαϊκού παρουσία ιόντων σιδήρου και ασκορβικού οξέος. Πραγματοποιώντας την ίδια πειραματική πορεία όπως ακολουθήθηκε και σε όλα τα εκχυλίσματα εξετάστηκαν τρεις ενώσεις η κερκετίνη, η ρεσβερατρόλη και το γαλλικό οξύ. Το γαλλικό οξύ στις ποσότητες που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα, μέχρι 400 μg δεν προκάλεσε κάποια αναστολή. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στην εικόνα 6.26. εκφράζονται ως τα μg της ένωσης που προκαλεί 50% αναστολή της οξείδωσης του λινελαϊκού οξέος (IC₅₀).



Εικόνα 6.26: Τιμές IC₅₀ των πρότυπων φαινολικών ενώσεων για την οξείδωση του λινελαϊκού οξέος

Όπως βλέπουμε από το σχήμα τη μεγαλύτερη αναστολή στην οξείδωση του λινελαϊκού παρουσιάζει η ρεσβερατρόλη σε σχέση με τη κερκετίνη. Οι πρότυπες ενώσεις παρουσιάζουν συνολικά μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από όλα τα κλάσματα του λευκού και του κόκκινου κρασιού. Όπως τονίστηκε και στην προηγούμενη πειραματική μελέτη τα πρότυπα διαλύματα είναι καθαρές ενώσεις και για αυτό είναι λογικό να προκαλούν μεγαλύτερη αναστολή στην οξείδωση από το Fe και ασκορβικό του λινελαϊκού οξέος. Τα εκχυλίσματα που εξετάστηκαν είναι μίγματα τόσο δραστικών όσο και μη δραστικών ενώσεων.

Κεφάλαιο 7^ο Συζήτηση

Τα τελευταία χρόνια γίνεται ιδιαίτερος λόγος για τις θετικές επιδράσεις της Μεσογειακής Δίαιτας στην υγεία του ανθρώπου. Είναι πλέον επιστημονικά αποδεδειγμένο πως ο συνδυασμός των τροφίμων της Μεσογειακής Δίαιτας, οι ποσότητες και οι συχνότητες κατανάλωσης αυτών, είναι ο λόγος για την μείωση του κινδύνου εμφάνισης πολλών βλαπτικών καταστάσεων. Πιο συγκεκριμένα οι περισσότερες επιδημιολογικές μελέτες συγκλίνουν πως η διατήρηση των λιποειδών του αίματος και της αρτηριακής πίεσης σε φυσιολογικά επίπεδα, η πρόληψη εμφάνισης καρδιαγγειακών ασθενειών, θρόμβωσης, οξειδωτικού στρες καρκίνου αλλά και οι επέκταση του χρόνου ζωής σε άτομα που ακολουθούσαν τη Μεσογειακή Δίαιτα οφείλεται σε αυτήν ακριβώς στη σύστασή της.

Το κρασί αποτελεί ένα βασικό συστατικό της Μεσογειακής Δίαιτας και μάλιστα ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας συστήνει ως μέτρια κατανάλωση αλκοόλ την ημερήσια πρόσληψη μιας με δύο μερίδες κρασί για τον άνδρα και μιας για τη γυναίκα. Από αρκετές έρευνες φαίνεται ότι το κρασί προστατεύει έναντι διάφορων παθολογικών καταστάσεων και συγκεκριμένα εμφανίζει αγγειοδιασταλτική δράση, αντιφλεγμονώδη δράση, αντιθρομβωτική δράση αντιμικροβιακή και αντιβακτηριαδική δράση, αντικαρκινική δράση, αντιαλλεργική δράση, θετική επίδραση στα επίπεδα των λιποειδών και αντιοξειδωτική δράση όταν καταναλώνεται στις μετριοπαθή ποσότητες.

Το οξειδωτικό στρες είναι μια διαδικασία που γίνεται στον οργανισμό και αφορά την αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών συγχρόνως με την εξασθένηση του φυσιολογικού οξειδωτικού συστήματος είτε λόγω χαμηλής πρόσληψης αντιοξειδωτικών με την τροφή, είτε λόγω χαμηλής ενδογενούς παραγωγής των αντιοξειδωτικών συστατικών ή αυξημένη χρήση τους ή και ανεπάρκεια.

Οι καταστροφικές επιδράσεις των ελευθέρων ριζών έχουν μελετηθεί σχετικά πρόσφατα και αφορούν την υπεροξείδωση των λιποειδών, τη μετουσίωση των πρωτεϊνών, τις τροποποιήσεις στους υδατάνθρακες και τις μεταλλάξεις στο DNA. Ως αποτέλεσμα όλων αυτών ο οργανισμός γίνεται ευάλωτος στην εκδήλωση πολλών ασθενειών όπως νόσος Parkinson, νόσος Alzheimer, αρτηριοσκλήρυνση, αυτοάνοσα νοσήματα, φλεγμονές, παχυσαρκία, καρκίνος, πρόωγη γήρανση.

Νέα επιστημονικά δεδομένα τελευταία τονίζουν πως διάφορα τρόφιμα είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικά συστατικά. Ο ρόλος τους στην αντιμετώπιση του

οξειδωτικού στρες είναι πολύ ιδιαίτερος αφού: προστατεύουν τις κυτταρικές μεμβράνες, εξουδετερώνοντας τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και δρουν καρδιοπροστατευτικά: Αυξάνοντας την ανθεκτικότητα των αγγείων, περιορίζοντας τους φλεγμονώδεις παράγοντες, αποτρέποντας την οξείδωση της LDL χοληστερόλης και συμβάλλοντας στον έλεγχο των επιπέδων της αρτηριακής πίεσης και της ομοκυστεΐνης. Επίσης ασκούν αντικαρκινική δράση αφού μπλοκάρουν ή εμποδίζουν την προσκόλληση επικίνδυνων ενζύμων στους ιστούς, αδρανοποιούν καρκινογόνες ουσίες που προκαλούν μεταλλάξεις σε υγιή κύτταρα κι επιβραδύνουν τους μηχανισμούς καρκινογένεσης. Έχουν την ικανότητα να βελτιώνουν τις πνευματικές ικανότητες και την ψυχική διάθεση, προστατεύοντας τους νευροδιαβιβαστές από την οξείδωση και βελτιώνοντας την εγκεφαλική μικροκυκλοφορία. Προσφέρουν ελαστικότητα στο δέρμα και το προφυλάσσουν από την πρόωγη γήρανση, περιορίζοντας τη διάσπαση του κολλαγόνου. Προστατεύουν οστά και αρθρώσεις, περιορίζοντας οιδήματα, φλεγμονές και εκφυλιστικές αλλοιώσεις. Ακόμα βελτιώνουν τη λειτουργική κατάσταση του αμφιβληστροειδούς χιτώνα των ματιών και ενισχύουν την όραση, δρουν αντιαλλεργικά σε μεγάλο φάσμα αλλεργιών, διαφυλάσσουν τα αποθέματα άλλων απαραίτητων θρεπτικών ουσιών στον οργανισμό, αποτρέπουν την καταστροφή τους και, σε ορισμένες περιπτώσεις, ενισχύουν τη δράση τους. Συνεπώς η καθημερινή πρόσληψη αντιοξειδωτικών συστατικών μέσω της διατροφής είναι σημαντικό βήμα στην πρόληψη ή τη θεραπεία πολλών σοβαρών νοσημάτων ^[42].

Οι επιστήμονες του USDA κατέταξαν πρόσφατα διάφορα τρόφιμα σε μια κλίμακα (ORAC) στην οποία τα σταφύλια και το κρασί κατέχουν σημαντική θέση. Το κρασί είναι πλούσιο σε λιποειδή και φαινολικές ενώσεις (π.χ. κερκετίνη, κατεχίνη, ρεσβερατρόλη, ανθοκυανίνες, μαλβινιδίνη, γαλλικό οξύ), ενώ περιέχει και άλλα συστατικά απαραίτητα για τον οργανισμό όπως βιταμίνες, ανόργανα συστατικά και αζωτούχες ενώσεις.

Η ευεργετική δράση του κόκκινου κρασιού καθιερώθηκε μέσω του «Γαλλικού Παράδοξου». Από τότε πολλές επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι το κρασί προστατεύει έναντι διάφορων παθολογικών καταστάσεων παρ' όλα αυτά το μειονέκτημα των περισσότερων είναι ότι δεν έχει πουθενά καταγραφεί το είδος του κρασιού που καταναλώνεται σε αυτές. Από την άλλη μεριά οι μελέτες παρέμβασης καταλήγουν σε αντικρουόμενα συμπεράσματα όσον αφορά την υπεροχή του κόκκινου έναντι του λευκού. Σε αντικρουόμενα συμπεράσματα καταλήγουν και οι in

vitro μελέτες όπου σε κάποιες από αυτές φαίνεται ότι το κόκκινο κρασί υπερέχει έναντι του λευκού και σε κάποιες άλλες όχι.

Σε προηγούμενες μελέτες στο εργαστήριο δοκιμάστηκαν διάφορα είδη λευκού και κόκκινου κρασιού όσον αφορά την ικανότητά τους να αναστέλλουν τη προκαλούμενη από PAF συσώρευση των αιμοπεταλίων και βρέθηκε ότι το λευκό κρασί Ambelon, κύρια ποικιλία Ρομπόλα, και το κόκκινο Cabernet Sauvignon, κύρια ποικιλία Cabernet Sauvignon, είχαν την καλύτερη δράση. Για το λόγο αυτό στην παρούσα μελέτη επιλέχθηκαν τα δύο αυτά κρασιά για να μελετηθεί η αντιοξειδωτική τους ικανότητα α) ως προς την ικανότητά τους να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες του DPPH και β) ως προς την αναστολή που προκαλούν στην οξείδωση του λινελαϊκού οξέος παρουσία ιόντων σιδήρου και ασκορβικού οξέος.

Συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκαν δυο τρόποι εκχύλισης τόσο στο λευκό οίνο Ambelon όσο και τον κόκκινο Cabernet Sauvignon. Στον πρώτο έγινε διαχωρισμός σε υδατικό κλάσμα (W) και κλάσμα με τα ολικά λιποειδή (TL) και στη συνέχεια διαχωρισμός των ολικών λιποειδών (TL) σε πολικά (PL) και ουδέτερα (NL). Στον δεύτερο τρόπο πραγματοποιήθηκαν διαδοχικές εκχυλίσσεις, με σκοπό την παραλαβή κλασμάτων με διαφορετικό περιεχόμενο σε φαινολικές ενώσεις, και τα κλάσματα που προέκυψαν ήταν τα: FI κλάσμα που περιέχει τις ανθοκυανίνες, FII κλάσμα που περιέχει προκυανιδίνες, κατεχίνες, επικατεχίνες, γλυκοζίτες κερκετίνης, FIII κλάσμα με τα φαινολικά οξέα και τα παράγωγα κερκετίνης με γλυκουρονικό οξύ, το FIV κλάσμα που ήταν η υδατική φάση με τις υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις που δεν κατάφεραν να διαχωριστούν.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των κλασμάτων στην πρώτη εκχύλιση έδειξε ότι τόσο ο ερυθρός οίνος όσο και ο λευκός περιέχει μεγαλύτερη ποσότητα υδατικού κλάσματος 98,1% για το AW και 97,6% για το CW. Η ποσότητα των ολικών λιποειδών για το λευκό ήταν 1,9% TLA. Από τα ολικά λιποειδή το 99,8% ήταν τα πολικά λιποειδή (PLA) και το υπόλοιπο 0,2% τα ουδέτερα (NLA). Για το ερυθρό το 2,4% ήταν τα ολικά λιποειδή (TLC). Από αυτά το 99,9% ήταν τα πολικά λιποειδή (PLC) και το υπόλοιπο 0,1% ήταν το κλάσμα με τα ουδέτερα (NLC). Με σκοπό να γίνει μια πιο αδρή ποσοτική εκτίμηση των φαινολικών ενώσεων που περιέχονται σε κάθε κλάσμα πραγματοποιήθηκε προσδιορισμών φαινολικών σε κάθε κλάσμα και διαπιστώθηκε πως το κόκκινο κρασί περιέχει σχεδόν διπλάσια ποσότητα φαινολικών σε κάθε κλάσμα σε σχέση με τα αντίστοιχα του λευκού, εκτός του κλάσματος των ολικών λιποειδών που περιείχε σχεδόν ίδιες ποσότητες φαινολικών και στα δύο

κρασιά, ενώ το υδατικό κλάσμα περιείχε τις μεγαλύτερες ποσότητες φαινολικών σε σχέση με τα υπόλοιπα κλάσματα.

Στη δεύτερη εκχύλιση παρατηρήσαμε ότι στο λευκό το 94% του εκχυλίσματος ήταν στο FIA κλάσμα, το 1% αποτέλεσε το FIIA κλάσμα, το 0,9% FIIIA και το υπόλοιπο 1,8% της εκχύλισης αποτέλεσε το κλάσμα FIVA. Τα αντίστοιχα στο κόκκινο δεν παρουσίασαν μεγάλες διαφορές. Έτσι το 92,1% ήταν FIC, το 5,3% ήταν το FIIC, το 1,1% ήταν το FIIC και υπόλοιπο το 1,5% το FIV C. Όπως και στην προηγούμενη εκχύλιση έτσι και σε αυτή πραγματοποιήθηκε ποσοτική εκτίμηση των φαινολικών ενώσεων που περιέχονται σε κάθε κλάσμα με προσδιορισμών φαινολικών και διαπιστώθηκε πως το κόκκινο κρασί περιέχει σχεδόν διπλάσια ποσότητα φαινολικών σε κάθε κλάσμα σε σχέση με τα αντίστοιχα του λευκού. Το FI κλάσμα, που περιέχει τις ανθοκυανίνες, περιείχε τις μεγαλύτερες ποσότητες φαινολικών από κάθε άλλο κλάσμα, τόσο στο λευκό όσο και στο κόκκινο.

Μελετώντας την αντιοξειδωτική ικανότητα του κάθε κλάσματος και για τα δύο κρασιά παρατηρήσαμε ότι στο λευκό τη μεγάλη αντιοξειδωτική δράση όσον αφορά την εκκαθάριση των ελευθέρων ριζών του DPPH παρουσιάζει το κλάσμα με τα ολικά λιποειδή (TLA), κάτι που φαίνεται ότι οφείλεται στα πολικά λιποειδή (PLA). Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά περιέχεται επίσης στο TLA κλάσμα. Στο κόκκινο κρασί είδαμε ότι και τα τρία κλάσματα παρουσιάζουν παρόμοια αντιοξειδωτική δράση. Στο λευκό κρασί επίσης τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση παρουσιάζει το κλάσμα FIIA, που περιέχει τις προκυανιδίνες, κατεχίνες, επικατεχίνες, γλυκοζίτες κερκετίνης το οποίο περιέχει και τη μεγαλύτερη ποσότητα φαινολικών. Αντίθετα στο κόκκινο κρασί τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση παρουσιάζουν τα κλάσματα FIC με τις ανθοκυανίνες, FIIC με τα φαινολικά οξέα και τα παράγωγα κερκετίνης με γλυκουρονικό οξύ και το FIVC με τις υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις που δε διαχωρίστηκαν, τα οποία έχουν παρόμοια αντιοξειδωτική δράση και φαινολικό περιεχόμενο αλλά μικρότερη ποσότητα φαινολικών σε σχέση με το κλάσμα FIIC το οποίο εμφάνισε μικρότερη αντιοξειδωτική δράση. Γενικό συμπέρασμα είναι ότι τα κλάσματα του κόκκινου κρασιού εμφάνισαν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση έναντι του κόκκινου με εξαίρεση το κλάσμα FII που περιέχει τις προκυανιδίνες, κατεχίνες, επικατεχίνες και τους γλυκοζίτες της κερκετίνης που ήταν πιο δραστικό στο λευκό κρασί. Επιπλέον σε μια προσπάθεια να εκτιμηθεί η βιολογική δράση των εκχυλισμάτων εξετάσθηκε η αντιοξειδωτική δράση πρότυπων φαινολικών ενώσεων, οι οποίες είναι γνωστό ότι υπάρχουν στο κρασί. Από τις

πρότυπες ενώσεις που μελετήθηκαν τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα όσον αφορά την εκκαθάριση των ελευθέρων ριζών εμφανίζει το γαλλικό οξύ και τη μικρότερη η ρεσβερατρόλη. Επίσης το ασκορβικό και η κερκετίνη έχουν παρόμοια αντιοξειδωτική δράση παρόλο που μόνο η κερκετίνη είναι φαινολική ένωση. Οι πρότυπες ενώσεις παρουσιάζουν συνολικά μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από όλα τα κλάσματα του λευκού και του κόκκινου κρασιού, αφού πρόκειται για καθαρές ενώσεις είναι καθαρές ενώσεις ενώ τα εκχυλίσματα που εξετάστηκαν είναι μίγματα τόσο δραστικών όσο και μη δραστικών ενώσεων.

Μελετώντας την επίδραση των διάφορων κλασμάτων στην αναστολή της προκαλούμενης από το σίδηρο και το ασκορβικό οξύ οξείδωσης του λινελαϊκού, είδαμε ότι τη μεγαλύτερη αναστολή προκαλεί το TLA κλάσμα των ολικών λιποειδών στο λευκό και το αντίστοιχο TLC κλάσμα στο κόκκινο κρασί. Τα υδατικά κλάσματα AW και CW δεν παρουσιάζουν καμία επίδρασή όσον αφορά την αναστολή στην οξείδωση του λινελαϊκού. Μάλιστα τη μεγαλύτερη αναστολή της οξείδωσης του λινελαϊκού προκαλούν τα εκχυλίσματα του λευκού κρασιού Ambelon. Παρατηρούμε για τα εκχυλίσματα που προέκυψαν με τη μέθοδο των διαδοχικών εκχυλίσεων ότι μόνο τα FII κλάσματα που περιέχουν προκυανιδίνες, κατεχίνες, επικατεχίνες, γλυκοζίτες κερκετίνης εμφανίζουν κάποια αναστολή στην προκαλούμενη από το Fe και το ασκορβικό οξύ οξείδωση του λινελαϊκού οξέος. Το FIIA του λευκού κρασιού παρουσιάζει τη μεγαλύτερη αναστολή έναντι του κόκκινου. Από τις πρότυπες ενώσεις μεγαλύτερη αναστολή στην οξείδωση του λινελαϊκού παρουσιάζει η ρεσβερατρόλη σε σχέση με τη κερκετίνη. Οι πρότυπες ενώσεις παρουσιάζουν συνολικά μεγαλύτερη αναστολή στην οξείδωση του λινελαϊκού από όλα τα κλάσματα του λευκού και του κόκκινου κρασιού αφού είναι καθαρές ενώσεις.

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας είναι συγκρίσιμα και με άλλες παρόμοιες μελέτες στις οποίες διάφορες φαινολικές ενώσεις που υπάρχουν και στο κρασί εξετάστηκαν με παρόμοιες μεθόδους. Τα αποτελέσματα των ερευνών έδειξαν ότι συγκεκριμένες φαινολικές ενώσεις μπορούν να παρουσιάσουν μεγάλη ικανότητα στη δέσμευση των ελευθέρων ριζών του DPPH για κόκκινα κρασιά που έχει αφαιρεθεί η αιθανόλη όπως και για δύο ποικιλίες παλαιωμένου λευκού κρασιού ^[105, 108, 109]. Σε άλλες μελέτες που εξετάστηκε η αναστολή της οξείδωσης λιποειδών χρησιμοποιήθηκαν διάφορες φαινολικές ενώσεις από εκχυλίσματα κόκκινου και λευκού κρασιού και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το κόκκινο εμφάνιζε καλύτερη δράση ^[95, 110].

Με βάση τα αποτελέσματα των μελετών μας δε μπορούμε πάντως να διακρίνουμε το κόκκινο από το λευκό κρασί ως προς την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, αφού στη μέθοδο του DPPH τα περισσότερα κλάσματα του κόκκινου κρασιού εμφάνισαν καλύτερη αντιοξειδωτική δράση, ενώ στη μέθοδο οξείδωσης του λινελαϊκού με ιόντα σιδήρου και ασκορβικό οξύ καλύτερη δράση εμφάνισε το λευκό. Επομένως η κάθε μέθοδος έδωσε διαφορετικά αποτελέσματα κάτι που αναδεικνύει την ανάγκη διεξαγωγής περισσότερων μελετών.

Με βάση τα προηγούμενα συμπεραίνουμε ότι η ποσότητα των ολικών φαινολικών δεν είναι καθοριστικός παράγοντας για την εκδήλωση της βιολογικής δράσης στο κρασί αλλά αυτό που παίζει το μεγαλύτερο ρόλο είναι το είδος των φαινολικών που περιέχονται στα διάφορα εκχυλίσματα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Θεωρητικό Μέρος: Το οξειδωτικό στρες αφορά την αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών στον οργανισμό συγχρόνως με την εξασθένηση του φυσιολογικού αντι - οξειδωτικού του συστήματος. Είναι μια κατάσταση που μπορεί να ευθύνεται για την εκδήλωση πολλών παθολογικών καταστάσεων όπως η αθηροσκλήρωση και η φλεγμονή αφού οι ελεύθερες ρίζες μετατρέπουν την LDL στην οξειδωμένη της μορφή και ενεργοποιούν πολλούς μεσολαβητές της φλεγμονής (TNF-a, IL-6, PAF). Η Μεσογειακή Δίαιτα παρέχει σημαντικές αντιοξειδωτικές ουσίες μέσω των διάφορων διατροφικών της συστάσεων. Το κρασί είναι βασικό συστατικό της Μεσογειακής Δίαιτας, με αποδεδειγμένες ευεργετικές δράσεις στην υγεία. Τα εκχυλίσματα τόσο του λευκού όσο και του κόκκινου κρασιού περιέχουν υδατικά συστατικά και λιποειδή συμπεριλαμβανομένου φαινολικών ενώσεων που φαίνεται να προσδίδουν στο κρασί την αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική του δράση. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης εκχυλισμάτων λευκού και κόκκινου κρασιού στην εκκαθάριση των ελευθέρων ριζών και στην οξείδωση των λιποειδών.

Μέθοδοι: Πραγματοποιήθηκαν τόσο στο λευκό όσο και στο κόκκινο κρασί δυο τρόποι εκχύλισης α) Εκχύλιση Blight-Dyer οπότε προέκυψε το υδατικό κλάσμα (W) και το κλάσμα των ολικών λιποειδών (TL) που διαχωρίστηκε περαιτέρω σε ουδέτερα (NL) και πολικά (PL) λιποειδή, β) Διαδοχικές εκχυλίσεις με οξικό αιθυλεστέρα διαφορετικού pH οπότε προέκυψαν τα κλάσματα: FI (ανθοκυανίνες), FII (προκυανιδίνες, κατεχίνες, επικατεχίνες, γλυκοζίτες κερκετίνης), FIII (φαινολικά οξέα και τα παράγωγα κερκετίνης με γλυκουρονικό οξύ) και FIV (υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις). Σε όλα τα κλάσματα πραγματοποιήθηκε χημικός προσδιορισμός ολικών φαινολικών. Εξετάστηκε η ικανότητα τους να προκαλούν εκκαθάριση των ελευθέρων ριζών του DPPH και η ικανότητά τους να αναστέλλουν την οξείδωση του λινελαϊκού παρουσία ιόντων σιδήρου και ασκορβικού.

Αποτελέσματα: Γενικό συμπέρασμα είναι ότι τα κλάσματα του κόκκινου κρασιού εμφάνισαν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση έναντι του λευκού με εξαίρεση το κλάσμα FII που περιέχει τις προκυανιδίνες, κατεχίνες, επικατεχίνες και τους γλυκοζίτες της κερκετίνης που ήταν πιο δραστικό στο λευκό κρασί. Τόσο στο κόκκινο όσο και στο λευκό κρασί τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις έχει το κλάσμα FII. Επίσης τα TL και FII κλάσματα του λευκού και του κόκκινου ήταν τα μόνα που εμφάνισαν αναστολή στην οξείδωση του λινελαϊκού. Μάλιστα το λευκό είχε καλύτερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με το κόκκινο.

Συμπεράσματα: Με βάση τα προηγούμενα φαίνεται ότι η ποσότητα των ολικών φαινολικών δεν είναι καθοριστικός παράγοντας για την εκδήλωση βιολογικής δράσης στο κρασί αλλά αυτό που παίζει το μεγαλύτερο ρόλο είναι το είδος των φαινολικών που περιέχονται στα διάφορα εκχυλίσματα. Επίσης από τις δύο μεθόδους που πραγματοποιήθηκαν δεν διακρίνεται η υπεροχή του κόκκινου έναντι του λευκού αφού στη πρώτη μέθοδο το κόκκινο είχε καλύτερη αντιοξειδωτική δράση από το λευκό, ενώ στη δεύτερη μέθοδο το λευκό ήταν το πιο δραστικό.

Summary

Background: Oxidative stress occurs from the increased production of free radicals in the body along with a reduction of the normal antioxidant system. It is a situation that could be responsible for the onset of many illnesses such as atherosclerosis and inflammation, as free radicals convert LDL in the oxidized form and cause the production of inflammation mediators (TNF- α , IL-6, PAF). The Mediterranean Diet provides important antioxidant substances through the various dietary recommendations. Wine is a key component of the Mediterranean Diet, and many studies have shown that wine has beneficial effects on health. Both white and red wine extracts contain bioactive ingredients such as lipid and phenolic compounds that contribute to wine antioxidant activity. The scope of this study is to examine the antioxidant activity of white and red wine extracts.

Methods: In order to extract wine compounds two methods were performed. a) Blight-Dyer extraction result in the aqueous solution (W) and the fraction of total lipid (TL) that was further separated to neutral lipids (NL) and polar lipids (PL). b) Continuously extractions with ethyl acetate result in FI fraction containing the anthocyanins, FII fraction containing procyanidines, catechine, epicatechin, quercetin-3- glucoside, FIII fraction of phenolic acids and quercetin-3 glucuronide and FIV fraction containing the remaining phenolic compounds. In all fractions total phenolic determination was performed. The ability of all fractions to scavenging DPPH free radicals and to inhibit the linoleic acid oxidation by iron ions and ascorbic acid, was tested.

Results: All the fractions of red wine showed better antioxidant capacity than the white ones, except the white wine fraction FII (procyanidines, catechine, epicatechin, quercetin-3- glucoside) that exhibit better scavenging activity. In both wines fraction FII had the highest concentration of phenolic compounds. TL and FII fractions of both wines were the only ones that inhibited linoleic acid oxidation, with white wine fractions be more potent than red.

Conclusion: Based on the above results it could be conclude that the total amount of phenolics is not the determining factor for the onset of biological activity in wines. It seems more possible that the nature of phenolic compounds to be crucial for the

antioxidant activity. It is also important to mention that no distinguished superiority was observed between the two wines since the red wine extracts were more potent in scavenging the free radicals and the white wine extracts were more potent in linoleic acid inhibition.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Trichopoulou A, Vasilopoulou E: *Mediterranean diet and longevity* British Journal Nutrition 2000.84: 205-209
2. Τριχόπουλος Δ, Σκαλκίδης Ι, Τριχοπούλου Α, Τουλούμη Π, Σουλίου Δ: *Η υγεία των Ελλήνων: Χθες, σήμερα, αύριο*. Mat Med Gr 1989
3. Willett W.C, Sacks, F, Trichopoulou, A, Drescher, G., Ferro-Luzzi, A., Helsing, E., Trichopoulos, D : *Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating*. Am Clin Nutr. 1995.6:1402S-1406S
4. Kok FJ, Kromhout D. Atherosclerosis: *epidemiological studies on the health effects of a Mediterranean diet*. Eur J Nutr. 2004 Mar;43 Suppl 1:I/2-5.
5. Matalas A.L, Zambelas A, stavrinou V, Wolinski I.. *The Mediterranean diet: Constituents and Health Promotion*. CRP Press LLC. Chapter 3: *The Mediterranean diet: Definition, Epidemiological Aspects and Current Patterns*. 2001. (Trichopoulou A. and Lagiou P.)
6. Manios Y, Detopoulou V, Visioli F, Galli C. *Mediterranean diet as a nutrition education and dietary guide: misconceptions and the neglected role of locally consumed foods and wild green plants*. Forum Nutr. 2006;59:154-70.
7. Simopoulos A: *What is so special about the diet of Greece?* The scientific evidence. World Rev Nutr Diet. 2005; 95:80-92. Review.
8. Πολιτιστικό και τεχνολογικό ίδρυμα ETBA «Ι. Μπουτάρης & Υιός Α.Α.Ο.Ε. & ΕΕ.» *Ιστορία του Ελληνικού κρασιού*. Αθήνα 1992
9. Giovanni de Gaetano, Augusto Di Castelnuovo, Maria B. Donati, Licia Iacoviello: *The Mediterranean Lecture: Wine and Thrombosis- from epidemiology to physiology and Back* (2003-2004)
10. George J. Soleas, Eleftherios P. Diamandis, and David M. Goldberg: *Wine as a Biological Fluid: History, Production and Role in Disease Prevention*. Journal of Clin Nutr 1997. 11: 287-313
11. Michelle Micallef, Louise Lexis, and Paul Lewandowski: *Red wine consumption increases antioxidant status and decreases oxidative stress in the circulation of both young and old humans*. 2007. Journal of Clin Nutr 6:27
12. Alfredo C Cordova, La Scienya M Jackson, David W Berke- Schlessel, Bauer E Sumpio: *The Cardiovascular Protective Effect of Red Wine*. (2005)
13. Menotti A, Kromhout D, Blackburn H, Fidanza F, Buzina R, Nissinen A.: *Food intake patterns and 25-year mortality from coronary heart disease: cross-cultural correlations in the Seven Countries Study*. The Seven Countries Study Research Group. Eur J Epidemiol. 1999. Jul;15(6):507-15.
14. Benetou V, Trichopoulou A, Orfanos P, Naska A, Lagiou P, Boffetta P, Trichopoulos D; Greek EPIC cohort. *Conformity to traditional Mediterranean diet and cancer incidence: the Greek EPIC cohort*. Br J Cancer. 2008. Jul 8;99(1):191-5
15. Barzi F, Woodward M, Marfisi RM, Tavazzi L, Valagussa F, Marchioli R; GISSI-Prevenzione Investigators. *Mediterranean diet and all-causes mortality after myocardial infarction: results from the GISSI-Prevenzione trial*. Eur J Clin Nutr. 2003 Apr;57(4):604-11.
16. Panagiotakos D, Pitsavos C, Chrysoshoou C, Palliou K, Lentzas I, Skoumas I, Stefanadis C. *Dietary patterns and 5-year incidence of cardiovascular*

- disease: *A multivariate analysis of the ATTICA study*. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2008 Aug 20.
17. Visioli F, Grande S, Bogani P, Galli C. *The role of antioxidants in the mediterranean diets: focus on cancer*. Eur J Cancer Prev. 2004 Aug;13(4):337-43. Review.
 18. Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF, Griel AE, Etherton TD. *Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer*. Am J Med. 2002 Dec 30;113 Suppl 9B:71S-88S. Review.
 19. Steffen LM, Jacobs DR Jr, Stevens J, Shahar E, Carithers T, Folsom AR. *Associations of whole-grain, refined-grain, and fruit and vegetable consumption with risks of all-cause mortality and incident coronary artery disease and ischemic stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study*. Am J Clin Nutr. 2003 Sep;78(3):383-90.
 20. Negri E, La Vecchia C, Pelucchi C, Bertuzzi M, Tavani A. *Fiber intake and risk of nonfatal acute myocardial infarction*. Eur J Clin Nutr. 2003 Mar; 57(3):464-70.
 21. Ghiselli A, D'Amicis A, Giacosa A. *The antioxidant potential of the Mediterranean diet*. Eur J Cancer Prev. 1997 Mar;6 Suppl 1:S15-9. Review.
 22. Bogani P, Visioli F. *Antioxidants in the Mediterranean diets: An update*. World Rev Nutr Diet. 2007;97:162-79. Review.
 23. Matalas A.L, Zambelas A, stavrinou V, Wolinski I. (2001). *The Mediterranean diet: Constituents and Health Promotion*. CRP Press LLC.
 24. Karantonis HC, Antonopoulou S, Demopoulos CA. *Antithrombotic lipid minor constituents from vegetable oils. Comparison between olive oils and others*. J Agric Food Chem. 2002 Feb 27;50(5):1150-60.
 25. Karantonis HC, Antonopoulou S, Perrea DN, Sokolis DP, Theocharis SE, Kavantzis N, Iliopoulos DG, Demopoulos CA. *In vivo antiatherogenic properties of olive oil and its constituent lipid classes in hyperlipidemic rabbits*. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2006 Apr;16(3):174-85. Epub 2005 Dec 13.
 26. Jacobson TA. *Beyond lipids: the role of omega-3 fatty acids from fish oil in the prevention of coronary heart disease*. Curr Atheroscler Rep. 2007 Aug;9(2):145-53. Review.
 27. Anand RG, Alkadri M, Lavie CJ, Milani RV. *The role of fish oil in arrhythmia prevention*. J Cardiopulm Rehabil Prev. 2008 Mar-Apr; 28(2):92-8. Review.
 28. A. Panayiotou, D. Samartzis, T. Nomikos, E. Fragopoulou, H.C.Karantonis, C.A.Demopoulos and I.Zabetakis: *Lipid fractions with aggregatory and antiaggregatory activity toward platelets in fresh and fried cod (Gadus morhua): Correlation with platelet-activating factor and atherogenesis*. J. Agric. Food Chem. (2000) 48, 6372
 29. Ness AR, Smith GD, Hart C. *Milk, coronary heart disease and mortality*. J Epidemiol Community Health. 2001 Jun;55(6):379-82
 30. Cichosz G.: *Atherogenic properties of milk fat--facts or myths?* Przegl Lek. 2007; 64 Suppl 4:32-4. Review.
 31. Rimm EB, Ellison RC.: *Alcohol in the Mediterranean diet*. Am J Clin Nutr. 1995 Jun;61
 32. Vogel RA.: *Alcohol, heart disease, and mortality: a review*. Rev Cardiovasc Med. 2002 Winter;3(1):7-13.
 33. Renaud S, Lanzmann-Petithory D, Gueguen R, Conard P. *Alcohol and mortality from all causes*. Biol Res. 2004;37(2):183-7.

34. Fielding R. *Does diet or alcohol explain the French paradox?* Lancet. 1995 Feb 25;345(8948):527-8.
35. Dixon JB, Dixon ME, O'Brien PE *Reduced plasma homocysteine in obese red wine consumers: a potential contributor to reduced cardiovascular risk status.* Eur J Clin Nutr. 2002 Jul;56(7):608-14
36. Malinski MK, Sesso HD, Lopez-Jimenez F, Buring JE, Gaziano JM. *Alcohol consumption and cardiovascular disease mortality in hypertensive men.* Arch Intern Med. 2004 Mar 22;164(6):623-8
37. Knoops KT, de Groot LC, Kromhout D, Perrin AE, Moreiras-Varela O, Menotti A, van Staveren WA. *Mediterranean diet, lifestyle factors, and 10-year mortality in elderly European men and women: the HALE project.* JAMA. 2004 Sep 22;292(12):1433-9.
38. Γαλάρης Δ : *Ελεύθερες ρίζες: Χημεία- Βιοχημεία.* Ιατρική σχολή, Ιωάννινα 2001. Κεφάλαια 2, 3, 6, 7
39. Groff J.L. and Gropper S. S. (2000): *Advanced Nutrition and Human Metabolism.* Wadsworth Thompson Learning
40. Alarcon de la Lasta et all. Curr Pharma Des 2001;7(10): 933-50
41. Boskou D. *Olive oil.* World Rev Nutr Diet. 2007;97:180-210. Review
42. Jaleel A. *Ageing and health: free radicals and oxidative stress.* J Coll Physicians Surg Pak. 2008 Aug;18(8):465-6.
43. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. *Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging.* Proc Natl Acad Sci U S A. 1993 Sep 1;90(17):7915-22. Review
44. Young IS, Woodside JV. *Antioxidants in health and disease.* J Clin Pathol. 2001 Mar;54(3):176-86
45. Vinson J.A. Hao J. Su X. Zubic L. (1998): *Phenolic antioxidant quality and quantity in foods: fruits.* Department of Chemistry, University of Scranton, Pennsylvania 18510-4626, and Institute of Biochemistry and Molecular Biology, University of Wroclaw, 51-184 Wroclaw Poland
46. Boskou D. C. . *Polyphenols: Chemistry dietary sources, Metabolism and Nutritional Significance.* Nutr. 1999. 56(11):317-333
47. Μπόσκου Δ.: *Χημεία τροφίμων,* Έ έκδοση. Θεσσαλονίκη, Εκδόσεις Γαργατάνη 2004
48. Papas AM. *Diet and antioxidant status.* Food Chem Toxicol. 1999 Sep-Oct;37(9-10):999-1007.
49. McBride, Judy. *High-ORAC Foods May Slow Aging.* February 8, 1999.
50. Β. Δ. Κριμπά: *Ελληνική Αμπελογραφία.* Αθήνα 2006, 1^{ος} Τόμος
51. Alonso Borbalán AM, Zorro L, Guillén DA, Barroso CG. *Study of the polyphenol content of red and white grape varieties by liquid chromatography-mass spectrometry and its relationship to antioxidant power.* J Chromatogr A. 2003 Sep 12;1012(1):31-8.
52. Waterhouse AL. *Wine phenolics.* Ann N Y Acad Sci. 2002 May;957:21-36. Review.
53. Landrault N, Pouchet P, Ravel P, Gasc F, Cros G, Teissedre PL. *Antioxidant capacities and phenolics levels of French wines from different varieties and vintages.* J Agric Food Chem. 2001 Jul;49(7):3341-8.
54. Κουτελιδάκης Α. *Φαινολικά συστατικά και πρόληψη καρδιαγγειακών παθήσεων.* Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών 2008.
55. Σουφλερός Η.Ε. : *Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία.* Θεσσαλονίκη 2000. τόμος 1^{ος}

56. Σουφλερός Η.Ε. : *Οινολογία επιστήμη και τεχνολογία*. Θεσσαλονίκη 2000. τόμος 2^{ος}
57. Τσακίρης Ν.Α. : *Οινολογία από το σταφύλι στο κρασί*. Αθήνα 1994
58. Guyon F, Douet C, Colas S, Salagoity MH, Medina B. *Effects of must concentration techniques on wine isotopic parameters*. J Agric Food Chem. 2006 Dec 27;54(26):9918-23.
59. Roulton B. R. ,Singleton V. L. , Bisson L. F. Kunkee R. E. : *Principles and practices of winemaking*. USA 1996
60. Φραγκοπούλου Ε. , *Απομόνωση και in vitro μελέτη λιποειδών από οίνους και γλεύκη, Δομικές μελέτες των βιολογικά δραστικών κλασμάτων*, Ερευνητική εργασία διπλώματος ειδίκευσης, 2000
61. Räthel TR, Samtleben R, Vollmar AM, Dirsch VM. *Activation of endothelial nitric oxide synthase by red wine polyphenols: impact of grape cultivars, growing area and the vinification process*. J Hypertens. 2007 Mar;25(3):541-9.
62. Ndiaye M, Chataigneau T, Andriantsitohaina R, Stoclet JC, Schimi-Kerth VB. *Red wine polyphenols cause endothelium-depended EDHF-mediated relaxations in porcine coronary arteries via a redox-sensitive mechanism*. Biochem. Biophys. Res.Comun. 2003;310:371-7.
63. Stoclet JC, Chataigneau T, Ndiaye M. *Vascular protection by dietary polyphenols*. Europ. J. of Pharmacology 2004;500:299-313.
64. Emilio Sacanella, Mònica Vázquez-Agell, Mari Pau Mena, Emilia Antúnez, Joaquim Fernández-Solá, José Maria Nicolás, Rosa M Lamuela-Raventós, Emilio Ros, and Ramón Estruc:*Down-regulation of adhesion molecules and other inflammatory biomarkers after moderate wine consumption in healthy women: a randomized trial* Am. J. Clinical Nutrition, Nov 2007; 86: 1463 - 1469.
65. E.Fragopoulou, T.Nomikos, S.Antonopoulou, C.A.Mitsopoulou and C.A.Demopoulos *Separation of biologically active lipids from red wine*. J.Agricultural Food Chemistry(2000) 48, 1234
66. Fragopoulou, T.Nomikos, N.Tsantila, A.Mitropoulou, I.Zabetakis and C.A.Demopoulos: *Biological activity of total lipids from red and white wine/must*. J. Agric. Food Chem., (2001) 49, 5186
67. E.Fragopoulou, S.Antonopoulou, and C.A.Demopoulos:*Biologically active lipids with antiatherogenic properties from white wine and must*. J.Agric.Food Chem. (2002) 50, 2684
68. E. Fragopoulou, S.Antonopoulou, T.Nomikos and C.A.Demopoulos: *Structure elucidation of phenolic compounds from red/white wine with antiatherogenic properties* Biochim. Biophys. Acta (2003) 1632, 90.
69. Dell'Agli M, Busciala A, Bosisio E. *Vascular effects of wine polyphenols*. Cardiovascular Research 2004;63:593-602.
70. Stoclet JC, Chataigneau T, Ndiaye M. *Vascular protection by dietary polyphenols*.Europ. J. of Pharmacology 2004;500:299-313
71. de Lange DW, Verhoef S, Gorter G, Kraaijenhagen RJ, van de Wiel A, Akkerman JW. *Polyphenolic grape extract inhibits platelet activation through PECAM-1: an explanation for the French paradox*. Alcohol Clin Exp Res. 2007 Aug;31(8):1308-14. Epub 2007 Jun 9.
72. Weisse ME, Eberly B, Person DA. *Wine as a digestive aid: comparative antimicrobial effects of bismuth salicylate and red and white wine*. BMJ. 1995 Dec 23-30;311(7021):1657-60.

73. Δ. Κουρέτας, *Ερευνητικά αποτελέσματα σχετικά με τη διερεύνηση του χημειοπροστατευτικού-αντικαρκινικού ρόλου των οινοποιητικών προϊόντων της Ελλάδος στη πρόληψη μεταλλάξεων* Παν/μιο Θεσσαλίας (2007)
74. Kuo PL, Hsu YL. *The grape and wine constituent piceatannol inhibits proliferation of human bladder cancer cells via blocking cell cycle progression and inducing Fas/membrane bound Fas ligand-mediated apoptotic pathway.* Mol Nutr Food Res. 2008 Apr;52(4):408-18.
75. Armentia A. *Adverse reactions to wine: think outside the bottle.* Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2008 Jun;8(3):266-9. Review
76. Pal S, Ho SS, Takechi R. *Red wine polyphenolics suppress the secretion of ApoB48 from human intestinal CaCo-2 cells.* J Agric Food Chem. 2005 Apr 6;53(7):2767-72.
77. Berrougui H, Cloutier M, Isabelle M, Khalil A. *Phenolic-extract from argan oil (Argania Spinosa L.) inhibits human low-density lipoprotein (LDL) oxidation and enhances cholesterol efflux from human THP-1 macrophages.* Atherosclerosis 2006;184:389-96.
78. Zern TL, Fernandez ML. *Cardioprotective effect of dietary polyphenols.* J. Nutr. 2005;135:2291-4.
79. Manach C, Mazur A, Scalbert A. *Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases.* Current Opinion in Lipidology 2005;16:77-84.
80. Rodrigo R, Rivera G. *Renal damage mediated by oxidative stress: a hypothesis of protective effects of red wine.* Free Radic Biol Med. 2002 Aug 1;33(3):409-22. Review.
81. Arivam M, Fuhrman B. *Polyphenolic flavonoids inhibit macrophage-mediated oxidation of LDL and attenuate atherosclerosis.* Atherosclerosis 1998;137:45-50.
82. Fuhrman B, Arivam M. *Flavonoids protect LDL from oxidation and attenuate atherosclerosis.* Cur. Opin. Lipid. 2001;12:41-8.
83. Morton LW, Caccetta RA, Puddey IB, Croft KD. *Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds.* Clin. Exp. Pharmac. and Physiol. 2000;27:152.
84. Kaliora AC, Dedousis GVZ, Schmid H. *Dietary antioxidants in preventing atherogenesis.* Atherosclerosis 2005.
85. Nomikos, T., Fragopoulou, E., Antonopoulou, S. : *Food ingredients and lipid mediators.* Current Nutrition and Food Science 3 (4).2007 ;, pp. 255-276
86. Fuhrman B, Arivam M. *Flavonoids protect LDL from oxidation and attenuate atherosclerosis.* Cur. Opin. Lipid. 2001;12:41-8
87. Estruch R, Sacanella E, Badia E et al. *Different effects of red wine and gin consumption on inflammatory biomarkers of atherosclerosis: A prospective randomized crossover trial. Effects of wine on inflammatory markers.* Atherosclerosis. 2004;175:1
88. Olas B, Wachowicz B, Saluk-Juszczak J, Zieliski T. *Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on platelet activation induced by endotoxin or thrombin.* Thrombosis 2002;107:141-5
89. Rein D, Paglieroni TG, Wun T et al. *Cocoa inhibits platelet activation and function.* Ame. J. Clin. Nutr. 2000 ;72:30-5.
90. Paul E. Szmitko, Chao-Hung Wang, Richard D. Weisel, Greg A. Jeffries, Todd J. Anderson, Subodh V. *Biomarkers of Vascular Disease Linking Inflammation to Endothelial Activation.* 2003;108:2041.

91. Russo P, Tedesco I, Russo M, Russo GL, Venezia A, Cicala C. *Effects of de-alcoholated red wine and its phenolic fractions on platelet aggregation*. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2001 Feb;11(1):25-9
92. Teede HJ, McGrath BP, DeSilva L, Cehun M, Fassoulakis A, Nestel PJ. *Isoflavones reduce arterial stiffness: a placebo-controlled study in men and postmenopausal women*. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2003 Jun 1;23(6):1066-71. Epub 2003 Apr 24.
93. Demrow HS, Slane PR, Folts JD: *Administration of wine and grape juice inhibits in vivo platelet activity and thrombosis in stenosed canine coronary arteries*. 1995 Feb 15;91(4):1182-8
94. Brand- Williams W. , M. E. Cuvelier and Berset : *Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity*. Lebensm- Wiss. U- technol. , 1995 28-30
95. Chang W. Choi, Sei C Kim, Soon S. Hwang, Bong K. Choi, Hye J. Ahn, Min Y. Lee, Sang H. Park, Soo K. Kim : *Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison*. Plant Science 163, 2002: 1161-1168
96. Pignatelli P, Ghiselli A, Buchetti B, Carnevale R, Natella F, Germanò G, Fimognari F, Di Santo S, Lenti L, Violi F. *Polyphenols synergistically inhibit oxidative stress in subjects given red and white wine*. Atherosclerosis. 2006 Sep;188(1):77-83. Epub 2005 Nov 23.
97. Whitehead TP, Robinson D, Allaway S, Syms J, Hale A. *Effect of red wine ingestion on the antioxidant capacity of serum*. Clin Chem. 1995 Jan;41(1):32-5.
98. Feng AN, Chen YL, Chen YT, Ding YZ, Lin SJ. *Red wine inhibits monocyte chemotactic protein-1 expression and modestly reduces neointimal hyperplasia after balloon injury in cholesterol-Fed rabbits*. 1999 Nov 30;100(22):2254-9
99. Wu JM, Wang ZR, Hsieh TC, Bruder JL, Zou JG, Huang YZ. *Mechanism of cardioprotection by resveratrol, a phenolic antioxidant present in red wine*. Int J Mol Med. 2001 Jul;8(1):3-17
100. Lorgeil M, Salen P, Marin JL, Boucher F, Paillard F, de Leiris J. *Wine drinking and risks of cardiovascular complications after recent acute myocardial infarction*. 2002; 106: 1465-1469
101. Renaud SG, Beswick AD, Fehily AM, Sharp DS, Elwood PC. *Alcohol and platelet aggregation: the Caerphilly Prospective Heart Disease Study*. 1992; 55: 1012-1017
102. Renaud S, de Lorgeil M. *Wine, alcohol, platelets and the French Paradox for coronary heart disease*. Lancet 1992; 339: 1523-1526
103. Bligh EG, Dyer WJ.: *A rapid method of total lipid extraction and purification*. Can J. Biochem Physiol 1959;37:911-917.
104. Galanos D.S., Kapoulas V.M. *Isolation of polar lipids from triglyceride mixtures*. Lipid Res. 1962, 3,134
105. Ghiselli A, Nardini M, Baldi A, Scaccini C: *Antioxidant Activity of Different Phenolic Fractions Separated from an Italian Red Wine*. J Agric Food Chem. 1998 Feb 16;46(2):361-367
106. Singleton V.L., Joseph A., Rossi J.R., : *Am. J. Enol. Vitic.*, 144 – 158
107. Molyneux Philip : *The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*. J. Sci. Technol, 2004, 26(2): 211-219

108. Συρίμπεη Χρυσάνθη: Μεταβολές στο οξειδωτικό περιεχόμενο και την αντιοξειδωτική δράση Ελληνικών λευκών κρασιών κατά την ωρίμανση. Πτυχιακή μελέτη , 2006
109. Μαντή Κωνσταντίνα: *Παρασκευή μη αλκοολούχου ερυθρού οίνου και μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας αυτού*. Πτυχιακή μελέτη , 2007
110. Kalkan Yildirim H, Delen Akçay Y, Güvenç U, Yildirim Sözmen E. *Protection capacity against low-density lipoprotein oxidation and antioxidant potential of some organic and non-organic wines*. Int J Food Sci Nutr. 2004 Aug;55(5):351-62.