



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ:
ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ
ΥΓΙΕΙΝΗ
ΠΟΙΟΤΗΤΑ-ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ

Μεταπτυχιακή εργασία

“Περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και αντιοξειδωτικές ιδιότητες παραγόμενων οίνων της Θεσσαλίας.”

Μεταπτυχιακός φοιτητής: Ευαγγέλου Μάριος

Τριμελής Επιτροπή:

Χατζηχριστοδούλου Χρήστος, Αναπληρωτής Καθηγητής

Τσακάλωφ Ανδρέας, Επίκουρος Καθηγητής

Τσιρόπουλος Νικόλαος, Καθηγητής

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

1. Ιστορική αναδρομή

1.1	Αμπέλι - Οίνος και ιστορία	5
1.2	Η ιστορία του οίνου στην Ελλάδα από την αρχαιότητα έως σήμερα.....	6
1.3	Η πρώτη ύλη της οινοποιίας.....	8
1.3.1	Το σταφύλι στη οινοποίηση – μέθοδοι οινοποίησης.....	8
1.3.2	Τα μέρη του σταφυλιού, φυσιολογία και η χημική σύσταση τους.....	8
1.4	Ερυθρή οινοποίηση.....	12
1.4.1	Διαδικασίες και στάδια ερυθρής οινοποίησης.....	12
1.4.2	Διαφορές ερυθρών – ροζέ – λευκών οίνων.....	17
1.4.3	Τύποι και κατηγορίες κρασιών	18
1.5	Αμπελοκαλλιέργεια – Οινοποιία στη Θεσσαλία.....	19
1.5.1	Χαρακτηριστικά των κυριότερων ποικιλιών της Θεσσαλίας και των παραγομένων τους οίνων.....	21

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

2. Ο οίνος ως προϊόν διατροφής – ανθρώπινη υγεία.

2.1	Ιστορικά στοιχεία για την ιατρική δράση του οίνου.....	23
2.2	Το κρασί ως συστατικό της μεσογειακής διατροφής και οι ευεργετικές του επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία.....	23
2.3	Θρεπτικά συστατικά του οίνου – Βιταμίνες – Φυτικοχημικές ιδιότητες του οίνου.....	24
2.4	Ενεργειακό δυναμικό του οίνου.....	25
2.5	Εισαγωγή στα φαινολικά συστατικά.....	26
2.5.1	Ορισμός και βιοσύνθεση	26
2.5.2	Ρόλος των φαινολικών συστατικών στα φυτά.....	27
2.5.3	Παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση των φαινολικών στα φυτά.....	27
2.5.4	Πηγές φαινολικών συστατικών.....	28
2.5.5	Χρήση των φαινολικών συστατικών στη βιομηχανία τροφίμων.....	29
2.6	Φαινολικά συστατικά του οίνου.....	30
2.6.1	Εισαγωγή.....	31
2.6.2	Κατάταξη των φαινολικών συστατικών της σταφυλής.....	31
2.6.3	Οργανοληπτικές ιδιότητες των φαινολικών συστατικών στους οίνους.....	37
2.7	Βιολογικός ρόλος φαινολικών συστατικών.....	38
2.7.1	Αντιοξειδωτική δράση φαινολικών συστατικών.....	38
2.7.2	Ελεύθερες ρίζες και οξειδωτικό stress	38
2.7.3	Ελεύθερες ρίζες και δραστικές μορφές οξυγόνου	38
2.7.4	Οξειδωτικό stress και συνέπειες σε κυτταρικό επίπεδο.....	41
2.7.5	Μηχανισμοί αντιοξειδωτικής δράσης φαινολικών ενώσεων.....	43
2.7.6	Μηχανισμός δέσμευσης ελευθέρων ριζών.....	43

2.7.7 Μηχανισμός συμπλοκοποίησης ιόντων.....	44
2.7.8 Μηχανισμός προστασίας αντιοξειδωτικών ενζύμων.....	45
2.7.9 Μηχανισμός προστασίας της κυτταροπλασματικής μεμβράνης	46
2.7.10 Αντιφλεγμονώδης δράση φαινολικών συστατικών και ενίσχυση ανοσοποιητικού.....	46
2.8 Η δράση των φαινολικών συστατικών στην πρόληψη ασθενειών.....	47
2.8.1 Φαινολικά συστατικά και καρδιαγγειακές παθήσεις.....	47
2.8.2 Αντιαθηρωματική δράση πολυφαινολών.....	48
2.8.3 Αντιοξειδωτική δράση και προστασία της LDL.....	48
2.8.4 Πολυφαινόλες και ενδοθηλιακή λειτουργία.....	49
2.8.5 Επίδραση πολυφαινολών στα λιπίδια του αίματος.....	50
2.8.6 Φαινολικά συστατικά και καρκίνος.....	51
2.8.7 Μηχανισμός αντιοξειδωτικής δράσης.....	52
2.8.8 Μηχανισμός τροποποίησης ενζυμικών συστημάτων.....	53
2.8.9 Μηχανισμοί επίδρασης επί γονιδίων και αναστολής πολλαπλασιασμού κυττάρων.....	53
2.8.10 Απορύθμιση ενδοκυτταρικής επικοινωνίας.....	54
2.8.11 Επίδραση πολυφαινολών στον εντερικό σωλήνα	54

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

3. Πειραματικό μέρος

3.1 Μέθοδοι προσδιορισμού φαινολικών ενώσεων.....	56
3.1.1 Μέθοδος προσδιορισμού ολικών φαινολών (Folin Ciocalteu).....	56
3.1.1.1 Κατασκευή πρότυπης καμπύλης μεθόδου Folin Ciocalteu.....	56
3.1.2 Μέθοδος προσδιορισμού ολικών φλαβονοειδών (Total Flavonoids Content TFC)	58
3.1.2.1 Κατασκευή πρότυπης καμπύλης μεθόδου TFC.....	58
3.2 Προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στο πλάσμα και στους ιστούς.....	59
3.2.1 Η μέθοδος TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).....	60
3.2.1.1 Κατασκευή πρότυπης καμπύλης μεθόδου TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)	60
3.3 Πειραματική πορεία.....	62
3.3.1 Επιλογή οίνων.....	62
3.3.2 Ξήρανση υπό κενό	62
3.3.3 Κλασμάτωση, Εκχύλιση στερεάς φάσης (solid phase extraction)	63
3.3.4 Περιγραφή και χαρακτηρισμός κλασμάτων	65

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

4. Αποτελέσματα.....66

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

5.1 Συμπεράσματα.....	77
5.2 Συζήτηση.....	78

Βιβλιογραφία.....80

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η μελέτη αυτή εκπονήθηκε στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών Εφαρμοσμένη Δημόσια Υγεία και Περιβαλλοντική Υγιεινή της Ιατρικής σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Το σύνολο του εργαστηριακού μέρους πραγματοποιήθηκε στα εργαστήρια Υγιεινής & Επιδημιολογίας και βιοχημείας της Ιατρικής σχολής υπο την επίβλεψη του επίκουρου Καθηγητή Ανδρέα Τσακάλωφ.

Θα ήθελα πρωτίστως να ευχαριστήσω τον κύριο Τσακάλωφ για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με την συγκεκριμένη μελέτη καθώς επίσης και για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε στο σχεδιασμό και την υλοποίησή της. Ήταν πάντα πρόθυμος να με βοηθήσει σε οποιοδήποτε δυσκολία παρουσιαζόταν παρά το γεγονός ότι στην πορεία διεξαγωγής της μελέτης προέκυψαν πολλές καθυστερήσεις με αποκλειστικά δική μου ευθύνη.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω την Δρ Αχιλλεία Λάκκα για την σημαντική υποστήριξη που μου παρείχε.

Τέλος θέλω να ευχαριστήσω όλο το προσωπικό του εργαστηρίου Υγιεινής και Επιδημιολογίας για την βοήθεια που προσέφερε.

Ευαγγέλου Μάριος

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το κρασί αποτελεί αδιαμφισβήτητα βασικό στοιχείο της παραδοσιακής μεσογειακής διατροφής και του ελληνικού πολιτισμού. Τα τελευταία χρόνια, σε διεθνές κυρίως επίπεδο, έχουν υπάρξει πολλές μελέτες που διερευνούν τις πιθανές ευεργετικές δράσεις της κατανάλωσης κρασιού, κυρίως κόκκινου, στην ανθρώπινη υγεία. Πολλές ερμηνείες έχουν διατυπωθεί ως προς την αντιοξειδωτική δράση των φαινολικών συστατικών και την πιθανή προστατευτική του δράση σε πολλές παθολογικές καταστάσεις, όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις, ο καρκίνος και οι μικροβιακές λοιμώξεις.

Στην συγκεκριμένη μεταπτυχιακή διατριβή μελετηθήκαν τέσσερις ερυθροί οίνοι της Θεσσαλίας, από τους νομούς Καρδίτσας και Λάρισας και συγκεκριμένα από τις περιοχές Βούναινα και Μεσενικόλα, Ραψάνη και Τύρναβο αντίστοιχα. Η επιλογή των παραπάνω περιοχών έγινε με βάση κριτήρια όπως η ανάπτυξη της αμπελοοινικής δραστηριότητας στις συγκεκριμένες περιοχές στο παρελθόν, αλλά κυρίως στις μέρες μας. Η ύπαρξη δύο ζωνών ΟΠΑΠ (Μεσενικόλα, Ραψάνη) ήταν το βασικό κριτήριο επιλογής των περιοχών αυτών. Όπως είδαμε σε όλες τις περιοχές μελετήθηκαν ερυθροί οίνοι, λόγω του ότι η τεχνολογία παρασκευής τους συντελεί στον εμπλουτισμό τους με μεγαλύτερες ποσότητες φαινολικών συστατικών σε σχέση με τους λευκούς. Από το γεγονός αυτό γίνεται αντιληπτό για πιο λόγο απορρίφθηκαν άλλες αμπελουργικές περιοχές της Θεσσαλίας, όπως ο νομός Τρικάλων και κυρίως ο νομός Μαγνησίας, όπου παρόλο αναπτύσσεται σημαντική αμπελοοινική δραστηριότητα με την ύπαρξη ζώνης ΟΠΑΠ, η δραστηριότητα αυτή οφείλεται σχεδόν εξολοκλήρου στην παραγωγή λευκών οίνων.

Σε κάθε οίνο πραγματοποιήθηκε κλασματοποίηση του στερεού περιεχομένου του με σκοπό τον διαχωρισμό των διαφόρων φαινολικών (φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα, τανίνες, ανθοκυάνες, κατεχίνες) ομάδων σε κλάσματα. Οι παράμετροι που μετρήθηκαν, τόσο στους οίνους όσο και στα παραγόμενα από αυτούς κλάσματα, ήταν η περιεκτικότητά τους σε ολικές φαινόλες με τη μέθοδο Folin Ciocalteu, η περιεκτικότητά τους σε ολικά φλαβονοειδή με τη μέθοδο TFC (Total Flavonoids Concentration) και η μέτρηση της αντιοξειδωτικής τους ισχύος με τη μέθοδο TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).

Η περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες και ολικά φλαβονοειδή στους τέσσερις θεσσαλικούς οίνους κυμάνθηκε από 160,5 mg/100ml έως 360,2mg/100ml και από 21,8 mg/100ml έως 80,2mg/100ml αντίστοιχα. Η αντιοξειδωτική ισχύς κυμάνθηκε από 69,5 (%reduction) ή 0,07(Mm trolox equivalent) έως 98,8 (%reduction) ή 0,1(Mm trolox equivalent). Και για τις τρεις παραμέτρους η υψηλότερη τιμή μετρήθηκε στον οίνο από την περιοχή Βούναινα. Από τα παραπάνω αποδεικνύεται ότι η αντιοξειδωτική ισχύς του κάθε οίνου συσχετίζεται με την περιεκτικότητά του σε φαινόλες και φλαβονοειδή, ενώ παράλληλα παρατηρήθηκε ότι ένα ποσοστό της αντιοξειδωτικής ισχύος του κάθε οίνου οφείλεται και σε ουσίες εκτός των φαινολών.

Τέλος, θα πρέπει να αναφέρουμε ότι στη συγκεκριμένη μεταπτυχιακή διατριβή μπορεί να υπάρξει επιπλέον πεδίο έρευνας των θεσσαλικών οίνων κυρίως :

- μέσω της ταυτοποίησης των φαινολικών συστατικών του κάθε οίνου και των κλασμάτων αυτού με τη χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης
- και του συσχετισμού του πολυφαινολικού προφίλ και της αντιοξειδωτικής ισχύος του κάθε οίνου και κλάσματος αυτού με αντικαρκινικές ιδιότητες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

1 Ιστορική αναδρομή

1.1 Αμπέλι - Οίνος και ιστορία

Η προέλευση του οίνου περιβάλλεται από τους θρύλους και την ιστορία. Το αμπέλι (*Vitis Vinifera*) είναι απείθαρχο αναρριχητικό φυτό, του οποίου τα ίχνη βρέθηκαν στη Μέση Ανατολή σε απολιθώματα που χρονολογούνται στην αρχή της τριτογενούς περιόδου. Βέβαια, για να παραχθεί ο οίνος, έπρεπε να περιμένουμε τον πρώτο αμπελουργό στον οποίο θα ερχόταν η ιδέα να κλαδέψει το αμπέλι, για να πάρει τα μεγαλύτερα σταφύλια και να ανακαλύψει την τεχνική της οινοποίησης. Ο οίνος δεν εφευρέθηκε από τον Βάκχο. Το πιο πιθανό είναι ότι γεννήθηκε στην Εγγύς Ανατολή από πειράματα και τεχνικές οι οποίες πέρασαν από γενιά σε γενιά 5000 ή 6000 χρόνια πριν από τη γέννηση του Χριστού. Συγκεκριμένα η καλλιέργεια της αμπέλου άρχισε στις Ανατολικές ακτές της Μαύρης Θάλασσας πριν 10.000 χρόνια περίπου και από εκεί εξαπλώθηκε προς την Αίγυπτο, περνώντας από την Περσία και την Βαβυλωνία. Κατόπιν στην Ελλάδα και την Ρωμαϊκή Αυτοκρατορία. Παράλληλα, διαδόθηκε η παραγωγή κρασιού-οίνου, ορθότερα από τη ζύμωση των σταφυλιών (Σταυρακάκης: Γενική αμπελουργία 2000, www.greekwinefederation.gr).

Ο οίνος συνεπώς έφτασε με τα χρόνια στη Δύση και τη Μεσόγειο. Οι μεγάλοι πολιτισμοί συνέβαλαν στην ανάπτυξη της καλλιέργειας της αμπέλου και της οινοποίησης.

Στην εποχή του Ομήρου η κατανάλωση του οίνου ήταν μια συνήθεια που αναφέρεται συχνά στην Ιλιάδα και την Οδύσσεια. Με την εξάπλωση των Ελλήνων το αμπέλι συνέχισε την πορεία του προς τη Σικελία και την Καμπανία. Αργότερα οι Ρωμαίοι το φύτεψαν σε όλες τις χώρες της τεράστιας αυτοκρατορίας τους. Αποδείχθηκαν αξιόλογοι αμπελουργοί και ανέπτυξαν εκπληκτικά την αμπελουργία και τις μεθόδους οινοποίησης (www.greekwinefederation.gr).

Ο αμπελώνας που υπήρχε στις περιοχές όπου αργότερα θα δημιουργούνταν η Γαλλία γνώρισε μια ευτυχισμένη περίοδο με τους Γαλάτες. Οι τελευταίοι εφηύραν το βαρέλι, το οποίο αντικατέστησε τους αμφορείς της αρχαιότητας. Ο οίνος της λειτουργίας αρχικά προερχόταν από τους μεγάλους γαλλικούς αμπελώνες, και κυρίως από τους αμπελώνες της Βουργουνδίας. Στο νότο οι αμπελώνες του Μπορντώ οφείλουν την επιτυχία τους στους Άγγλους και τους Ολλανδούς. Αργότερα η χρήση καταλληλότερων εδαφών για την καλλιέργεια της αμπέλου και η ανακάλυψη του γυαλιού στην κατασκευή μπουκαλιών οδήγησαν στην παραγωγή ποιοτικότερου προϊόντος και στην αύξηση των εξαγωγών (www.greekwinefederation.gr).

Εντούτοις, από το 1864 η φυλλοξήρα έπληξε σοβαρά την παραγωγή του οίνου στη Ευρώπη. Το έντομο αυτό μεταφέρθηκε από την Αμερική και κατέστρεψε ένα μεγάλο μέρος των εκτάσεων των ευρωπαϊκών και ειδικότερα των γαλλικών αμπελώνων. Λύση στο πρόβλημα αυτό δόθηκε με την εφαρμογή της τεχνικής του εμβολιασμού των γαλλικών ποικιλιών αμπέλου επί των αμερικάνικων υποκειμένων, τα οποία είναι ανθεκτικά στη ριζόβια μορφή της φυλλοξήρας, τεχνική η οποία εφαρμόζεται και σήμερα ως βάση κάθε επιτυχημένου προγράμματος αναμείλωσης (Ρούμπος 1996).

1.2 Η ιστορία του οίνου στην Ελλάδα από την αρχαιότητα έως σήμερα

Στην αρχαία Ελλάδα ο οίνος ήταν πολύ σημαντικός για τους ανθρώπους. Το γεγονός αυτό γίνεται εύκολα αντιληπτό, αν αναλογιστούμε τη λατρεία που είχαν οι αρχαίοι Έλληνες στο θεό Διόνυσο και τις γιορτές που διοργάνωναν προς τιμή του. Σημαντικό είναι, επίσης, το γεγονός της χρήσης του οίνου στις σπονδές προς τους θεούς, καθώς και η προσφορά του στους πολεμιστές που αναχωρούσαν για τον πόλεμο.

Οι αρχαίοι Έλληνες, διέπρεψαν στην οινοποιία, μονοπωλώντας σχεδόν την αγορά για αιώνες, γνώρισαν το κρασί πιθανότατα από την αρχή της εγκατάστασής τους στο σημερινό τους τόπο, δηλαδή τουλάχιστον πριν το 1700 π.Χ. Δεν έχει διευκρινιστεί από πού διδάχθηκαν την οινοποιία. Σύμφωνα με μια θεωρία, έμαθαν το κρασί από τους ανατολικούς λαούς (Φοίνικες ή/και Αιγύπτιους), με τους οποίους τόσο οι Μυκηναίοι, όσο και οι προγενέστεροι -μη ελληνικής καταγωγής- Κυκλαδίτες και Μινωίτες είχαν ανεπτυγμένες εμπορικές σχέσεις. Η σχετική με το κρασί μυθολογία (διονυσιακοί, ορφικοί κ.α. μύθοι) είναι πλουσιότερη, δεν δίνει όμως συγκεκριμένες ενδείξεις. Αλλού το αμπέλι εμφανίζεται ξάφνης από μόνο του ή το χαρίζει ο θεός Διόνυσος στους ελλαδίτες (π.Χ. στην Αιτωλία), με τρόπο που δημιουργεί σκέψεις για παρουσία της αμπέλου στον ελλαδικό χώρο πολύ πριν την έλευση των Ελλήνων. Αλλού το κρασί συνδέεται με την Κρήτη και τη Νάξο (μύθος "Διόνυσος και Αριάδνη"), ενισχύοντας την εκδοχή περί φοινικικής ή αιγυπτιακής προέλευσης, αλλού πάλι το αμπέλι φέρεται ερχόμενο από τη Θράκη, που σύμφωνα με κάποιες πηγές ίσως ήταν ο βασικός προμηθευτής των Ελλήνων στους Μυκηναϊκούς χρόνους, άλλωστε η λατρεία του Διονύσου θεωρείται θρακικής- μικρασιατικής καταγωγής. Η τελευταία αυτή εκδοχή είναι μπερδεμένη από μόνη της: Οι Σκύθες και κάποια δακικά-βορειοθρακικά φύλα εμφανίζουν μια έκδηλη έχθρα προς το κρασί, ριζωμένη στις θρησκευτικές τους πεποιθήσεις, αλλά στα ομηρικά έπη (π.χ. Οδύσσειας ι 196-215, όπου ο ιερέας Μάρων χαρίζει δυνατό κρασί στον Οδυσσέα) οι Θράκες φέρονται ως δεινοί οινοπαραγωγοί. Η αντίσταση στη λατρεία του Διονύσου και οι δυσκολίες που συνάντησε αυτή μέχρι να καθιερωθεί στην Ελλάδα, αποτυπωμένες σε πολλούς μύθους, υποδηλώνουν ίσως μια αρχική καχυποψία απέναντι στο κρασί (www.greekwinefederation.gr).

Ο τρόπος παραγωγής του κρασιού δε differed ουσιαστικά από αυτόν των ημερών μας. Η αμπελουργία είχε φτάσει σε υψηλά επίπεδα τέχνης, κυκλοφορούσαν δε και ειδικά βιβλία επί του θέματος. Από αυτό του Θεόφραστου, που σώθηκε ως τις μέρες μας, λαμβάνουμε ενδιαφέρουσες πληροφορίες, λόγω χάριν ότι οι Έλληνες (αντίθετα από τους Ρωμαίους) συνήθως καλλιεργούσαν το αμπέλι απλωμένο στη γη, χωρίς υποστηρίγματα -τεχνική που ακόμη και σήμερα είναι σε χρήση σε κάποιες περιοχές (π.χ. στη Σαντορίνη) (Σταυρακάκης: Γενική αμπελουργία 2000).

Οι Έλληνες γνώριζαν την παλαίωση του κρασιού και την άφηναν να γίνει σε θαμμένα πιθάρια, σφραγισμένα με γύψο και ρετσίνι ίσως έτσι, κατά τύχη, ανακαλύφθηκε η επίδραση της προσθήκης ρετσινιού. Το κρασί εμφιαλωνόταν, ανάλογα με το πόσο μεγάλο ταξίδι είχε μπροστά του μέχρι την κατανάλωση, σε ασκούς ή σε σφραγισμένους πήλινους αμφορείς, αλειμμένους με πίσσα (ή ρετσίνι) για τέλεια στεγανοποίηση, στους οποίους συχνά αναγράφονταν με μπογιά ή με σφραγίδα τα πλήρη στοιχεία του περιεχομένου οίνου: περιοχή προέλευσης, έτος παραγωγής, οινοποιός και εμφιαλωτής. Το εμπόριο των ελληνικών κρασιών απλωνόταν σε ολόκληρη τη Μεσόγειο, μέχρι και την ιβηρική χερσόνησο (οι Ίβηρες και οι κάτοικοι της νότιας Γαλατίας μάλλον τότε πρωτοήρθαν σε επαφή με το κρασί),

και φυσικά στον Εύξεινο πόντο, ήταν δε μία από τις σημαντικότερες οικονομικές δραστηριότητες των προγόνων μας (www.greekwinefederation.gr).

Σε πολλές πόλεις υπήρχαν ειδικοί νόμοι για να εξασφαλίζουν την ποιότητα του κρασιού, αλλά και "προστατευτικοί" ενάντια στον ξένο ανταγωνισμό και τις εισαγωγές – χαρακτηριστικό παράδειγμα η σχετική νομοθεσία της Θάσου, σύμφωνα με την οποία πλοία με ξένο κρασί που πλησίαζαν το νησί δημεύονταν! Από διάφορες πηγές μας έχουν διασωθεί τα ονόματα των οινοπαραγωγών περιοχών και των κρασιών που έβγαζαν. Αρχικά, τα πιο ξακουστά κρασιά διεθνώς ήταν αυτά του βορείου Αιγαίου: της Λήμνου, της Θάσου, της Λέσβου, της Χίου, της Ικαρίας, της Σάμου. Αργότερα, μετά την κλασική εποχή, απέκτησαν μεγάλη φήμη και τα κρασιά της Ρόδου, της Κω και των λοιπών Δωδεκανήσων, της Θήρας, της Νάξου, της Κρήτης και της Κύπρου. Στην ελληνιστική εποχή μπήκε σε νέα βάση η οινοπαραγωγή της Αιγύπτου, με κύριο προϊόν τον Μαρεωτικό. (www.greekwinefederation.gr).

Στη διάρκεια των βυζαντινών χρόνων οι αμπελώνες πέρασαν στα χέρια της Εκκλησίας. Τα μοναστήρια διέθεταν μεγάλο πλούτο και μπορούσαν να κατασκευάσουν σύγχρονα οινοποιεία, βελτιώνοντας συνεχώς την ποιότητα του οίνου. Κατά τον Μεσαίωνα η παραγωγή και η ποιότητα του οίνου παρουσίασε πτώση, ενώ παράλληλα, η φροντίδα των αμπελώνων παρέμενε αποκλειστικά σχεδόν ασχολία της Εκκλησίας.

Στα χρόνια της τουρκοκρατίας η αμπελουργία δεν περιορίστηκε, όπως θα ήταν αναμενόμενο. Παρά το γεγονός ότι ο μουσουλμανισμός απαγορεύει την κατανάλωση οίνου, οι εκάστοτε τοπικοί τούρκοι άρχοντες, θέλοντας να δείξουν έργο στους ανώτερους τους, προωθούσαν την αμπελουργία, έχοντας κατανοήσει ότι επρόκειτο για μια σοβαρή πηγή εσόδων (www.greekwinefederation.gr).

Στη σημερινή εποχή υπάρχει μια αρκετά εκτεταμένη κοινοτική νομοθεσία, η οποία επιτρέπει τη δημιουργία ενός εθνικού πλαισίου για την παραγωγή ποιοτικών οίνων. Οι οίνοι αυτοί μπορούν να χαρακτηρίζονται από το γεωγραφικό όνομα της τοποθεσίας παραγωγής τους είτε ως **«οίνος με ονομασία προέλευσης ελεγχόμενη»** είτε ως **«οίνος με ονομασία προέλευσης ανωτέρας ποιότητας»**. Οι προοπτικές για το μέλλον της εμπορικής παραγωγής ελληνικών οίνων είναι ευνοϊκότερες σε σχέση με το παρελθόν. Παρά το γεγονός της μείωσης των καλλιεργούμενων εκτάσεων, η οινοπαραγωγή αυξάνει, ως αποτέλεσμα της βελτίωσης της εφαρμοζόμενης αμπελοκομικής τεχνικής. Σημαντικό είναι, επίσης, το ότι οι Έλληνες οινοποιοί αρχίζουν να κατανοούν την αναγκαιότητα παραγωγής ποιοτικών οινικών προϊόντων, ώστε να είναι ανταγωνιστικά, και βελτιώνονται συνεχώς στον τομέα αυτό (Σουφλερός Τόμος 1, 2000).

1.3 Η πρώτη ύλη της οινοποιίας

1.3.1 Το σταφύλι στη οινοποίηση – μέθοδοι οινοποίησης

Πριν αναφερθούμε στις μεθόδους οινοποίησης και ειδικότερα στην ερυθρή οινοποίηση η οποία μας ενδιαφέρει περισσότερο (στη συγκεκριμένη διατριβή θα εξεταστούν ερυθροί οίνοι) θα δώσουμε το ορισμό του οίνου.

Οίνος είναι το ποτό το οποίο προέρχεται από την μερική ή ολική αλκοολική ζύμωση των νωπών σταφυλιών. Η Ευρωπαϊκή Ένωση στη νομοθεσία της αναφέρει τον εξής ορισμό: «**Οίνος καλείται το προϊόν που παράγεται αποκλειστικά με αλκοολική ζύμωση, ολική ή μερική, νωπών σταφυλιών, σπασμένων ή όχι, ή γλεύκους σταφυλιών**» (Τσέτουρας 2003, Σουφλερός 2000).

Ορίζεται συνεπώς από το νόμο, ότι το σταφύλι είναι η πρώτη ύλη της οινοποιίας.

Από τα παραπάνω γίνεται κατανοητό ότι πρέπει αρχικά να αναφερθούμε στο σταφύλι το οποίο αποτελεί την πρώτη ύλη της οινοποιίας και στην χημική σύσταση των μερών του.



1.3.2 Τα μέρη του σταφυλιού, φυσιολογία και η χημική σύσταση τους

i. Η σύσταση του βοστρύχου (τσάμπουρο)

Η χημική σύσταση του τσάμπουρου μοιάζει με αυτήν του φύλλου. Είναι φτωχή σε σάκχαρα με σημαντική περιεκτικότητα σε εξουδετερωμένα οξέα, γιατί περιέχει μεγάλη ποσότητα ανόργανων ιόντων. Ο κυτταρικός χυμός έχει ΡΗ μεγαλύτερο του 4. Τα τσάμπουρα είναι ιδιαίτερα πλούσια σε πολυφαινόλες. Τα τσάμπουρα δίνουν το 5-6% του βάρους τους ως τέφρα, το μισό της οποίας είναι άλατα του καλίου. Το βάρος τους ποικίλει και αποτελεί το 2-7,5% του συνολικού βάρους του σταφυλιού (Σταυρακάκης: φυσιολογία της αμπέλου, 2000).

ii. Η σύσταση των γιγάρτων

Συνήθως, κάθε ρόγα περιέχει 4 κουκούτσια. Συχνά υπάρχουν λιγότερα. Αποτελούν το 3-6% του συνολικού βάρους του σταφυλιού. Η σύσταση τους επί της εκατό είναι:

Νερό 25-45%

Σάκχαρα-πολυσακχαρίτες 34-36%

Έλαια 13-20%

Τανίνες 4-6%

Αζωτούχα συστατικά 4-6.5%

Ανόργανα συστατικά 2-4 %

Λιπαρά οξέα 1%

Ορισμένα από τα συστατικά που βρίσκονται στην περιφέρεια όπως τα φαινολικά, τα αζωτούχα και τα φωσφορούχα είναι ιδιαίτερα διαλυτά κατά τη

διάρκεια της εκχύλισης. Ορισμένα άλλα συστατικά που βρίσκονται στο εσωτερικό του κουκουτσιού και κυρίως τα έλαια, είναι δυνατόν να υποβαθμίσουν την ποιότητα του κρασιού στην περίπτωση προεξαχθούν και διαλυθούν στο γλεύκος. Γι' αυτό το λόγο πρέπει να δίνουμε μεγάλη προσοχή και να αποφεύγουμε με κάθε τρόπο το σπάσιμο των κουκουτσιών κατά τη διάρκεια των μηχανικών κατεργασιών του σταφυλιού (Σουφλερός τόμος1,2000).

iii. Η σύσταση του φλοιού

Η φλούδα αποτελείται από την επιδερμίδα και μερικά στρώματα κυττάρων κάτω από αυτήν. Αποτελεί το 6-9% του βάρους του σταφυλιού. Ο ρόλος της στην οινοποίηση είναι σημαντικός. Από τον τρόπο που θα τη μεταχειριστούμε εξαρτάται κατά ένα μεγάλο μέρος το είδος του κρασιού που θα φτιάξουμε. Τα στρώματα των κυττάρων προς την επιδερμίδα είναι λεπτά και γίνονται παχύτερα προς το εσωτερικό. Τα σταφύλια που προορίζονται για οινοποίηση έχουν συνήθως σκληρή φλούδα και χυμώδη σάρκα αντίθετα με τα επιτραπέζια που έχουν φλούδα λεπτή και σάρκα τραγανή. Η επιδερμίδα σχηματίζεται από ένα μόνο στρώμα κυττάρων. Το πάχος της εξαρτάται από την ποικιλία του αμπελιού και κυμαίνεται στα 1,5-3,8mm. Η επιδερμίδα καλύπτεται από ένα κηρώδες επικάλυμμα (ουσία), το οποίο αποτελείται κατά τα 2/3 από ολεανικό οξύ και κατά το 1/3 από διάφορες άλλες ενώσεις, όπως αλκοόλες, εστέρες, λιπαρά οξέα, και αλδεύδες. Αυτό το κηρώδες επικάλυμμα παρεμποδίζει την εξάτμιση του νερού της ρόγας. Η φλούδα περιέχει πολύ μικρή ποσότητα σακχάρων κατά την ωρίμανση που κυμαίνεται από 0,7g/1000 ρόγες. Είναι πλούσια σε κυτταρίνη, πηκτίνες και πρωτεΐνες. Περιέχει κυρίως κιτρικό και λίγο τρυγικό οξύ. Τα οξέα της φλούδας είναι εξουδετερωμένα σε μεγαλύτερο ποσοστό από τα οξέα της σάρκας. Η φλούδα είναι εξίσου πλούσια με τα τσάμπουρα σε πολυφαινόλες. Οι ερυθρές ποικιλίες περιέχουν διπλάσια ποσότητα πολυφαινόλων από αυτή των λευκών ποικιλιών. Οι ανθοκύανες βρίσκονται σε 2 ή 3 στρώματα κυττάρων κάτω από την επιδερμίδα αν και σε ορισμένες ποικιλίες υπάρχουν και στη σάρκα. Η παρουσία αρωματικών ενώσεων είναι χαρακτηριστικό της φλούδας (Σταυρακάκης: φυσιολογία της αμπέλου,2000).

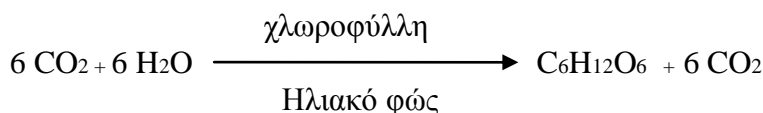
iv. Η σύσταση της σάρκας

Η σάρκα είναι το πιο σημαντικό μέρος της ρόγας. Αποτελείται από μεγάλα κύτταρα. Κάτω από τη λεπτή κυτταρική μεμβράνη υπάρχει ένας πολύ λεπτός ιστός κυτοπλάσματος με τον πυρήνα προς τα τοιχώματα και ολόκληρο το εσωτερικό του καταλαμβάνεται από τον κυτταρικό χυμό, το γλεύκος. Οι μεμβράνες των συνεχόμενων κυττάρων δεν είναι ενωμένες μεταξύ τους σε όλη την περιφέρεια, αλλά αφήνουν στις γωνίες μικρούς, επικοινωνούντες χώρους μέσα από τους οποίους γίνονται οι εναλλαγές αερίων με το εξωτερικό περιβάλλον. Τα κύτταρα που βρίσκονται αμέσως μετά τη φλούδα έχουν πολύ λεπτή μεμβράνη, η οποία διαλύεται με αποτέλεσμα να σχηματίζεται μια ζώνη χυμού. Προς το εσωτερικό τα κύτταρα έχουν πιο χοντρή μεμβράνη. Ο αριθμός των στρωμάτων τους είναι 25-30 και η αύξηση του μεγέθους της ρόγας οφείλεται αποκλειστικά στην αύξηση του όγκου τους. Κατά την ωρίμανση η σάρκα αποτελεί το 75-80% της ρόγας. Τα στερεά μέρη της σάρκας αποτελούνται από τα κυτταρικά τοιχώματα και τις αγγειώδεις δέσμες, μέσα από τις οποίες επικοινωνεί η ρόγα με το υπόλοιπο φυτό. Τα στερεά αυτά μέρη αποτελούν το μισό της σάρκας και συμμετέχουν στη δημιουργία της λάσπης του

γλεύκους. Η σάρκα αποτελείται σχεδόν αποκλειστικά από κυτταρικό χυμό (γλεύκος) (Σταυρακάκης: φυσιολογία της αμπέλου, 2000).

- Τα σάκχαρα της σάρκας

Τα κύρια σάκχαρα συγκεντρώνονται στα σταφύλια με την βοήθεια της φωτοσύνθεσης κατά την οποία το διοξείδιο του άνθρακα και το νερό μετατρέπονται σε σάκχαρα με έκλυση οξυγόνου. Η ενέργεια που απαιτείται λαμβάνεται από την ηλιακή ακτινοβολία. Η αντίδραση που λαμβάνει χώρα είναι η εξής:



Τα σημαντικότερα σάκχαρα της σάρκας είναι η γλυκόζη και η φρουκτόζη, σε συγκέντρωση 150-250 g/l. Τα άλλα σάκχαρα της σάρκας υπάρχουν σε μικρότερες ποσότητες. Η σακχαρόζη υπάρχει σε περιεκτικότητα 1-3 g/l. Η περιεκτικότητα σε σάκχαρα ποικίλει ανάλογα με την ποικιλία και το βαθμό ωρίμανσης. Οι ρόγες που είναι πιο κοντά στις κληματόβεργες (κληματίδες) είναι πιο πλούσιες σε σάκχαρα (Κοτσερίδης: οινολογία 1, 2004, Σταυρακάκης: θέματα αμπελογραφίας 2000).

- Τα οξέα της σάρκας

Τα οξέα του γλεύκους έχουν για την οινολογία τον ίδιο σημαντικό ρόλο, όσο και η ποιότητα των σακχάρων. Αυτό συμβαίνει γιατί συμμετέχουν στη γευστική ισορροπία του κρασιού. Ειδικότερα το τρυγικό και μηλικό οξύ έχουν την ίδια κατανομή. Το κιτρικό οξύ βρίσκεται σε μεγαλύτερο ποσοστό στα κυτταρικά τοιχώματα και παραλαμβάνεται πιο δύσκολα. Τα οξέα και οι βάσεις (κάλιο) έχουν αντίθετη κατανομή στα διάφορα μέρη της ρόγας. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το γλεύκος των τελευταίων πιέσεων να έχει αυξημένη περιεκτικότητα σε όξινο τρυγικό κάλιο (Κοτσερίδης: οινολογία 1, 2005).

- Τα ανόργανα συστατικά της σάρκας

Από τα ανόργανα ιόντα, το κάλιο, εκφρασμένο σε οξείδιο, αποτελεί το 50% του συνόλου των ανόργανων ιόντων και όπως είπαμε πιο πριν βρίσκεται προς την περιφέρεια της ρόγας. Τα αζωτούχα συστατικά της σάρκας είναι το 1/4 με 1/5 των αζωτούχων συστατικών της ρόγας. Βρίσκονται σε μορφή ανόργανη (NH₄) ή σε οργανική ως αμινοξέα, πολυπεπτίδια και πρωτεΐνες. Το αμμωνιακό άζωτο είναι σε ποσότητες αρκετές για την καλή εξέλιξη της ζύμωσης. Οι μέσες τιμές των κυριότερων αμινοξέων είναι: αργινίνη 327 mg/l (χιλιοστόγραμμα ανά λίτρο), προλίνη 266, θρεονίνη 258, γλουταμινικό οξύ 173. Έχει προσδιοριστεί σημαντικός αριθμός αμινοξέων. Συνήθως οι ποικιλίες του αμπελιού που είναι πλούσιες σε οξέα είναι πλούσιες και σε αμινοξέα. Η σύνθεση τους στο φυτό έχει κοινή προέλευση. Για το λόγο αυτό τις χρονιές με αυξημένη οξύτητα έχουμε υψηλή περιεκτικότητα σε αμινοξέα (Σουφλερός τόμος 1, 2000. Κοτσερίδης: Οινολογία 1, 2004).

- Τα αρωματικά συστατικά του σταφυλιού

Η περιεκτικότητα της σάρκας σε πηκτινικές ενώσεις κυμαίνεται από 0,23 μέχρι 6,91 g/l. Τα αρωματικά συστατικά του σταφυλιού βρίσκονται κυρίως στη φλούδα. Με βάση τα αρωματικά συστατικά τους, οι ποικιλίες των σταφυλιών διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: στις λεγόμενες αρωματικές ποικιλίες, όπως τα μοσχάτα και σε ποικιλίες που δεν έχουν χαρακτηριστικό άρωμα. Τα αρώματα των αρωματικών ποικιλιών είναι γνωστά και ανήκουν στα τερπένια. Βρίσκονται σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα όταν τα σταφύλια φτάσουν σε πλήρη ωρίμανση. Φτάνουν το μέγιστο της έντασης στις θερμές περιοχές. Αντίθετα, η φύση και η συμμετοχή στην ολική αρωματική αντίληψη των αρωμάτων της δεύτερης κατηγορίας δεν έχει διευκρινιστεί αρκετά. Τα αρώματα αυτών των σταφυλιών είναι ικανά να μετασχηματιστούν, κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και της ωρίμανσης, σε άλλες αρωματικές ενώσεις (Σουφλερός τόμος 1, 2000).

v. Συνοπτική σύσταση του γλεύκους

- Νερό: 70-80% Ο βασικός διαλύτης που φιλοξενεί διαλυμένες ή σε αιώρηση τις ουσίες του γλεύκους.
- Σάκχαρα: 12-30% Τα κύρια σάκχαρα του γλεύκους είναι η γλυκόζη και η φρουκτόζη.
Η αναλογία τους στο γλεύκος ώριμων σταφυλιών είναι περίπου 1:1. Στα γλεύκη από λιγότερο ώριμα σταφύλια υπερτερεί η γλυκόζη, ενώ σε αυτά από υπερώριμα σταφύλια η φρουκτόζη βρίσκεται σε μεγαλύτερη αναλογία.
- Οργανικά οξέα: 4-12 g/L Τα κυριότερα οξέα του γλεύκους είναι το τρυγικό, το μηλικό, το κιτρικό.
- Φαινολικές ουσίες: Ανθοκυάνες (κόκκινο χρώμα), φλαβόνες (υποκίτρινο χρώμα), τανίνες (στυφή γεύση) κ.ά.
- Αζωτούχες ουσίες: Πρωτεΐνες, αμινοξέα
- Αρωματικές ουσίες: Αλκοόλες, εστέρες, αλδεΐδες, κετόνες, τερπενικές ενώσεις
- Βιταμίνες: B1, B2, B3, B4, B5, B6, B12, C
- Ανόργανα συστατικά: 2-4 g/L άλατα κυρίως των μεταλλικών στοιχείων καλίου, νατρίου, ασβεστίου, μαγνησίου, σιδήρου, χαλκού κ.ά. με ανόργανα και οργανικά οξέα (Σουφλερός τόμος 1, 2000. Κοτσερίδης: Οινολογία 1, 2004).

1.4 Ερυθρή οиноποίηση

Στη συνέχεια κρίνεται σκόπιμο να αναφερθούμε στη διαδικασία και τα στάδια της ερυθρής οиноποίησης, αναφορά που κρίνεται επιτακτική δεδομένου του γεγονότος ότι στην συγκριμένη πτυχιακή θα μελετηθούν κατά κύριο λόγο τα φαινολικά συστατικά συγκεκριμένων ερυθρών οίνων της Θεσσαλίας. Επιπλέον, κατά την παρουσίαση της ερυθρής οиноποίησης θα σταθούμε περισσότερο στα στάδια εκείνα που επηρεάζουν την ποσότητα των φαινολικών συστατικών στο τελικό προϊόν.

1.4.1 Διαδικασίες και στάδια ερυθρής οиноποίησης (Boulton 1996, P.Ribereau 2003)

Για να αποκτήσει ο οίνος το ερυθρό χρώμα των ερυθρών σταφυλιών, πρέπει κατά την κλασική ερυθρή οиноποίηση η αλκοολική ζύμωση, ή μέρος αυτής, να πραγματοποιηθεί παρουσία των στέμφυλων. Αυτό το κρασί παρασκευάζεται από το φλοιό, τη σάρκα και τα γίγαρτα, και δεν είναι προϊόν μόνο του χυμού της σάρκας. Παλαιότερα τα σταφύλια μεταφέρονταν στα πατητήρια και το γλεύκος διαχωριζόταν από τα στέμφυλα χωρίς να συμβεί αλκοολική ζύμωση παρουσία αυτών. Έτσι, το κρασί αυτό είχε ανοιχτό κόκκινο χρώμα. Συνεπώς, θα πρέπει να αναφερθεί ότι οι βαθύχρωμοι ερυθροί οίνοι έχουν ιστορία μικρότερη από τρεις αιώνες. Ο χρόνος κατά τον οποίο θα αφήσουμε σε επαφή τα στέμφυλα με το γλεύκος εξαρτάται από τον τύπο του οίνου που θέλουμε να παραγάγουμε. Για το λόγο αυτό οι «πρώιμοι οίνοι» που καταναλώνονται πρέπει να διαθέτουν φρουτώδες άρωμα, το οποίο είναι αντιστρόφως ανάλογο με την περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά. Αντιθέτως, οι οίνοι παλαίωσης πρέπει να είναι πλούσιοι σε ταννίνες, οι οποίες μεταφέρονται στο γλεύκος κατά την διαδικασία της συνύπαρξης του τελευταίου με τα στέμφυλα και τα γίγαρτα

Τρία κυρίως φαινόμενα συμβαίνουν κατά την ερυθρή οиноποίηση:

- Η αλκοολική ζύμωση
- Η εκχύλιση των χρωστικών και άλλων συστατικών κατά την παραμονή των στεμφύλων με το γλεύκος
- Η μηλογαλακτική ζύμωση.

Και τα τρία αυτά φαινόμενα εξελίσσονται κατά την διάρκεια των παρακάτω σταδίων.

- **Προσδιορισμός έναρξης τρύγου:** Ο σωστός προσδιορισμός της ημέρας του τρύγου έχει μεγάλη σημασία για την γευστική ισορροπία του οίνου. Στην ερυθρή οиноποίηση ο τρύγος γίνεται όταν το γλεύκος έχει περιεκτικότητα σακχάρων 12 – 12.5 βαθμούς baume ή 21.8 – 22.8 βαθμούς brix και ολική οξύτητα 6.5 – 7,5 gr/lit σε τρυγικό οξύ. Ιδιαίτερα σημαντική για την έναρξη του τρύγου είναι και η μέτρηση της ενεργής οξύτητας (pH) του γλεύκους. Συνήθως, στα γλεύκη η τιμή στην ωρίμανση είναι 3.2 – 3.5. Στις τιμές αυτές είναι δύσκολο να δράσουν βακτήρια ή άλλοι παθογόνοι μικροοργανισμοί. Τελευταία στα ερυθρά γλεύκη μελετάται και η πολυφαινολική τους ωρίμανση.
- **Παραλαβή σταφυλιών στο οينوποιείο:** Κατά τη μεταφορά των σταφυλιών θα πρέπει να δώσουμε προσοχή, επειδή τα σταφύλια είναι πολύ ευαίσθητα στα φαινόμενα οξείδωσης και εκχύλισης των φαινολικών τους συστατικών και συνεπώς θα πρέπει να αποφεύγεται το σπάσιμο της ρώγας. Επίσης, η μεταφορά θα πρέπει να γίνεται σε ώρες που η θερμοκρασία είναι χαμηλή, δηλαδή βράδυ ή νωρίς το πρωί.

- **Απορράγιση ή αποβοστρύχωση:** Απορραγισμός είναι ο διαχωρισμός των ραγών από τους βοστρύχους. Η εργασία του απορραγισμού πρέπει να γίνεται πάντα στην κλασική ερυθρή οινοποίηση και είναι σημαντική, διότι, εάν αυτή δεν συμβεί, τότε έχουμε σημαντική υποβάθμιση της ποιότητας των ερυθρών οίνων. Παλαιότερα η αποβοστρύχωση σε ορισμένες περιοχές γινόταν με τα χέρια. Σήμερα η διαδικασία αυτή γίνεται σχεδόν αποκλειστικά με τα απορραγιστήρια ή εκραγιστήρια. μηχανήματα.

Με την αποβοστρύχωση παρατηρείται γευστική βελτίωση του παραγόμενου οίνου. Με την αφαίρεση των βοστρύχων, που είναι πλούσιοι σε ταννίνη, μειώνεται η στυφή γεύση του οίνου και αποφεύγεται ο χορτώδης χαρακτήρας αυτού.

Αντίθετα όμως κατά τη διαδικασία της αποβοστρύχωσης η σταφυλόμαζα εμπλουτίζεται σε οξυγόνο και παράλληλα απομακρύνονται οι ουσίες που έχουν αντιοξειδωτική δράση. Τα παραπάνω εντείνουν την οξείδωση των φαινολικών συστατικών του οίνου.

Η απορράγιση γίνεται κατά κανόνα σε όλες τις αμπελουργικές περιοχές ονομασίας προέλευσης. Οι περισσότερες από τις χρησιμοποιούμενες ποικιλίες ερυθρών σταφυλιών είναι πλούσιες σε ταννίνες και έτσι δεν είναι απαραίτητο να προστεθούν και οι ταννίνες των βοστρύχων.

- **Έκθλιψη ή σπάσιμο των ραγών των σταφυλιών:** Η διαδικασία αυτή συνίσταται στη θραύση του φλοιού των ραγών, ώστε να απελευθερωθεί μέρος της σάρκας και μέρος του περιεχόμενου σε αυτή χυμού. Η θραύση πρέπει να γίνεται με τέτοιο τρόπο, ώστε να αποφεύγεται το λιώσιμο του φλοιού των ραγών και ο κατακερματισμός των γιγάρτων. Η έκθλιψη πρέπει να γίνεται στο οινοποιείο και όχι στον αμπελώνα, ώστε να αποφεύγεται η οξείδωση και συνεπώς η καταστροφή των χρωστικών και φαινολικών συστατικών του σταφυλιού. Η έκθλιψη γίνεται με τα θλιπτήρια, τα οποία συνδέονται συνήθως με τους αποβοστρυχωτές και αποτελούν ένα ενιαίο μηχανήμα.

Με τη διαδικασία της έκθλιψης ενισχύεται η εκχύλιση με την πραγματοποιούμενη αύξηση της επιφάνειας επαφής υγρού και στερεών συστατικών, με αποτέλεσμα την αύξηση της ποσότητας εκχύλισης των χρωστικών και φαινολικών ουσιών.

Αντιθέτως κατά την διεξαγωγή της έκθλιψης έχουμε έντονο αερισμό της μεταποιημένης σταφυλόμαζας, με άμεση συνέπεια την οξείδωση των χρωστικών και φαινολικών ουσιών, και επιπλέον ευνοείται η έντονη εκχύλιση φαινολικών συστατικών από τους φλοιούς, με αποτέλεσμα τον εμπλουτισμό του οίνου με ανεπιθύμητα γευστικά χαρακτηριστικά.

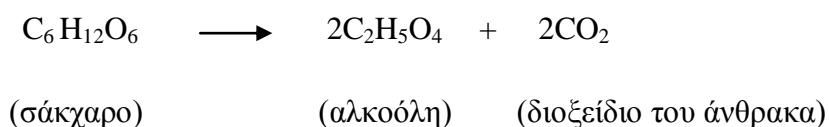
- **Προσθήκη θειώδη ανυδρίτη – «θείωση» σταφυλόμαζας:** Μετά την απορράγιση και την έκθλιψη η σταφυλόμαζα μεταφέρεται με αντλίες στις δεξαμενές ζύμωσης. Παράλληλα γίνεται και η προσθήκη του θειώδη ανυδρίτη, η οποία σκοπό έχει την προστασία της σταφυλόμαζας και του γλεύκους από ορισμένα ανεπιθύμητα βιολογικά και φυσικοχημικά φαινόμενα. Συγκεκριμένα, με την «θείωση» πετυχαίνουμε τα εξής:
- Δέσμευση του οξυγόνου και προστασία του γλεύκους από φαινόμενα οξείδωσης.
 - Καταστροφή και αδρανοποίηση των οξειδασών, οι οποίες καταλύουν την αντίδραση οξείδωσης των φαινολικών συστατικών του οίνου.

- Παρεμπόδιση ανάπτυξης ανεπιθύμητων μικροοργανισμών και ειδικότερα βακτηρίων.
- Με την εφαρμογή των κατάλληλων δόσεων πετυχαίνουμε την ευνοϊκή ανάπτυξη των επιθυμητών ζυμών, λόγω αδρανοποίησης των ανεπιθύμητων.
- Παρατηρείται διευκόλυνση της εκχύλισης των χρωστικών και των άλλων φαινολικών συστατικών, λόγω της αποσύνθεσης που συμβαίνει στα κυτταρικά τοιχώματα των κυττάρων των φλοιών.

➤ **Εμβολιασμός με καθαρή ζύμη:** Στις δεξαμενές όπου θα γίνει η ζύμωση επιλέγεται από τον οινολόγο εάν θα προστεθούν επιλεγμένες ζύμες, για προκαθορισμένη έναρξη της ζύμωσης, ή θα επιλεγεί η φυσική ζύμωση με τις ιθαγενείς ζύμες που υπάρχουν στο σταφύλι. Συνήθως, επιλέγεται η προσθήκη επιλεγμένων ζυμών, για αποτελεσματικότητα και ταχύτητα στην ολοκλήρωση της αλκοολικής ζύμωσης.

➤ **Αλκοολική ζύμωση παρουσία των στεμφύλων - εκχύλιση:** Στην κλασική ερυθρή οινοποίηση, όταν η αλκοολική ζύμωση γίνεται παρουσία των φλοιών και των γιγάρτων, συμβαίνει και το φαινόμενο της εκχύλισης των πρόδρομων αρωματικών ουσιών, των ανθοκυανών, και των ταννινών που βρίσκονται στους φλοιούς και τα γίγαρτα.

Αλκοολική ζύμωση είναι το βιοχημικό φαινόμενο κατά το οποίο τα σάκχαρα μετατρέπονται από τα ένζυμα των ζυμών σε αλκοόλη, με ταυτόχρονη παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα και θερμότητας. Η μετατροπή αυτή παρατηρείται στους σακχαρούχους χυμούς και συνοψίζεται με την εξίσωση:



Σχηματίζονται, επίσης, και διάφορα άλλα προϊόντα, όπως οξέα, ανώτερες αλκοόλες, αλδεϋδες, εστέρες κτλ, που διαμορφώνουν το πρωτογενές άρωμα του οίνου. Για να πραγματοποιηθεί η αλκοολική ζύμωση μέχρι τέλους, είναι απαραίτητος ένας μεγάλος αριθμός ενζύμων, ορισμένων συνενζύμων και ανόργανων ιόντων.

Συγκεκριμένα, κατά την αλκοολική ζύμωση συμβαίνουν τα εξής:

- Αύξηση της θερμοκρασίας του γλεύκους
- Αναβρασμός του γλεύκους (θορύβωση, ζύμωση), με παράλληλη δημιουργία διοξειδίου του άνθρακα
- Μεταβολή της γεύσης του γλεύκους, επειδή συμβαίνει μετατροπή των σακχάρων σε αιθυλική αλκοόλη.
- Μείωση του ειδικού βάρους.
- Παραγωγή αρώματος.

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, ιδιαίτερως σημαντική κατά την ερυθρή οινοποίηση είναι η φάση της εκχύλισης των φαινολικών συστατικών. Το φαινόμενο αυτό συμβαίνει κατά την διαδικασία της συμπαραμονής των στεμφύλων και των γιγάρτων του σταφυλίου με το χυμό του. Για τη φάση αυτή θα κάνουμε εκτενή

αναφορά, λόγω της σημασίας της στον εμπλουτισμό των οίνων με φαινολικά συστατικά, τα οποία και μελετάμε στη συγκεκριμένη πτυχιακή μελέτη.

Κατά την παραμονή των στεμφύλων με το γλεύκος πραγματοποιείται η εκχύλιση των διαλυτών συστατικών τους, όπως είναι οι ανθοκυάνες, οι ταννίνες, οι πηκτινικές ουσίες, τα ανόργανα συστατικά και οι αρωματικές ενώσεις. Η εκχύλιση των συστατικών αυτών είναι ο σημαντικότερος παράγοντας για τη γευστική και οπτική διαφοροποίηση των ερυθρών από τους λευκούς οίνους. Κατά τη διαδικασία εκχύλισης των συστατικών που αναφέραμε υπεισέρχονται ορισμένοι παράγοντες που επηρεάζουν τη διαδικασία αυτή. Αυτοί οι παράγοντες είναι οι εξής :

- Ο χρόνος συμπαράμονής στεμφύλων και γλεύκους. Έχει διαπιστωθεί ότι η ποσότητα ορισμένων εκχυλιζόμενων συστατικών αυξάνει όσο αυξάνει ο χρόνος εκχύλισης, ενώ άλλων η ποσότητα αυτή φτάνει μέχρι μια μέγιστη τιμή και στη συνέχεια μειώνεται. Στη πρώτη περίπτωση συμπεριλαμβάνονται οι ταννίνες, ενώ στη δεύτερη οι ανθοκυάνες, οι οποίες από κάποιο σημείο και μετά απορροφώνται από τα γίγαρτα. Για την διεξαγωγή όμως ασφαλών συμπερασμάτων όσον αφορά τον χρόνο εκχύλισης και την ποσότητα των εκχυλιζόμενων ουσιών απαραίτητος είναι ο καθημερινός εργαστηριακός έλεγχος ορισμένων δεικτών οι οποίοι μας πληροφορούν για τα παραπάνω.
- Η ένταση της έκθλιψης. Έχει διαπιστωθεί από μέχρι τώρα μελέτες ότι η αύξηση του βαθμού έκθλιψης και σπασίματος των ραγών συντελεί στην αύξηση των εκχυλιζόμενων ουσιών από τα στέμφυλα. Παράλληλα όμως θα πρέπει να προσεχθεί σημαντικά το γεγονός ότι κατά την έντονη έκθλιψη των ραγών είναι δυνατό να εκχυλιστούν αδιάλυτες ουσίες με ανεπιθύμητη οσμή και γεύση, οι οποίες είναι δυνατό να επηρεάσουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου.
- Η θερμοκρασία της ζύμωσης. Γενικά, με την αύξηση της θερμοκρασίας ευνοείται η εκχύλιση των φαινολικών συστατικών. Κατά την διάρκεια της εκχύλισης γνωρίζουμε ότι εξελίσσεται και η αλκοολική ζύμωση. Συνεπώς, πιθανή άνοδος της θερμοκρασίας πέραν των 35°C είναι πιθανό να οδηγήσει σε διακοπή της ζύμωσης. Συνήθως, η θερμοκρασία πρέπει να διατηρείται στους 25- 30°C
- Ο τρόπος εκχύλισης στις δεξαμενές. Όταν τα στέμφυλα στις δεξαμενές διατηρούνται βυθισμένα στο γλεύκος, τότε αυξάνει η εκχύλιση των φαινολικών συστατικών, με άμεσο αποτέλεσμα τη μεταβολή του χρώματος, της γεύσης και γενικότερα των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών ενός οίνου. Η διαδικασία εμβάπτισης των στεμφύλων μπορεί είτε να γίνεται μηχανικά είτε να επιτυγχάνεται με ειδικό μηχανισμό σε συγκεκριμένες δεξαμενές, σε αντίθεση με δεξαμενές στις οποίες στα στέμφυλα επιπλέουν και δίνουν οίνους φτωχότερους σε φαινολικά συστατικά και κατ' επέκταση σε όλα τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά.
- Ο θειώδης ανυδρίτης. Στις συνηθισμένες δόσεις που χρησιμοποιείται διευκολύνει την εκχύλιση των φαινολικών συστατικών, περισσότερο στην προζυμωτική φάση παρά όταν αρχίζει η αλκοολική ζύμωση.
- Η αλκοόλη. Η αύξηση της αλκοόλης με την πάροδο της αλκοολικής ζύμωσης προκαλεί αύξηση στην εκχύλιση των φαινολικών συστατικών. Παρ' όλα αυτά όμως δεν είναι δυνατή η διατύπωση κάποιων κανόνων συμπεριφοράς για όλες τις ποικιλίες αμπέλου.

➤ **Διαχωρισμός οίνου και στεμφύλων:** Όπως αναφέραμε και στη αρχή, η διάρκεια παραμονής των στεμφύλων με το γλεύκος είναι ένας από τους βασικότερους παράγοντες που επηρεάζουν την εκχύλιση των διάφορων συστατικών του σταφυλιού. Αναλόγως, επομένως, με τον επιθυμητό βαθμό

εκχύλισης ρυθμίζεται και ο χρόνος συνύπαρξης στεμφύλων και γλεύκους ή οίνου. Επομένως, η συνύπαρξη αυτή εξαρτάται σε πολύ μεγάλο βαθμό από τον τύπο του οίνου που θέλουμε να παράγουμε, χωρίς όμως να υπάρχουν συγκεκριμένοι κανόνες.

Με σημείο αναφοράς το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης, ο διαχωρισμός στεμφύλων και γλεύκους μπορεί να γίνει στις εξής χρονικές περιόδους:

- Πριν από το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης, όταν υπάρχουν ακόμη αρκετά αζύμωτα σάκχαρα.
- Αμέσως μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης, όταν δεν υπάρχουν πλέον ποσότητες σακχάρων.
- Αρκετές ημέρες μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης, παρατείνοντας έτσι την περίοδο εκχύλισης των συστατικών της σταφυλής.

Σε κάθε περίπτωση, η χρονική περίοδος που θα επιλέξουμε εξαρτάται από τον τύπο του οίνου που θέλουμε να παραγάγουμε ως προς τη συγκέντρωση αυτού σε φαινορικά συστατικά.

Όταν τελικά αποφασιστεί να διακοπεί η συμπαραμονή των στεμφύλων με τον οίνο, ακολουθεί η διαδικασία απομάκρυνσης της ελεύθερης υγρής φάσης (γλεύκος-οίνος) από τη δεξαμενή ζύμωσης με ελεύθερη ροή, και η μεταφορά της σε άλλη δεξαμενή. Με τη διαδικασία αυτή παραλαμβάνεται το 85% του όλου όγκου του οίνου, ο οποίος στη συνέχεια οδηγείται σε δεξαμενές για συνέχιση της ζύμωσης (εάν δεν έχει ολοκληρωθεί) ή σε βαρέλια για τη διατήρηση του. Η ενέργεια αυτή καλείται «**τράβηγμα οίνου**», και το προϊόν το οποίο παραλαμβάνεται «**οίνος εκροής**».

- **Πίεση στεμφύλων:** Μετά την απομάκρυνση του οίνου εκροής, το υπόλοιπο του οίνου που κατακρατείται από τα στέμφυλα (περίπου το 15% του όλου όγκου του οίνου) παραλαμβάνεται με την πίεση αυτών. Το προϊόν καλείται «**οίνος πίεσης**» και θεωρείται ποιοτικά κατώτερος από τον οίνο εκροής. Ο οίνος πίεσης παραλαμβάνεται όταν τα στέμφυλα περάσουν από το πιεστήριο. Το προϊόν που τελικά παραλαμβάνουμε ίσως κριθεί αναγκαίο να αναμιχθεί με άλλους οίνους, ιδίως αν προέρχεται από φημισμένες ποικιλίες αμπέλων και συγκεντρώνει όλα τα απαραίτητα ποιοτικά χαρακτηριστικά, όπως άρωμα και περιεκτικότητα σε ορισμένα συστατικά.
- **Μηλογαλακτική ζύμωση:** Μετά τη λήξη της αλκοολικής ζύμωσης, ο έλεγχος της οποίας γίνεται με τον υπολογισμό των αναγόντων ή αναγωγικών σακχάρων, ακολουθεί, εφόσον το επιτρέψουν οι συνθήκες, η μηλογαλακτική ζύμωση. Κατά τη συγκεκριμένη ζύμωση συμβαίνει μετατροπή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό οξύ από τα γαλακτικά βακτήρια τα οποία βρίσκονται στις οινολάσπες και μεταφέρονται από το σταφύλι. Η μηλογαλακτική ζύμωση είναι απαραίτητη στους ερυθρούς οίνους, διότι συμβάλλει στα εξής:

- Στη βιολογική μείωση της ολικής οξύτητας
- Στη βακτηριακή σταθερότητα των οίνων
- Στη βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των οίνων.

Συνεπώς, η μηλογαλακτική ζύμωση εξασφαλίζει βιολογική σταθερότητα στους ερυθρούς οίνους και είναι απαραίτητη σε εκείνους που προορίζονται για παλαίωση.

Η μηλογαλακτική ζύμωση πρέπει να αρχίζει αμέσως μετά την αλκοολική ζύμωση και να τελειώνει όσο το δυνατό ταχύτερα. Η έναρξή της μπορεί να γίνει ύστερα από εμβολιασμό με γαλακτικά βακτήρια που παράγονται βιομηχανικά και πρέπει να παρακολουθείται καθημερινά.

- **Διαύγαση - κολλάρισμα:** Συνίσταται στην ενσωμάτωση σε ένα κρασί, λιγότερο ή περισσότερο θολό, μιας ουσίας ικανής να συμπυκνώσει και να καταβυθίσει τα αιωρούμενα σωματίδια των οποίων το ειδικό βάρος είναι μεγαλύτερο από αυτό του κρασιού. Το διαυγαστικό που προστίθεται σχηματίζει νιφάδες και καταβυθίζεται, συμπαρασύροντας τα λεπτά σωματίδια του θολώματος. Ο διαχωρισμός των ιζημάτων που σχηματίζονται μπορεί να γίνει με διήθηση ή με μετάγγιση μετά την πλήρη καθίζηση. Με την τεχνική αυτή επιδιώκεται η σταθεροποίηση και η βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών ενός οίνου.
- **Σταθεροποίηση του οίνου:** Η διατήρηση της διαύγειας του οίνου επιτυγχάνεται με τη σταθεροποίηση του. Σταθεροποίηση είναι η παρεμπόδιση της δημιουργίας θολώματος ή ιζήματος στον οίνο και η διατήρηση της διαύγειάς του μέχρι την κατανάλωση. Οι πλέον εφαρμοζόμενοι τρόποι διατήρησης της διαύγειας του οίνου είναι η σταθεροποίηση με θέρμανση και η σταθεροποίηση με ψύξη.
- **Παλαίωση του οίνου:** Είναι η διαδικασία κατά την οποία στον οίνο διαμορφώνονται η οριστική του σύνθεση και τα ιδιαίτερα αρώματα και η γεύση του. Όλα τα παραπάνω οφείλονται σε μια σειρά από φυσικοχημικά και βιοχημικά φαινόμενα, όπως οξείδωση, αναγωγή, καθίζηση κτλ. Παλαίωση επιδέχονται κυρίως οι ερυθροί ξηροί οίνοι, πλούσιοι σε ταννίνες και ανθοκυάνες, καθώς επίσης και ορισμένοι λευκοί. Συνήθως η παλαίωση διαρκεί από 12 έως 24 μήνες σε βαρέλι και 1 χρόνο σε μπουκάλι. Όμως ο χρόνος παλαίωσης ποικίλει ανάλογα και με το ποσοστό ταννινών, χρωστικών και άλλων ουσιών που έχουν εκχυλιστεί.

1.4.2 Διαφορές ερυθρών – ροζέ – λευκών οίνων

Όπως αναφέραμε προηγουμένως ένα από τα βασικότερα στάδια της ερυθρής οινοποίησης είναι η συμπαραμονή του γλεύκου (χυμός του σταφυλιού) και των στέμφυλων για ένα χρονικό διάστημα, στάδιο κατά το οποίο συμβαίνει η εκχύλιση των χρωστικών και των φαινολικών συστατικών από τους φλοιούς στο γλέυκος και έτσι αποκτούν το χρώμα τους οι ερυθροί οίνοι και ενισχύουν το τελικό πολυφαινολικό τους προφίλ.

Κατά τη λευκή οινοποίηση το στάδιο αυτό δεν εφαρμόζεται, λόγω του ότι στους λευκούς οίνους επιζητούμε διαφορετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, όπως φρεσκάδα και οξύτητα, χαρακτηριστικά που δε θα υπήρχαν εάν εφαρμοζόταν η φάση της εκχύλισης.

Στους ροζέ οίνους ο χρόνος συμπαραμονής στέμφυλων και γλεύκου είναι πολύ μικρότερος σε σχέση με τον χρόνο συμπαραμονής στους ερυθρούς και για το λόγο αυτό και οι ροζέ οίνοι έχουν πιο ανοιχτό χρώμα και μικρότερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά σε σχέση με τους ερυθρούς (Σουφλερός τόμος 2,2000. Σταυρακάκης: Γενική αμπελουργία 2000).

1.4.3 Τύποι και κατηγορίες κρασιών

Τα κρασιά ανάλογα με το χρώμα τους διακρίνονται σε:

- λευκά
- ροζέ
- ερυθρά

ανάλογα με τα σάκχαρα που περιέχουν διακρίνονται σε:

- | | | |
|------------|-----------------|-------------|
| • ξηρά | αζύμωτα σάκχαρα | < 4g/l |
| • ημίξηρα | αζύμωτα σάκχαρα | 4 – 12 g/l |
| • ημίγλυκα | αζύμωτα σάκχαρα | 12 – 45 g/l |
| • γλυκά | αζύμωτα σάκχαρα | >45 g/l |

ανάλογα με το διοξείδιο του άνθρακα που περιέχουν διακρίνονται σε:

- ήσυχα
- ημιαφρώδη
- αφρώδη

Σύμφωνα με την νομοθεσία της ευρωπαϊκής ένωσης, τα κρασιά διακρίνονται σε:

- κρασιά ονομασίας προέλευσης (ΟΠΑΠ – ΟΠΕ)
- επιτραπέζια κρασιά (Τσέτουρας 2003).

Οίνοι ονομασίας προέλευσης

Είναι αυτοί που παρασκευάζονται από αμπέλια ορισμένης περιοχής αυστηρά καθορισμένης και από συγκεκριμένες ποικιλίες σταφυλιών. Η νομοθεσία προβλέπει ότι η γλευκοποίηση των σταφυλιών και η οινοποίηση πρέπει να γίνει μέσα στην καθορισμένη περιοχή ζώνη ονομασίας προέλευσης, ενώ η εμφιάλωση μπορεί να γίνει και εκτός ζώνης. Ένα κρασί για να ανήκει στην κατηγορία αυτή πρέπει να πληρεί τις παρακάτω προϋποθέσεις (Τσέτουρας 2003).

- καθορισμένη αμπελουργική περιοχή
- ποικιλία σταφυλιού
- μέθοδος οινοποίησης της περιοχής
- καλλιεργητική τεχνική και στρεμματική απόδοση
- περιεκτικότητα σε αλκοόλη

Στα παραπάνω κρασιά γίνεται κρατικός έλεγχος, για να διαπιστωθεί, εάν πληρούν τις παραπάνω προϋποθέσεις (Τσέτουρας 2003, Σουφλερός τόμος 2, 2000).

Επιτραπέζιοι οίνοι

Σε αυτούς ανήκουν όλοι οι οίνοι που κυκλοφορούν στην αγορά με εμπορικές ονομασίες. Γίνονται από διάφορες ποικιλίες σταφυλιών και προέρχονται από διάφορες αμπελουργικές περιοχές. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν και:

- **Οι τοπικοί οίνοι** (έχουν το όνομα της περιοχής από την οποία προέρχονται και τον χαρακτηρισμό τοπικός)
- Οι οίνοι **ονομασίας κατά παράδοση** (σύμφωνα με την κοινοτική νομοθεσία σε αυτούς ανήκουν η ρετσίνα και ο οίνος Βερντέα της Ζακύνθου) (Τσέτουρας 2003, Σουφλερός τόμος 2,2000).

1.5 Αμπελοκαλλιέργεια – Οινοποιία στη Θεσσαλία



Ιστορικά η Θεσσαλία σχετίζεται άμεσα με το κρασί από τα αρχαιοελληνικά χρόνια, μέσω του Πηλίου και των Κενταύρων, οι οποίοι είχαν άσβεστο πάθος για το κρασί. Μάλιστα, ο Διόνυσος τους είχε συμπεριλάβει στη μόνιμη συνοδεία του δίπλα στον Πάνα, τον Σείλινο, τους Σατύρους και του Βάκχες. Εκεί εξάλλου θάφτηκε το Διονύσιο πιθάρι με κρασί, το οποίο περίμενε τέσσερις γενεές τον ημίθεο Ηρακλή για να το γευτεί.

Η ευρύτερη περιοχή της Θεσσαλίας βρίσκεται στο κέντρο του ανατολικού τμήματος της ηπειρωτικής Ελλάδας και περιβάλλεται από ιδιαίτερα υψηλές οροσειρές. Επίσης, υψώνονται στην περιοχή αξιοσημείωτα βουνά, ο Όλυμπος (2.917μ) στα βορειοδυτικά, ο Τιταρίον (1839μ), η Όσσα (1.978 μ.), το Μαυροβούνι (1.054 μ.) και το Πήλιο (1.547 μ.) παγιδεύοντας την απαραίτητη υγρασία για την καλλιέργεια. Βρέχεται ανατολικά από το Αιγαίο Πέλαγος, ενώ ο Πηνειός ποταμός και πολλοί παραπόταμοι (Ενιπεύς, Βελισιώτικο, Πενταμύλη και Χιλιαδιώτικο) δίνουν μέσω των αρδεύσεων όσες ποσότητες νερού χρειάζεται η περιοχή.

Η Θεσσαλία χωρίζεται σε τέσσερις νομούς, της Λάρισας, της Καρδίτσας, της Μαγνησίας και των Τρικάλων. Εκτός από το νομό Τρικάλων όλοι οι υπόλοιποι διαθέτουν ενδείξεις ποιότητας οίνου.

Η Λάρισα διαθέτει μια περιοχή ΟΠΑΠ, τη Ραψάνη, η οποία είναι αποτέλεσμα οινοποίησης των ποικιλιών, Κρασάτο, Σταυρωτό και Ξινόμαυρο. Ο νομός της Λάρισας επίσης περιλαμβάνει δύο τοπικούς οίνους, τους Κρανίων και Τυρνάβου.

Τα Τρίκαλα δε διαθέτουν ένδειξη ΟΠΑΠ ή τοπικού οίνου, παρά το γεγονός ότι τα Μετέωρα ιστορικά θεωρούνταν μια εξέχουσα αμπελουργική περιοχή.

Η Καρδίτσα, στο νότιο θεσσαλικό τμήμα, απολαμβάνει την ένδειξη ΟΠΑΠ Μεσενικόλα, χάρη στην προσπάθεια του Μεσιέ (monsieur) Νικολά και την εισαγωγή γαλλικών ποικιλιών, μια εκ των οποίων ονομάστηκε με τα χρόνια “Μεσενικόλα”. Η Μαγνησία διαθέτει και αυτή μια ένδειξη ΟΠΑΠ Αγχιάλου από τις λευκές ποικιλίες Σαββατιανό και Ροδίτη. Είναι μια τοποθεσία ιδανική για την καλλιέργεια αμπέλου, αν αναλογιστεί κανείς την κλιματολογική επίδραση του Πηλίου και του Παγασητικού, τα οποία δημιουργούν το ανάλογο μεσόκλιμα (www.thessalia.gr).

Πίνακας 1: Καλλιεργούμενες με αμπέλια εκτάσεις ανά περιφέρεια το έτος 1999

Καλλιεργούμενες με αμπέλια εκτάσεις ανά περιφέρεια 1999						
	οινοποιήσιμοι	επιτραπέζιοι	σουλτανίνα	κορινθιακή		σύνολο
Αν. Μακ.- Θράκ	5.975	35.911	3.100			44.986
Κ. Μακεδονίας	37.303	24.945	350			62.598
Δ. Μακεδονίας	23.364	3.182				26.546
Ηπείρου	6.907	257				7.164
Θεσσαλίας	24.991	43.103				68.094
Ιονίων νήσων	34.770	721		22100		57.591
Δυτ.Ελλάδας	103.319	3.337	20	71.400		178.076
Πελοποννήσου	103.632	8.918	78.694	85.015		276.259
Στερ.Ελλάδας	85.850	1.401	99			87.350
Αττικής	115.355	405	40			115.800
Βορείου Αιγαίου	27.930	1.925				29.855
Νοτίου Αιγαίου	55.020	3.430	350			58.800
Κρήτης	73.165	13.050	187.213			273.428

Στον παραπάνω πίνακα παρουσιάζονται οι καλλιεργούμενες εκτάσεις με αμπέλια στην Ελλάδα, από όπου βλέπουμε πως η Θεσσαλία βρίσκεται στην έκτη θέση από τις περιφέρειες όλης της Ελλάδας (www.thessalia.gr).

Πίνακας 2: Καλλιεργούμενες εκτάσεις με αμπέλια ανά νομό, στην περιφέρεια Θεσσαλίας

Έκταση και παραγωγή οινοποιήσιμων ποικιλιών 2001									
Δ/σεις Γεωργίας	Έκταση στρ	Έκταση στρ	Έκταση στρ	Έκταση στρ		παραγωγή τον			
	παλαιά	παλαιά	νέα	νέα		γλεύκος	επιτρ		
	ξερικά	ποτιστικά	ξερικά	ποτιστικά					
Θεσσαλίας	11.720	6.310	100	5.100	23.230	25.100	250	25.350	
Λάρισα	7.000	3.000	100	5.000	15.100	13.000		13.000	
Μαγνησία	1.420	2.660		100	4.180	7820		7.820	
Τρίκαλα	100	100			200	1.000	150	1.150	
Καρδίτσα	3.200	550			3.750	3.280	100	3.380	

Στον παραπάνω πίνακα παρουσιάζονται οι καλλιεργούμενες εκτάσεις με αμπέλια ανά νομό, στην περιφέρεια Θεσσαλίας (www.thessalia.gr).

1.5.1 Χαρακτηριστικά των κυριοτέρων ποικιλιών της Θεσσαλίας και των παραγομένων τους οίνων



Μαύρο Μεσενικόλα:

Περιοχές Καλλιέργειας: Καρδίτσα
φυτό: Ποικιλία μέτρια ζωνή, παραγωγική σχετικά ευαίσθητη στις ασθένειες. Σταφύλια μέτρια φλοιός κυανοϊώδης. Τρύγος μέσα με τέλος Σεπτέμβρη.
Το κρασί: Ερυθρό κρασί μέτριου αλκοολικού βαθμού και μέτριας οξύτητας. Όχι πολύ βαθύ χρώμα, ιδιαίτερο άρωμα και γεύση. Συμμετέχει σε οίνο **ΟΠΑΠ (Μεσενικόλα)** (Σταυρακάκης: θέματα αμπελογραφίας, 2000).



Κρασάτο: Ποικιλία της Θεσσαλίας, με επίκεντρο καλλιέργειας τη Ραψάνη. Ο τρύγος γίνεται στο τέλος Σεπτεμβρίου. Παράγει κρασιά που χαρακτηρίζονται από υψηλό αλκοόλ, μεσαία οξύτητα και μέτρια αρωματική ένταση. Συμμετέχει στην παραγωγή του οίνου **Ο.Π.Α.Π. Ραψάνη** (Σταυρακάκης: θέματα αμπελογραφίας, 2000).



Ξινόμαυρο: Η ευγενέστερη ποικιλία του Βορειοελλαδικού χώρου, με επίκεντρο καλλιέργειας τη Δυτική - Κεντρική Μακεδονία και κυρίως τις περιοχές της Νάουσας, της Γουμένισσας και του Αμυνταίου. Ο τρύγος γίνεται στο τέλος Σεπτεμβρίου. Παράγει κρασιά με έντονα αρώματα κόκκινων φρούτων, φραγκοστάφυλου και ντομάτας. Στόμα μεσαίου όγκου, με

στυφές ταννίνες και υψηλή οξύτητα, ακόμη και όταν έχει υψηλή αλκοόλη. Παράγει επίσης αφρώδη ροζέ κρασιά. Συμμετέχει στην παραγωγή ξηρών και αφρωδών οίνων **Ο.Π.Α.Π. Νάουσα, Γουμένισσα, Αμύνταιο, Ραψάνη και αρκετών Τοπικών οίνων** (Σταυρακάκης: θέματα αμπελογραφίας, 2000).



Σταυρωτό: Ποικιλία που καλλιεργείται κατά κύριο λόγο στο Νομό Λαρίσης, με επίκεντρο τη Ραψάνη. Ο τρύγος γίνεται στις αρχές Οκτωβρίου. Παράγει κρασιά που χαρακτηρίζονται από μέτριο αλκοόλ, μεσαία οξύτητα και μέτρια αρωματική ένταση. Συμμετέχει στην παραγωγή του οίνου **Ο.Π.Α.Π. Ραψάνη** (Σταυρακάκης: θέματα αμπελογραφίας, 2000).



Syrah: Ποικιλία γαλλικής προέλευσης, με επίκεντρο καλλιέργειας την περιοχή του Ροδανού. Στην Ελλάδα νησίδες καλλιέργειας υπάρχουν κατά κύριο λόγο στη Μακεδονία και σε μικρότερο βαθμό σε άλλες γεωγραφικές περιοχές της χώρας. Ο τρύγος γίνεται στο τέλος Αυγούστου με αρχές Σεπτεμβρίου. Παράγει κρασιά με βαθύ χρώμα, έντονα αρώματα μικρών κόκκινων φρούτων, φραγκοστάφυλο και βιολέτα, πιπέρι και φυτικές νότες, που γίνονται πιο σύνθετα και μπαχαρικά κατά την παλαίωση. Στόμα πλούσιο, με έντονες ταννίνες που μαλακώνουν κατά την παλαίωση. Συμμετέχει στην παραγωγή αρκετών Τοπικών οίνων (Σταυρακάκης: θέματα αμπελογραφίας, 2000).



Μοσχάτο Αμβούργου:

Λατινική Ονομασία: Moschato Amvourgou

Συνώνυμα: Μαύρο Μυρωδάτο, Μοσχάτο Μαύρο

Περιοχές Καλλιέργειας: Θεσσαλία, ιδίως περιοχές Τυρνάβου, Αμπελώνα. Επίσης, περιοχή Θεσσαλονίκης και διάσπαρτα σε όλη την Ελλάδα.

Φυτό: Ποικιλία ζωνή, παραγωγική, ευαίσθητη στις ασθένειες. Σταφύλια μέτριου μεγέθους, φλοιός κυανοϊώδης. Τρύγος μέσα Σεπτεμβρίου.

Το κρασί: Ροζέ αλλά και λευκό ή ελαφριά κόκκινο με έντονο άρωμα μοσχάτου. Κανονικός αλκοολικός βαθμός, χαμηλή οξύτητα. Συμμετέχει σε Τοπικό Οίνο (Σταυρακάκης: θέματα αμπελογραφίας, 2000).



ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

2. Ο οίνος ως προϊόν διατροφής –ανθρώπινη υγεία

2.1 Ιστορικά στοιχεία για την ιατρική δράση του οίνου

Η πρώτη γραπτή ιστορική μαρτυρία για τη φαρμακευτική χρήση του οίνου είναι ένα Σουμερικό χειρόγραφο του 2200 πχ που συνιστά τη χορήγηση οίνου με μέλι για την καταπολέμηση ασθενειών. Στην αρχαία Ελλάδα ο οίνος αποτελούσε απαραίτητο τμήμα της διατροφής και ιατρικής πρακτικής, με παραδείγματα: (www.keosoe.gr)

α) τον Ιπποκράτη (450- 370 πχ) που χορηγούσε τον οίνο ως αντιπυρετικό, καθαρτικό, διουρητικό και αντισηπτικό,

β) το Διοσκουρίδη (40-90 μΧ) που στα βιβλία που συνέγραψε περιγράφοντας περισσότερα από 1000 φάρμακα της εποχής ανέφερε ότι «ο οίνος ζεσταίνει γενικά το σώμα, είναι εύπεπτος, αυξάνει την όρεξη, βοηθάει στον ύπνο και αναζωογονεί τον οργανισμό»

γ) το θεραπευτή των μονομάχων Γαληνό (130-201μ.Χ), που επάλειφε τις πληγές με οίνο, τον οποίο χρησιμοποιούσε και ως αντιπυρετικό ή τονωτικό.

Στον μεσαίωνα ο Αβικέννας (980-1037 μΧ) σε ιατρικό του σύγγραμμα αφιέρωσε ένα ολόκληρο κεφάλαιο στις ευεργετικές επιδράσεις του οίνου στην υγεία και τις ιατρικές του χρήσεις.

Η πρώτη φαρμακοποιία του Λονδίνου (1618) περιλάμβανε τρεις ιατρικούς οίνους, οι οποίοι στη φαρμακοποιία της Χαϊδελβέργης (1835) αυξήθηκαν σε 170. Η γαλλική φαρμακοποιία (1840) είχε 164, ενώ η πρώτη των ΗΠΑ (1820) εννέα. Είναι δε χαρακτηριστικό ότι ο καθηγητής Pick συνέστησε την προσθήκη οίνου στο νερό του Αμβούργου για να καταπολεμηθεί η εξάπλωση της επιδημίας της χολέρας.

Στη συνέχεια, σύγχρονα ερευνητικά αποτελέσματα έδειξαν ότι ο οίνος είναι αποτελεσματικότερο αντιμικροβιακό από την αλκοόλη, λόγω της συνεργαστικής δράσης των πολυφαινόλων που περιέχει.

Η παρουσία του οίνου ως ιατρικού σκευάσματος στις φαρμακοποιίες εξαλείφθηκε ως συνέπεια της ποτοαπαγόρευσης στις αρχές του 20ου αιώνα. Δεν διέγραψε όμως τις ευεργετικές για την υγεία επιδράσεις του, οι οποίες τα τελευταία χρόνια έχουν τύχει ευρείας αναγνώρισης και μελέτης από την επιστημονική κοινότητα (www.greekswinefederation.gr).



2.2 Το κρασί ως συστατικό της μεσογειακής διατροφής και οι ευεργετικές του επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία

Παραδοσιακά, το κρασί θεωρείτο στοιχείο του μεσογειακού μοντέλου διατροφής. Όλο και περισσότερο φαίνεται απαραίτητη η εντός ορίων κατανάλωση του οίνου, ως ένα αναπόσπαστο κομμάτι της καθημερινής διατροφής. Αυτό γίνεται αντιληπτό, μελετώντας τις κλινικές μελέτες που έχουν διεξαχθεί πάνω στην επίδραση του κρασιού και των σύνθετων φαινολικών συστατικών(που προέρχονται από αυτό), στην πρόληψη εκδήλωσης συγκεκριμένων ασθενειών.

Η ευεργετική δράση του κόκκινου κρασιού στο καρδιαγγειακό σύστημα έγινε αρχικά γνωστή μέσω της παρατήρησης από επιδημιολογικά στοιχεία ενός φαινομένου, γνωστού ως «**γαλλικό παράδοξο**». Παρατηρήθηκε ότι στο γαλλικό πληθυσμό υπήρχε χαμηλή επίπτωση στεφανιαίας νόσου, παρά τη μεγάλη κατανάλωση κορεσμένων λιπαρών οξέων, που είναι βασικός παράγοντας κινδύνου καρδιαγγειακών επεισοδίων. Αυτό εξηγήθηκε μέσω της μεγάλης περιεκτικότητας του κόκκινου κρασιού σε φαινολικά συστατικά, όπως ανθοκυανιδίνες και άλλα (Albert et al., 2001).

Επιπλέον, σε αντίστοιχη μελέτη στην Ισπανία, όπου έγινε γεωγραφική κατανομή των ασθενών με στεφανιαία νόσο, παρατηρήθηκε ότι σε περιοχές όπου η κατανάλωση σε κόκκινο κρασί ήταν μεγαλύτερη, τα κρούσματα της νόσου ήταν λιγότερα.

Η ποσότητα του κρασιού που σχετίζεται με το μειωμένο ρίσκο καρδιαγγειακών νοσημάτων ισοδυναμεί με λήψη 2-3 ποτηριών κρασιού που αντιστοιχούν σε 10γρ. αιθυλικής αλκοόλης ανά μέρα. Πράγματι, παρατηρήθηκε ότι η συντηρητική κατανάλωση κρασιού συνεπικουρεί μια δίαιτα πλούσια σε φαινολικά συστατικά στην προστασία της καρδιάς και επιπλέον περιορίζει τις επιδράσεις των επικίνδυνων συνεπειών μιας υψηλής σε λιπαρά δίαιτας ως προς την συσσωρευτική απόθεση στις αρτηρίες και θρόμβωση στην λειτουργία του ενδοθελίου και στην οξείδωση των λιπιδίων, τα οποία συντελούν στην εκδήλωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Παρ' όλα αυτά, παρατηρήθηκε επίσης ότι μακροπρόθεσμα η κατανάλωση κόκκινου κρασιού σε συνδυασμό με μια μακροχρόνια επιβαρυνόμενη σε λιπαρά δίαιτα δεν ασκεί καμία θετική επίδραση (Πλέσσας, 1998).

2.3 Θρεπτικά συστατικά του οίνου – Βιταμίνες – Φυτικοχημικές ιδιότητες του οίνου

Πίνακας 3: Συστατικά και ποσότητες τους στον παραγόμενο οίνο (Σουφλερός τόμος 2, 2000)

A/α	Συστατικό	Ποσότητα(g/l)
1	Αιθυλική Αλκοόλη	56-120
2	Γλυκερίνη	3,5-15
3	Όξινο τρυγικό κάλιο	1-5
4	Τρυγικό οξύ ελεύθερο	1
5	Μηλικό οξύ	1
6	Ζάχαρα	1,5-4
7	Θειικά άλατα	0,15-4
8	Ηλεκτρικό οξύ	0,7-1,4
9	Ταννίνες	1-3
10	Κόμμεα(πηκτινικές ύλες)	1-4
11	Χρωστικές ουσίες	Εκατοστά του g
12	Ξηρό υπόλειμμα	17-32

A/a	Ιδιότητα	τιμή
1	Ολική οξύτητα	1,5-8 (g/l)
2	Πτητική οξύτητα	0,5 (g/l)
3	πυκνότητα	0,995-0,997

Πίνακας 4: Φυσικοχημικές ιδιότητες του οίνου (Σουφλερός τόμος 2,2000)

Πίνακας 5: Βιταμίνες του οίνου (Σουφλερός τόμος 2,2000)

βιταμίνη	Μέση περιεκτικότητα /lit	Μέση περιεκτικότητα/lit λευκοι οίνοι	Ανάγκες ατόμου / 24 h
B1 ΘΕΙΑΜΙΝΗ	<10 µg	10 µg	2 mg
B2 ΡΙΒΟΦΛΑΒΙΝΗ	177 µg	32 µg	3 mg
B6 ΠΥΡΙΔΟΞΙΝΗ	0,35 mg	0,31 mg	5 mg
B12 ΚΟΒΑΛΑΜΙΝΗ	0,06 µg	0,07 µg	1 µg
H ΒΙΟΤΙΝΗ	2,1 µg	2 µg	10 µg
PP ΝΙΚΟΤΙΝΑΜΙΔΗ	1,36 mg	0,82 mg	15 mg
P ΠΑΝΤΟΘΕΝΙΚΟ ΟΞΥ	0,98 mg	0,81 mg	10 mg
ΦΟΛΙΚΟ ΟΞΥ	2 mg	2 µg	0,2 mg

2.4 Ενεργειακό δυναμικό του οίνου

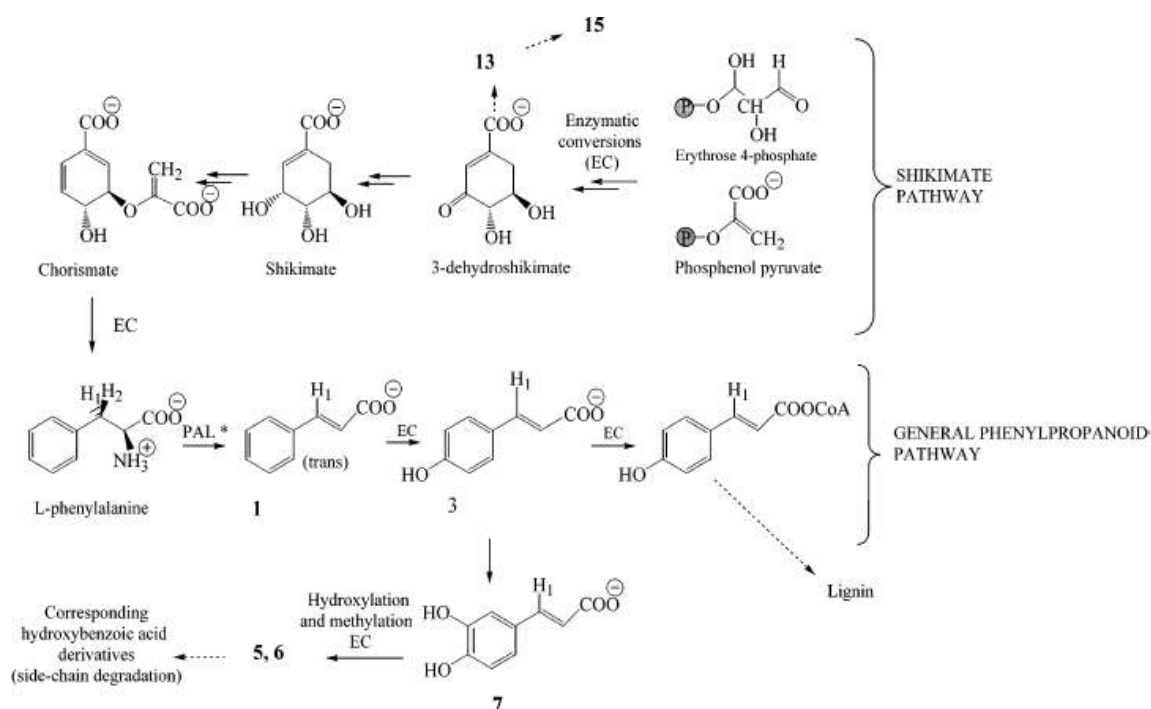
Όσον αφορά το ενεργειακό δυναμικό του οίνου, η αλκοόλη είναι το συστατικό εκείνο στο οποίο αποδίδεται κυρίως το ενεργειακό δυναμικό του οίνου. Ένα λίτρο οίνου 12% vol αλκοόλης, παρέχει 700 περίπου θερμίδες (cal). Αν στο ποσό αυτό προστεθούν και οι θερμίδες που προκύπτουν από τη γλυκερόλη (10 g = 49,4 cal) και τα ζάχαρα (10 g γλυκόζης = 37,6 cal), διαπιστώνουμε ότι, ανάλογα με τη σύστασή του, το ένα λίτρο οίνου (με αλκοόλη 12% vol) παρέχει στον οργανισμό 700-1000 θερμίδες. Το ποσό αυτό αποτελεί το 40% περίπου των θερμίδων, που έχει ανάγκη ο ανθρώπινος οργανισμός για κάθε 24ωρο, και αυτό βέβαια για άτομα που δεν κάνουν χειρωνακτική εργασία(Σουφλερός τόμος 2,2000. Τσέτουρας 2003).

2.5 Εισαγωγή στα φαινολικά συστατικά

2.5.1 Ορισμός και βιοσύνθεση

Με τον όρο φαινολικά συστατικά εννοούμε μία κατηγορία ενώσεων που αποτελούνται από έναν αρωματικό δακτύλιο που φέρει μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες (Robbins, 2003; Morton et al., 2000). Οι ενώσεις αυτές είναι ευρέως διαδεδομένες στα φυτικά προϊόντα και υπολογίζεται ότι βρίσκονται σε περίπου 8000 φυτά, στα οποία προκύπτουν ως δευτερογενείς μεταβολίτες μέσω συγκεκριμένων βιοσυνθετικών μονοπατιών (Robbins, 2003; Urquiaga & Leighton, 2000). Στις φαινολικές ενώσεις ανήκουν οι απλές φαινόλες, τα φαινολικά οξέα, τα φλαβονοειδή, οι τανίνες και άλλες ενώσεις (Morton et al., 2000).

Τα σημαντικότερα μεταβολικά μονοπάτια από τα οποία προέρχονται τα φαινολικά συστατικά είναι το μεταβολικό μονοπάτι του σικιμικού οξέος και του φαινυλπροπανίου. Τα παράγωγα του βενζοϊκού και του κινναμωμικού οξέος, τα φαινολικά οξέα, προέρχονται από το μεταβολισμό της φαινυλαλανίνης, η οποία προκύπτει από το τελικό προϊόν του μεταβολισμού του σικιμικού οξέος, το chorismate. Η διαδικασία αυτή βασίζεται στην υδροξυλίωση του αρωματικού δακτυλίου και στην ενζυματική τροποποίησηση.



Σχ. 1: Βιοσυνθετικά μονοπάτια του υδροξυβενζοϊκού και του υδροξυκινναμωμικού οξέος (Robbins, 2003)

Μέσω του μονοπατιού της φαινυλαλανίνης τα φαινολικά οξέα παράγονται μετά τη μετατροπή της φαινυλαλανίνης σε π-κουμαρικό οξύ, το οποίο με υδροξυλίωση ή μεθυλίωση μετατρέπεται σε άλλα οξέα. Προσθήκη κυκλικών εστέρων οδηγεί στις χρωμονόες, ενώ αντιδράσεις με μαλόνυλο ομάδες στις ξανθόνες, τα στυλβένια και τα φλαβονοειδή (Duthie et al., 2000). Τα φλαβονοειδή μπορεί να προέρχονται και από το μονοπάτι του σικιμικού οξέος έπειτα από μεθυλίωση,

διμερισμό και γλυκοζυλίωση (Urquiaga & Leighton, 2000). Τρία μόρια μαλόνυλο CoA από το μεταβολισμό της γλυκόζης και με τη δράση της συνθετάσης της χαλκόνης σχηματίζουν το δακτύλιο A, ενώ οι δακτύλιοι B και C προέρχονται από τη μετατροπή της φαινυλαλανίνης σε κουμαρικό οξύ (Merken & Beecher, 2000).

Οι φαινολικές ενώσεις δε βρίσκονται στα φυτά ελεύθερες, αλλά ενωμένες υπό τη μορφή εστέρων, αιθέρων, τερπενίων, ή γλυκοζιτών. Η γλυκοζυλίωση λαμβάνει χώρα με τη συμμετοχή κυρίως της γλυκόζης, αλλά και της γαλακτόζης, της ραμνόζης, της ξυλόζης, της αραβινόζης και της ρουτινόζης. Υπό τη μορφή γλυκοζιτών, οι φαινολικές ενώσεις είναι περισσότερο υδατοδιαλυτές εντός των φυτικών ιστών, ενώ γίνονται λιγότερο ευαίσθητες σε αντιδράσεις με ελεύθερες ρίζες, με αποτέλεσμα να ενισχύεται ο προστατευτικός τους ρόλος για το φυτό (Urquiaga & Leighton, 2000).

2.5.2 Ρόλος των φαινολικών συστατικών στα φυτά

Τα φαινολικά συστατικά είναι διαδεδομένα σε όλα τα τμήματα των φυτών, όπως τα φύλλα, ο κορμός και η επιδερμίδα, διαδραματίζοντας σημαντικότατο ρόλο στη διατήρηση της δομικής σταθερότητας του φυτικού ιστού, αφενός μέσω της σύνδεσης τους με εστέρες και γλυκοζίτες, αφετέρου λόγω της εμπλοκής τους στο σχηματισμό λιγνίνης (Morton et al., 2000). Επίσης, εμπλέκονται σε βασικές λειτουργίες του φυτού, όπως η φωτοσύνθεση, η θρέψη και η ενζυμική δραστηριότητα, λαμβάνοντας μέρος σε βιοχημικές αντιδράσεις και μεταβολικές διαδικασίες (Robbins, 2003).

Ο προστατευτικός ρόλος πολλών φαινολικών ενώσεων για τα φυτά έγκειται σε διάφορους λόγους, ο σημαντικότερος εκ των οποίων θεωρείται η αντιοξειδωτική τους δράση. Η δέσμευση των ελεύθερων ριζών που προκύπτουν από την υπεριώδη ακτινοβολία, UV, καθώς και από άλλους παράγοντες, αποτρέπει την οξειδωτική καταστροφή των φυτικών ιστών. Η υπεριώδης ακτινοβολία της μορφής UV-B είναι υψηλής ενέργειας, ικανής να καταστρέψει τα φυτικά κύτταρα. Τα φλαβονοειδή που βρίσκονται στα φύλλα απορροφούν στο ίδιο μήκος κύματος με την ακτινοβολία, λειτουργώντας ως φίλτρα προστασίας των ιστών από τη UV (Harborne & Williams, 2000; Scalbert et al., 2002).

Πληθώρα επιστημονικών μελετών έχει δείξει ότι οι φαινολικές ενώσεις έχουν την ικανότητα να προστατεύουν τα φυτά από μικροβιακούς εισβολείς, όπως ιοί, μύκητες και βακτήρια, ενώ η αντιμικροβιακή δράση εξαρτάται από τον αριθμό των υδροξυλίων. Άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι κάποια φλαβονοειδή απωθούν τους νηματώδεις και άλλα είδη εντόμων από τα φυτά, προστατεύοντας τα από τις καταστροφικές τους επιθέσεις (Harborne & Williams, 2000).

2.5.3 Παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση των φαινολικών στα φυτά

Η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων εντός των φυτικών ιστών διαφέρει ανάλογα με την επίδραση συγκεκριμένων παραγόντων. Μελέτες έχουν δείξει ότι η έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία αυξάνει τα επίπεδα των φλαβονολών στα σταφύλια και στα μούρα, ενώ η θερμοκρασία δεν τα επηρεάζει (Makris et al., 2006). Άλλοι περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως το είδος του εδάφους, οι κλιματικές συνθήκες (βροχοπτώσεις, υγρασία κτλ), καθώς και οι καλλιεργητικές τεχνικές φαίνεται ότι καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό τα επίπεδα των φαινολικών στα φυτά. Επίσης, ο βαθμός ωριμότητας κάποιων φρούτων επηρεάζει τη συγκέντρωση σε φαινολικά συστατικά. Για παράδειγμα, η συγκέντρωση των φαινολικών οξέων μειώνεται κατά τη διάρκεια

της ωρίμανσης, ενώ η συγκέντρωση των ανθοκυανινών αυξάνεται. Επίδραση εξωτερικών παραγόντων στα φυτά, όπως η καταστροφή του φυτικού ιστού από έντομα συνδέεται με την αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών στην περιοχή αυτή, ώστε να δημιουργηθεί ένα είδος άμυνας έναντι στο οξειδωτικό stress (Makris et al., 2006; Manach et al., 2004).

Κατά την αποθήκευση των φυτικών τροφίμων ένα μεγάλο μέρος των φαινολικών συστατικών χάνεται λόγω οξείδωσης, γεγονός που υποβαθμίζει την ποιότητα του τελικού τροφίμου, αλλάζοντας το χρώμα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Οι τεχνικές προετοιμασίας των τροφίμων, όπως η αποφλοιώση και το μαγείρεμα οδηγούν στην απώλεια σημαντικών ποσοτήτων φαινολικών συστατικών. Κατά την αποφλοιώση των φρούτων οι απώλειες σε φαινολικά οφείλονται στο ότι το μεγαλύτερο μέρος τους βρίσκεται στη φλούδα, ενώ κατά το μαγείρεμα η επίδραση της θερμότητας ευθύνεται για τη μείωση των φαινολικών. Για παράδειγμα το βράσιμο της τομάτας και του κρεμμυδιού έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια του 75-80% του συνόλου των φαινολικών ενώσεων που περιέχουν. Τέλος οι βιομηχανικές διεργασίες, όπως η χυμοποίηση, η οινοποίηση και η παρασκευή μαρμελάδας συντελούν στην καταστροφή ενός ποσοστού των φαινολικών ενώσεων (Manach et al., 2004).

2.5.4 Πηγές φαινολικών συστατικών

Τα φαινολικά συστατικά βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις σε πολλά φυτικά τρόφιμα καθώς και σε ποτά που προέρχονται από κάποια φυτά. Όσπρια, όπως ο αρακάς και τα φασόλια, δημητριακά, όπως το σιτάρι και το κριθάρι, φρούτα, όπως τα μήλα, τα σταφύλια και τα ροδάκινα και λαχανικά, όπως το κρεμμύδι, η τομάτα, το λάχανο και ο μαϊντανός περιέχουν σημαντικές ποσότητες φαινολικών ενώσεων (Scalbert et al., 2006; Urquiaga & Leighton, 2000; Morton et al., 2000; Duthie et al., 2000). Επίσης, πολλά αρωματικά φυτά που χρησιμοποιούνται ως αφεψήματα, όπως το φασκόμηλο, ο δίκταμος και το χαμόμηλο καθώς και διάφορα μπαχαρικά, όπως η ρίγανη έχει βρεθεί ότι είναι πλούσια σε φαινολικά συστατικά (Matsingou et al., 2003).

Ποτά όπως οι χυμοί φρούτων, ο καφές, το τσάι και το κρασί είναι σπουδαίες πηγές φαινολικών. Το πράσινο και το μαύρο τσάι είναι καλή πηγή κατεχινών, ενώ το κόκκινο κρασί περιέχει ρεσβερατρόλη, ανθοκυανίνες, γαλλικό οξύ (Makris et al., 2005; Saura-Calixto et al., 2006; Morton et al., 2000).

Από τα φαινολικά οξέα, το καφεϊκό οξύ βρίσκεται στα περισσότερα φρούτα, ενώ το φερουλικό είναι άφθονο στη στοιβάδα της αλευρόνης και στο περικάρπιο των δημητριακών. Οι φλαβονόλες βρίσκονται σε πληθώρα φρούτων και λαχανικών, όπως τα κρεμμύδια, που περιέχουν μεγάλες ποσότητες κερσετίνης. Φλαβόνες, όπως η λουτεολίνη και η απιγενίνη έχουν βρεθεί στο μαϊντανό και στα δημητριακά, ενώ οι φλαβανόνες στην τομάτα, τα αρωματικά φυτά και τα εσπεριδοειδή. Η ναρινγκίνη και η εσπεριδίνη απαντώνται στα γκρέϊπ φρουτ και στα πορτοκάλια αντίστοιχα. Από τις φλαβονόλες οι κατεχίνες, όπως η επικατεχίνη και η επιγαλοκατεχίνη, είναι άφθονες στα βερίκοκα, τη σοκολάτα, το κρασί και το πράσινο τσάι. Η σόγια και τα προϊόντα της είναι η κύρια πηγή ισοφλαβόνων, ενώ το κόκκινο κρασί και κάποια φρούτα είναι οι βασικές πηγές ανθοκυανινών (Manach et al., 2004; Scalbert et al., 2006).

Πίνακας 6: Πηγές φαινολικών ενώσεων (Scalbert et al., 2006)

Dietary sources of the main classes of plant phenols	
Class of phenol	Main dietary source
Phenolic acids	Wheat bran, potato
Flavonols	Onions (red/yellow), tea
Flavones	Sweet red peppers, celery
Flavan-3-ols and proanthocyanidins	Apples, pears, plums, grapes, red wine, tea
Flavanones	Citrus
Chalcones	Tomatoes
Dihydrochalcones	Apples and particularly apple juices and ciders
Anthocyanidins	Cherries, plums, strawberries, blackberries, grapes, currants

2.5.5 Χρήση των φαινολικών συστατικών στη βιομηχανία τροφίμων

Τα φαινολικά συστατικά που απομονώνονται από διάφορα φυτά χρησιμοποιούνται από τη βιομηχανία τροφίμων, αφενός μεν για να βελτιώσουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες των τροφίμων, αφετέρου δε ως συντηρητικά, λόγω των αντιοξειδωτικών και αντιμικροβιακών τους ιδιοτήτων.

Η αντιοξειδωτική δράση των φλαβονοειδών έχει δοκιμαστεί σε διάφορα τρόφιμα. Οι 3,4-διϋδροξυχαλκόνες μπουτεΐνη και οκανίνη βρέθηκε ότι είναι κατάλληλα αντιοξειδωτικά για το χοίρειο λίπος. Η διϋδροκερσετίνη φαίνεται αποτελεσματική στη συντήρηση του χοίρειου λίπους, του βαμβακελαίου και του βουτύρου. Η κερσετίνη έδειξε καλά αντιοξειδωτικά αποτελέσματα όταν χρησιμοποιήθηκε σε τηγανιτές πατάτες και σε σκόνη γάλακτος. Ισοφλαβόνες προερχόμενες από σόγια είναι αποτελεσματικές ως συντηρητικά ψαριών, σε συνδυασμό με την τοκοφερόλη, δεδομένου ότι η συνεργιστική δράση αυξάνει τα αντιοξειδωτικά αποτελέσματα. Η γενιστεΐνη παρουσιάζει συνέργια με την φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη. Εστέρες του καφεϊκού οξέος συντελούν στη συντήρηση του αραβοσιτελαίου. Τέλος, οι προανθοκυανιδίνες είναι αποτελεσματικές στο χοίρειο λίπος (Madhavi et al., 2002).

2.6 Φαινολικά συστατικά του οίνου

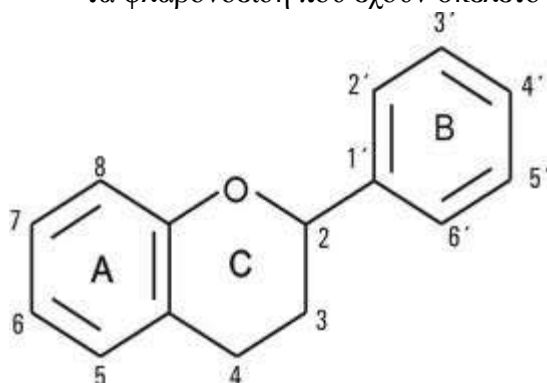
2.6.1 Εισαγωγή

Στην παρούσα παράγραφο θα αναφερθούμε αναλυτικά στην ομάδα των φαινολικών συστατικών που υπάρχουν στους οίνους, τα οποία κατά κύριο λόγο μελετάμε στη συγκεκριμένη πτυχιακή μελέτη. Συγκεκριμένα, θα μιλήσουμε για το τι ενώσεις είναι τα φαινολικά συστατικά, θα ακολουθήσει η κατάταξη τους σε συγκεκριμένες ομάδες, καθώς επίσης θα γίνει και μια αναφορά στην επίδραση των φαινολικών συστατικών, στη διαμόρφωση οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των οίνων. Τέλος, απαραίτητο κρίνεται να αναφέρουμε ορισμένες ιδιότητες των φαινολικών ουσιών που επηρεάζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των οίνων.

Τα φαινολικά συστατικά αποτελούν σημαντικό κεφάλαιο της οινολογίας. Είναι υπεύθυνα για όλες τις διαφορές μεταξύ των ερυθρών και λευκών οίνων, ειδικά για το χρώμα και το άρωμα των ερυθρών. Έχουν πολύ σημαντικές θεραπευτικές ιδιότητες και χαρακτηρίζονται ως η αιτία του «γαλλικού παράδοξου». Οι αντιοξειδωτικές, βακτηριοκτόνες και οι βιταμινούχες ιδιότητές τους, αποδεδειγμένα προστατεύουν τους καταναλωτές από καρδιαγγειακές παθήσεις.

Από χημική άποψη, τα φαινολικά συστατικά έχουν ένα βενζολικό πυρήνα ο οποίος φέρει μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες και ταξινομούνται σε δύο μεγάλες ομάδες:

- τα μη φλαβονοειδή και
- τα φλαβονοειδή που έχουν σκελετό C₆-C₃-C₆.



Ο όρος πολυφαινόλες περιλαμβάνει επίσης και τα παράγωγα των φαινολικών συστατικών (εστέρες, μεθυλεστέρες, γλυκοζίτες κ.λπ) που προκύπτουν με υποκατάσταση της βασικής τους δομής. Η δραστηριότητα αυτών των ενώσεων οφείλεται στην παρουσία της φαινολομάδας, η οποία λόγω ευκινησίας του ατόμου υδρογόνου εμφανίζει όξινο χαρακτήρα, και στον

βενζολικό πυρήνα που μπορεί να υποστεί ηλεκτρονιόφιλες υποκαταστάσεις. Η εφαρμοζόμενη τεχνική οινοποίησης καθορίζει την εκχύλιση των πολυφαινολών από τα διάφορα μέρη της σταφυλής και τις μετέπειτα αντιδράσεις των εν λόγω μορίων, συνεισφέροντας έτσι με ουσιαστικό τρόπο στην πολυφαινολική σύσταση των οίνων. Η σωστή γνώση λοιπόν της διαφορετικής δομής των πολυφαινολών που απαντούν στη σταφυλή και των μηχανισμών εξέλιξής τους κατά την οινοποίηση και παλαίωση, είναι απαραίτητα στοιχεία για να εκτιμηθεί ο ρόλος τους στην οινολογία και στην εξέλιξη των τεχνικών οινοποίησης

(P. Ribereau, volume 2, 2003, Bruce W.Zoecklein,1995).

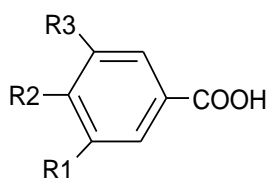
2.6.2 Κατάταξη των φαινολικών συστατικών της σταφυλής

Μη Φλαβονοειδείς Φαινόλες

Η κατηγορία αυτή περιλαμβάνει τα φαινολικά οξέα που διακρίνονται σε:

- βενζοϊκά οξέα (C_6-C_1),
- κινναμωμικά οξέα (C_6-C_3) με ακόρεστη πλευρική αλυσίδα καθώς επίσης και
- στιλβένια.

Από τα βενζοϊκά οξέα (Σχήμα 2), η σταφυλή περιέχει κυρίως το γαλλικό οξύ το οποίο βρίσκεται συνήθως υπό τη μορφή εστέρων των φλαβονολών-3 (κατεχίνες).

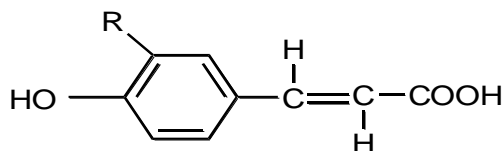


R1	R2	R3	
OH	OH	OH	Γαλλικό οξύ
OH	OH	H	Πρωτοκατεχινικό οξύ
OCH ₃	OH	H	Βανιλλικό οξύ
OCH ₃	OH	OCH ₃	Συριγγικό οξύ

Σχήμα 2: Χημικός τύπος βενζοϊκών οξέων

Στη σταφυλή, τα επικρατέστερα φαινολικά οξέα είναι κυρίως τα υδροξυκινναμωμικά οξέα (Σχήμα 3), τα οποία βρίσκονται στα χυμοτόπια των κυττάρων του φλοιού και της σάρκας υπό μορφή εστέρων με το τρυγικό οξύ. Πρόκειται για τα οξέα:

- καφεοτρυγικό,
- π-κουμαροτρυγικό και
- φερουλοτρυγικό



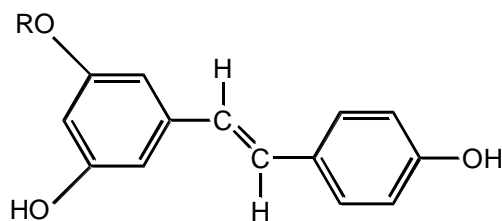
R = OCH₃: φερουλικό

R = OH: καφεϊκό

R = H: π-κουμαρικό

Σχήμα 3: Υδροξυκινναμωμικά οξέα

Όσον αφορά τα στιλβένια που απαντούν στη σταφυλή το σημαντικότερο είναι η ρεσβερατρόλη (3,5,4'-τρι-υδροξυ-στιλβένιο) που βρίσκεται υπό τη μορφή *trans* καθώς και το παράγωγό της με τη γλυκόζη, (Σχήμα 4).



Σχήμα 4: 3,5,4'-τρι-υδροξυ-στιλβένιο (ρεσβερατρόλη)

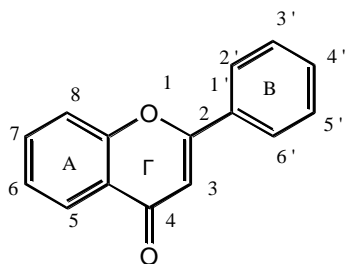
Στο *Vitis vinifera* και *Vitis labrusca*, η ρεσβερατρόλη βρίσκεται στους φλοιούς ενώ δεν απαντά στα γίγαρτα. Η περιεκτικότητα της *trans*-ρεσβερατρόλης στους φλοιούς της ώριμης σταφυλής είναι της τάξης των 20 μg/g νωπού βάρους σταφυλής. Η περιεκτικότητα των φλοιών σε ρεσβερατρόλη διαφέρει από ποικιλία σε ποικιλία και φαίνεται ότι παίζει κάποιο ρόλο στην αντίσταση των σταφυλιών στη προσβολή τους από κρυπτογαμικές ασθένειες, όπως π.χ. ο *Botrytis cinerea*.

Η ρεσβερατρόλη εκχυλίζεται από τους φλοιούς κατά την ερυθρά οиноποίηση. Η περιεκτικότητα της στους οίνους είναι της τάξης των 1-3 mg/l. Στην εν λόγω ουσία αποδίδονται θεραπευτικές ιδιότητες

(P. Ribereau, volume 2, 2003. Andreau L. Waterhouse 2002).

Φλαβονοειδείς Φαινόλες

Τα φλαβονοειδή χαρακτηρίζονται από ένα βασικό σκελετό με 15 άτομα άνθρακα (C₆-C₃-C₆) του τύπου 2-φαινυλ-βενζοπυρόνη, (Σχήμα 5).

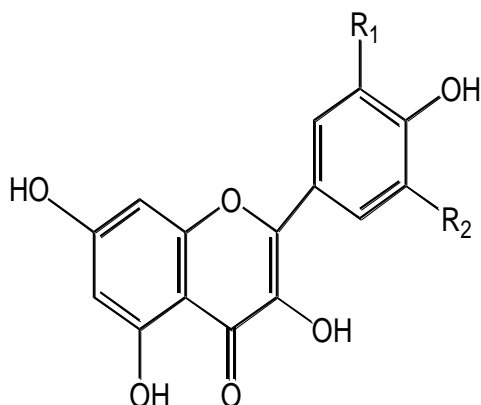


Σχήμα 5: 2-φαινυλ-βενζοπυρόνη

Τα φλαβονοειδή χωρίζονται σε πολλές ομάδες οι οποίες διαφοροποιούνται ανάλογα με το βαθμό οξείδωσης του πυρανικού δακτυλίου.

Τα φλαβονοειδή, με την αυστηρή έννοια του όρου και με βάση τη δομή της 2-φαινυλ-βενζοπυρόνης, αντιπροσωπεύονται μόνο από τις φλαβονόλες της σταφυλής, ενώ με την ευρεία έννοια του όρου συμπεριλαμβάνονται οι ανθοκυάνες και φλαβανόλες-3.

Οι φλαβονόλες απαντούν μόνο στους φλοιούς υπό μορφή γλυκοζιτών στη θέση 3. Στο σχήμα 6 παρουσιάζεται ο χημικός τύπος της άγλυκης μορφής των τεσσάρων βασικών φλαβονολών της σταφυλής.



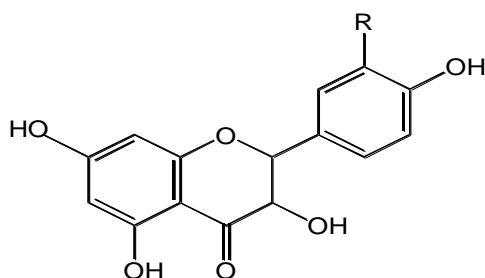
Σχήμα 6: Φλαβονόλες της σταφυλής

Φλαβονόλες	R ₁	R ₂
Καμπφερόλη	-H	-H
Κερκετίνη	-OH	-H
Μυρικετίνη	-OH	-OH
Ισοραμνετόλη	-OCH ₃	-H

Στη σταφυλή βρέθηκαν οκτώ μονογλυκοζίτες και τρεις διγλυκοζίτες των φλαβονολών. Οι μορφές των γλυκοζιτών (με γλυκόζη) απαντούν σε πολύ μεγαλύτερες ποσότητες, αλλά βρίσκονται και σημαντικές ποσότητες των εστέρων τους με το γλυκουρονικό οξύ. Τα άλλα σάκχαρα που απαντούν είναι η γαλακτόζη, η ξυλόζη και η αραβινόζη. Τόσο οι λευκές όσο και οι ερυθρές ποικιλίες αμπέλου περιέχουν τις ίδιες ποσότητες φλαβονολών, διαφέρουν όμως στην ποιοτική τους σύσταση. Η περιεκτικότητα των φλαβονολών ποικίλει από 10 - 100 mg/kg ραγών. Τα παράγωγα της κερκετίνης είναι πάντοτε κυρίαρχα, ενώ αυτά της μυρικετίνης και του γλυκοζίτη-3 της ισοραμνετόλης φαίνεται ότι απαντούν μόνο στις ερυθρές ποικιλίες. Στους ερυθρούς οίνους απαντούν στην ποσότητα των 100 mg/l περίπου, ενώ στους λευκούς 1-3 mg/l (P. Ribereau volume 2,2003).

Φλαβανονόλες και Φλαβόνες

Οι ενώσεις που ανήκουν σ' αυτή την οικογένεια, (Σχήμα 7) είναι γλυκοζίτες και ταυτοποιήθηκαν σε φλοιούς λευκών ποικιλιών. Πρόκειται για την διυδροκερκετίνη και τη διυδροκαιμπερόλη και έχουν πολύ ανοιχτό κίτρινο χρώμα.



Φλαβανονόλες	R
Διυδροκαιμπερόλη	-H
Διυδροκερκετίνη	-OH

Σχήμα 7: Φλαβανονόλες της σταφυλής.

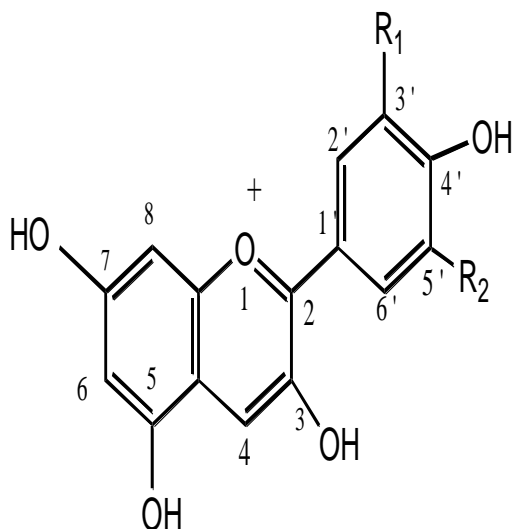
Η περιεκτικότητα της διυδροκερκετίνης είναι της τάξης των 9 mg/Kg νωπού βάρους και της διυδροκαιμπερόλης της τάξης του 0,6 mg/Kg.

Οι φλαβανονόλες απαντούν επίσης και στους βοστρύχους, ενώ στα φύλλα της *Vitis vinifera* απαντούν οι φλαβόνες.

Ανθοκυάνες

Οι ανθοκυάνες είναι οι ερυθρές χρωστικές των σταφυλιών και βρίσκονται στο φλοιό των ραγών και σε σπάνιες περιπτώσεις στο σάρκωμα (π.χ. *Alicante bouschet*). Είναι επίσης παρούσες σε μεγάλες ποσότητες στα φύλλα, κυρίως κατά το τέλος της περιόδου ανάπτυξης.

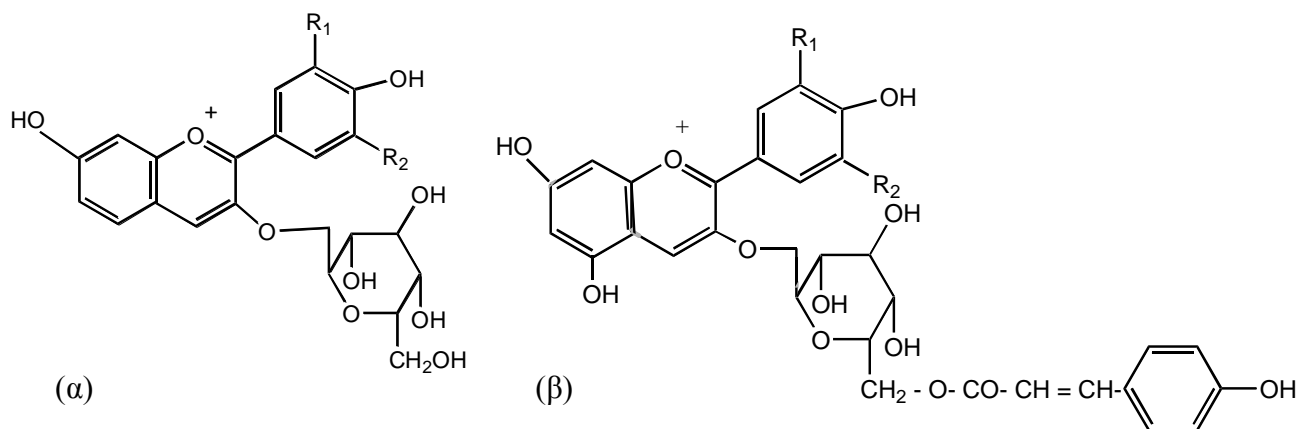
Οι ανθοκυάνες είναι γλυκοζίτες των οποίων το άγλυκο μέρος έχει τη δομή του φλαβυλίου. Στα σταφύλια και στους οίνους απαντούν, ανάλογα με την υποκατάσταση του πλευρικού δακτυλίου, πέντε είδη ανθοκυανών, (Σχήμα 8).



Ανθοκυανιδίνες	R1	R2
Κυανιδίνη	OH	H
Παιονιδίνη	OCH ₃	H
Δελφινιδίνη	OH	OH
Πετουνιδίνη	OCH ₃	OH
Μαλβιδίνη	OCH ₃	OCH ₃

Σχήμα 8: Δομή των ανθοκυανιδινών των σταφυλιών και των οίνων

Αυτά τα μόρια είναι πολύ πιο σταθερά υπό μορφή γλυκοζιτών (ανθοκυάνες) από ότι υπό μορφή άγλυκου (ανθοκυανιδίνες). Στις σταφυλές του *Vitis vinifera*, και συνεπώς στους αντίστοιχους οίνους, βρίσκονται μόνο μονογλυκοζίτες των ανθοκυανιδινών καθώς και οι ακυλιωμένες τους μορφές, με τα οξέα π-κουμαρικό, καφεϊκό και οξικό, (Σχήμα 9)



Σχήμα 9: α) Μονογλυκοζίτης ανθοκυανιδινών, β) Ακυλιωμένος (με π-κουμαρικό οξύ) μονογλυκοζίτης ανθοκυανιδινών

Το χρώμα των ανθοκυανιδινών εξαρτάται από το pH, τον θειώδη ανυδρίτη, τη μοριακή τους δομή, την υποκατάσταση του πλευρικού δακτυλίου, την ένωση με τη γλυκόζη και την ακυλίωσή της. Πράγματι, αφ' ενός η υποκατάσταση του πλευρικού δακτυλίου μετατοπίζει το μέγιστο της απορρόφησης σε μεγαλύτερα μήκη κύματος (φαινόμενο βαθυχρωμίας) αφ' ετέρου η ένωση με τη γλυκόζη και η ακυλίωση της μετατοπίζουν το μέγιστο της απορρόφησης σε μικρότερα μήκη κύματος (φαινόμενο υψυχρωμίας). Ωστόσο, οι ανθοκυάνες βρίσκονται στα κύτταρα των φλοιών, εν διαλύσει στο υγρό των χυμοτοπίων, μαζί με άλλα μη έγχρωμα φαινολικά συστατικά (φαινολικά οξέα, φλαβονόλες κ.λπ.) με τα οποία μπορούν να ενωθούν (copigmentation) και να μεταβληθεί το χρώμα τους προς το κυανό. Ο σχηματισμός των παραπάνω ενώσεων είναι ένας βασικός παράγοντας διαφοροποίησης του

χρώματος των ερυθρών σταφυλιών, αν και όλες οι ποικιλίες περιέχουν βασικά τις ίδιες ανθοκυάνες με μικρές διαφορές στα ποσοστά τους. Πράγματι, μεταξύ των πέντε ανθοκυανών που απαντούν σε όλες τις ποικιλίες, κυριαρχεί ο μονογλυκοζίτης της μαλβιδίνης, σε ποσοστό από 50% (Sangiovese) μέχρι και 90% (Grenache). Μπορούμε, λοιπόν, να θεωρήσουμε ότι ο μονογλυκοζίτης της μαλβιδίνης αποτελεί τη βάση του χρώματος των ερυθρών σταφυλιών και οίνων. Αντίθετα η ακυλιωμένη μορφή του διαφέρει από ποικιλία σε ποικιλία.

Στην περίπτωση των οίνων, η παρουσία της αλκοόλης αντιτίθεται στην ένωση ‘ανθοκυανών – μη έγχρωμων φαινολών’, γι’ αυτό και το χρώμα που οφείλεται σ’ αυτές τις ενώσεις χάνεται μετά από μερικούς μήνες και παραμένουν μόνο οι μονογλυκοζίτες των πέντε ανθοκυανών. Με την παλαίωση των ερυθρών οίνων η συγκέντρωση των εν λόγω ελευθέρων ανθοκυανών μειώνεται σημαντικά, λόγω συνένωσης μεταξύ τους και συμπύκνωσης με τις ταννίνες και συνεπώς σχηματισμού άλλων ενώσεων πολύπλοκης δομής πιο σταθερού χρώματος, οι οποίες όμως δεν προσδιορίζονται με τις χημικές μεθόδους που προσδιορίζονται οι ελεύθερες ανθοκυάνες.

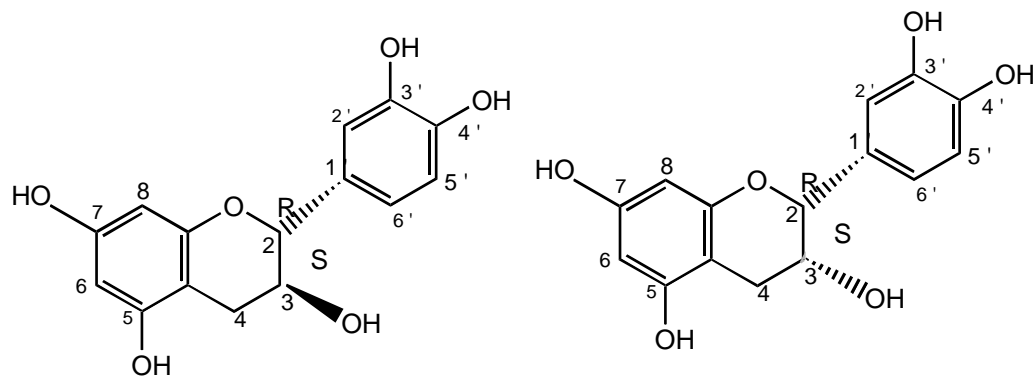
Μια άλλη ποσότητα ανθοκυανών χάνεται επίσης ή λόγω αποικοδόμησης (εξαιτίας της θερμοκρασίας, του φωτός, του οξυγόνου κ.λπ) ή λόγω καταβύθισης (κολλοειδής κατάσταση των χρωστικών). Η απομάκρυνση αυτών των χρωστικών έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του χρώματος των οίνων (P. Ribereau, volume 2, 2003. Andreau L. Waterhouse 2002).

Ταννίνες

Οι ταννίνες απαντούν στους φλοιούς, στα γίγαρτα και στους βοστρύχους της σταφυλής και από χημική άποψη είναι μεγαλομόρια με φαινολικό δακτύλιο, που προκύπτουν από τον πολυμερισμό στοιχειωδών μορίων με φαινολική ομάδα. Εξ ορισμού είναι ουσίες ικανές να δώσουν σταθερές ενώσεις με πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες. Στην ιδιότητά τους αυτή οφείλεται και η στυφή γεύση των οίνων, δηλαδή έχουμε σχηματισμό ενώσεων μεταξύ των ταννινών του οίνου και των πρωτεϊνών του σιέλου. Για να δώσουν σταθερές ενώσεις με τις πρωτεΐνες θα πρέπει να είναι αρκούντως ογκώδεις όχι όμως υπερβολικά, γιατί σ’ αυτή την περίπτωση ενδέχεται να μην μπορούν να πλησιάσουν τις δραστικές θέσεις των πρωτεϊνών για να αντιδράσουν. Τα M.B των δραστικών ταννινών κυμαίνονται από 600 έως 3.500.

Ανάλογα με τη φύση της βασικής μονάδας οι ταννίνες διακρίνονται σε συμπυκνωμένες ταννίνες (ή ταννίνες της κατεχίνης με δομική μονάδα τη φλαβανόλη-3) και σε υδρολυόμενες ταννίνες ή ταννίνες του γαλλικού οξέος, με δομική μονάδα το γαλλικό ή ελαγικό οξύ (περιέχονται κυρίως στα συστατικά του ξύλου του δρύινου βαρελιού)

Οι συμπυκνωμένες ταννίνες των σταφυλιών και των οίνων είναι πολυμερή, περισσότερο ή λιγότερο πολύπλοκα, των φλαβανολών-3 ή κατεχινών, και συγκεκριμένα της (+) –κατεχίνης και της (-) –επικατεχίνης (Σχήμα 10).



Σειρά κατεχίνης
 (+) – κατεχίνη = 2R, 3S
 (-) – κατεχίνη = 2S, 3R

Σειρά επικατεχίνης
 (+) – επικατεχίνη = 2S, 3S
 (-) – επικατεχίνη = 2R, 3R

Σχήμα 10: Δομή των φλαβανολών-3, προδρόμων των προκυανιδινών και των ταννινών

Η θέρμανση των ταννινών σε όξινο περιβάλλον οδηγεί στο σχηματισμό κυρίως ερυθρής κυανιδίνης, εξού και το όνομα “προκυανιδίνες” που έχει δοθεί στις ταννίνες, αντικαθιστώντας τον παλαιότερα χρησιμοποιούμενο όρο ‘λευκοανθοκυανιδίνες’.

Λόγω της μεγάλης διαφοροποίησης στη δομή των ενώσεων αυτών, η χημική ανάλυση των εν λόγω μορίων είναι εξαιρετικά πολύπλοκη. Παρ’ όλη την εξέλιξη στην HPLC, στην φασματοφωτομετρία μάζας και στο N.M.R, δεν έχει διαλευκανθεί πλήρως η δομή όλων των ταννινών. Μόνο η δομή των διμερών και ενός μέρους των τριμερών προκυανιδινών είναι γνωστή και οι εν λόγω ενώσεις έχουν απομονωθεί, αναλυθεί και έχει γίνει και η σύνθεσή τους.

Αυτή η διαφοροποίηση στη δομή εξηγεί την παρουσία, στα σταφύλια των διαφόρων ποικιλιών και στους αντίστοιχους οίνους, ταννινών με διαφορετικές ιδιότητες, ιδίως γευστικές. Συνεπώς, δεν πρέπει να λαμβάνεται υπόψη μόνο η περιεκτικότητα σε ταννίνες αλλά να εκτιμάται και η ποιότητά τους που σχετίζεται με τη δομή τους. Στα σταφύλια και στους οίνους, είναι δυνατόν να απομονώσουμε και να διαχωρίσουμε τα παρακάτω συστατικά: την (+) -κατεχίνη, την (-) –επικατεχίνη, τις διμερείς, τις τριμερείς, τις ολιγομερείς προκυανιδίνες και τις συμπυκνωμένες προκυανιδίνες.

Οι συμπυκνωμένες προκυανιδίνες αποτελούνται από περισσότερα των δέκα μορίων φλαβανολών με M.B>3.000. Οι συμπυκνωμένες ταννίνες, και ιδιαίτερα οι προκυανιδίνες και οι κατεχίνες, απαντούν σε όλα τα στέρεα μέρη της σταφυλής (φλοιό, γίγαρτα, βοστρύχους) και εκχυλίζονται στον οίνο κατά τη χρονική διάρκεια που το γλεύκος βρίσκεται σε επαφή με τα στέμφυλα. Η περιεκτικότητα ενός ερυθρού οίνου σε ταννίνες εξαρτάται από την ποικιλία και ιδιαίτερα από τις συνθήκες οινοποίησης και κυμαίνεται μεταξύ των 1-4 g/l. Στην περίπτωση των λευκών οίνων επηρεάζεται από την ένταση της απολάσπωσης και είναι της τάξης των 100 mg/l όταν γίνει σωστή απολάσπωση και 200-300 mg/l σε οίνους από μη απολασπώμενα γλεύκη. Οι φλαβανόλες δεν υπάρχουν υπό μορφή γλυκοζιτών, όπως συμβαίνει με τις ανθοκυάνες και τις φλαβονόλες. Μπορούν όμως να ενωθούν στο σταφύλι με πολυσακχαρίτες και έτσι ανευρίσκονται στον οίνο υπ’ αυτή τη μορφή (P. Ribereau, volume 2, 2003. Andreau L. Waterhouse 2002).

2.6.3 Οργανοληπτικές ιδιότητες των φαινολικών συστατικών στους οίνους

Τα φαινολικά συστατικά παίζουν ένα πολύ σημαντικό ρόλο στο άρωμα και τη γεύση των ερυθρών οίνων. Είναι υπεύθυνα για μερικά θετικά γευστικά χαρακτηριστικά, αλλά και για μερικές, μάλλον δυσάρεστες και ανεπιθύμητες εντυπώσεις που δημιουργούνται κατά την γευσίγνωσία ενός οίνου. Το σώμα, ο χαρακτήρας, η δομή, η πληρότητα, η λιπαρότητα και η στρογγυλότητα είναι οργανοληπτικά ποιοτικά χαρακτηριστικά των ‘μεγάλων’ ερυθρών οίνων. Αντίθετα, η πικράδα, η τραχύτητα, η στυπτικότητα και η χορτώδη οσμή είναι σφάλματα που πρέπει να αποφεύγονται, καθώς είναι ασυμβίβαστα με την έννοια της ποιότητας.

Η συνολική οργανοληπτική εντύπωση που λαμβάνει ο δοκιμαστής, βασίζεται σε μία αρμονική ισορροπία μεταξύ των ανθοκυανών και ιδιαίτερα των ταννινών, άρρηκτα συνδεδεμένη με τον τύπο και τη συγκέντρωση των πολυάριθμων μορίων τους.

Μία από τις ιδιότητες τους είναι το ότι αντιδρούν με τις πρωτεΐνες του σάλιου και τις πρωτεΐνες της στοματικής κοιλότητας, τροποποιώντας την κατάστασή τους και τις λιπαντικές τους ιδιότητες. Ανάλογα με τον τύπο και τη συγκέντρωση των ταννινών, μπορεί να παραχθεί μια μαλακή και ισορροπημένη εντύπωση, ή αντίθετα μία ιδιαίτερη ‘επιθετικότητα’, που άλλοτε λαμβάνεται ως μία πικράδα στην απόληξη του ουρανίσκου ή μία στυπτικότητα κατά την επίγευση.

Οι Glories και Augustin (1994), απομόνωσαν κλάσματα προκυανιδών από σταφύλια, όπως και ανθοκυάνες από τους φλοιούς και ταννίνες από τους βόστρυχους. Αναλύοντας τα παραπάνω κλάσματα και προχωρώντας σε γευσίγνωσίες των διαλυμάτων, κατέληξαν στα παρακάτω συμπεράσματα:

- Οι κατεχίνες και προκυανιδίνες (διμερή, τριμερή) που έχουν πολυμεριστεί μερικώς, αντιδρούν πολύ δύσκολα με τις πρωτεΐνες. Το διάλυμα είχε γεύση περισσότερο όξινη παρά στυφή.
- Οι ολιγομερείς και πολυμερισμένες προκυανιδίνες δίνουν την εντύπωση του «σώματος» στη γεύση, με μία αξιοπρόσεκτη πικράδα και στυπτικότητα. Στη γεύση ο συνδυασμός ταννινών και πολυσακχαριτών, δίνει την εντύπωση της ‘στρογγυλότητας’ και της πληρότητας που είναι πολύ επιθυμητό.
- Οι ανθοκυάνες και οι συνδυασμοί τους με τις ταννίνες δεν δίνουν πολύ στυφά διαλύματα, αλλά έχουν μια ιδιαίτερη πικράδα, ιδίως στους νέους οίνους όπου οι μοριακές δομές είναι καθορισμένες ακόμη και όχι τόσο πολύπλοκες.

Οι ταννίνες των φλοιών αντιδρούν λιγότερο με τις πρωτεΐνες απ’ ό,τι οι ταννίνες των γιγάρτων και των βόστρυχων. Μάλιστα οι τελευταίες, και ειδικά οι προκυανιδίνες, πολυμερίζονται σε διαφορετικό βαθμό ανάλογα με την ωρίμανση των ραγών. Δεν περιέχουν καθόλου ελεύθερες ανθοκυάνες ή σύμπλοκα ταννινών με πολυσακχαρίτες ή πρωτεΐνες, όπως συμβαίνει με τις ταννίνες των φλοιών

Η ταννική ισορροπία ενός νέου ερυθρού οίνου βασίζεται στη καλή εναρμόνιση των ταννινών που προέρχονται από τα μέρη της σταφυλής. Οι ταννίνες των γιγάρτων δίνουν στον οίνο το σώμα και τη δομή, ενώ οι ταννίνες των φλοιών παρέχουν λιπαρότητα, πληρότητα και χρώμα. Ωστόσο, υπάρχει ο κίνδυνος υψηλής στυπτικότητας εάν επικρατούν οι ταννίνες των γιγάρτων, ενόσω η πικράδα και η χορτώδη οσμή είναι χαρακτηριστικά της υπερβολικής εκχύλισης των φλοιών στο γλέυκος, ιδιαίτερα όταν τα σταφύλια είναι ανεπαρκώς ώριμα (P. Ribereau, volume 2, 2003. Andreau L. Waterhouse 2002. Τσέτουρα 2003).

2.7 Βιολογικός ρόλος φαινολικών συστατικών

2.7.1 Αντιοξειδωτική δράση φαινολικών συστατικών

2.7.2 Ελεύθερες ρίζες και οξειδωτικό stress

2.7.3 Ελεύθερες ρίζες και δραστικές μορφές οξυγόνου

Με τον όρο ελεύθερες ρίζες εννοούμε κάθε χημικό είδος που περιέχει ένα ή περισσότερα μονήρη ηλεκτρόνια. Η παραγωγή τους αποτελεί τμήμα του μεταβολισμού του κυττάρου, εντός του οποίου υπό φυσιολογικές και ελεγχόμενες συνθήκες παρουσιάζουν σημαντική αντιμικροβιοκτόνο δράση και χρησιμοποιούνται από τα φαγοκύτταρα στην άμυνα του οργανισμού (Joseph et al., 2005; Jacob, 1999; Sanchez-Moreno, 2002). Οι αντιδράσεις οξείδωσης είναι ένα σημαντικό τμήμα του φυσιολογικού μεταβολισμού καθώς το οξυγόνο είναι ο αποδέκτης ηλεκτρονίων σε ένα σύστημα συνεχούς παραγωγής ηλεκτρονίων από το οποίο παράγεται ATP (Masella et al., 2005). Στην περίπτωση που για ενδογενείς ή περιβαλλοντικούς λόγους η παραγωγή τους πάψει να υπόκεινται στον έλεγχο του οργανισμού οι ελεύθερες ρίζες δύναται να προκαλέσουν τοξική δράση σε κυτταρικό επίπεδο και να αποτελέσουν πρώιμο προωθητικό στάδιο εμφάνισης συγκεκριμένων ασθενειών. Έχει παρατηρηθεί ότι οι ελεύθερες ρίζες και ιδίως οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου παράγονται καθημερινά σε κυτταρικό επίπεδο και όταν υπερπαράγονται εμφανίζουν αξιοσημείωτη δραστικότητα, αφού η τάση τους για ηλεκτρονιακή σύζευξη οδηγεί στην προσβολή άλλων μορίων του κυττάρου (Peng Wong et al., 2005).

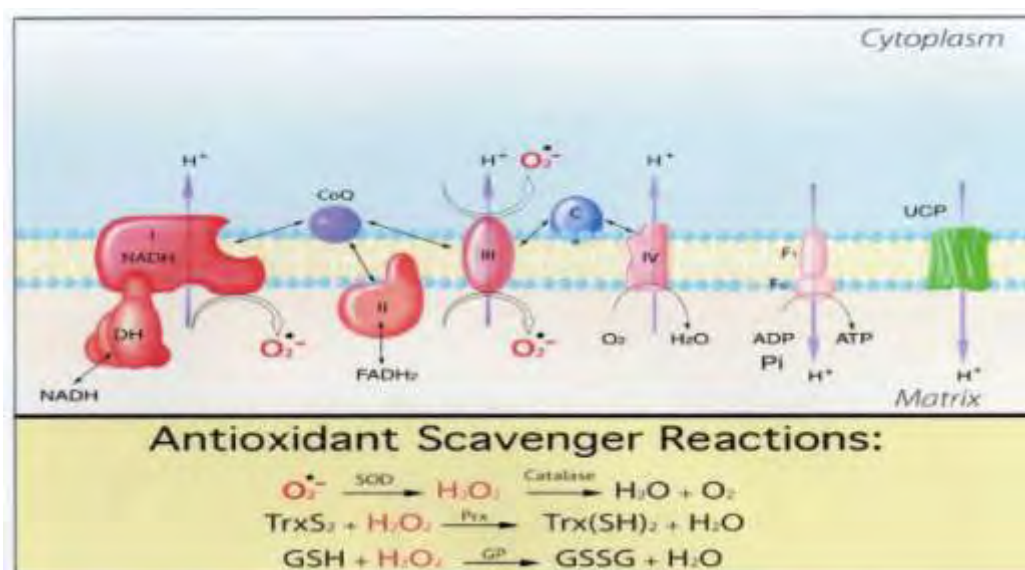
Πίνακας 7: Οι σημαντικότερες ROS (Jacob, 1995)

Reactive Oxygen Species		
Species	Common name	Half-life (37°C)
HO•	hydroxyl radical	1 nanosecond
HO ₂ •	hydroperoxyl radical	unstable
O ₂ • ⁻	superoxide anion radical	enzymatic
¹ O ₂	singlet oxygen	1 microsecond
RO•	alkoxyl radical	1 microsecond
ROO•	peroxyl radical	7 seconds
NO•	nitric oxide radical	1-10 seconds
H ₂ O ₂	hydrogen peroxide	stable
HOCl	hypochlorous acid	stable

R=lipid, for example, linoleate

Οι σημαντικότερες ελεύθερες ρίζες οξυγόνου είναι η υδροξυλική HO^\cdot , η υπεροξειδική $\text{O}_2^{\cdot+}$ και η ROO^\cdot , με την πρώτη να θεωρείται η περισσότερο δραστική. Από τις ελεύθερες ρίζες αζώτου η NO^\cdot και η (ONOO^\cdot) εμφανίζονται ως οι πιο δραστικές. Επίσης, υπάρχουν και κάποιες ενώσεις που δεν αποτελούν ελεύθερες ρίζες αλλά συμβάλουν στην παραγωγή ελεύθερων ριζών, όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), το όζον (O_3) και το υποχλωριώδες οξύ HClO_2 . Όλες οι δραστικές ενώσεις που περιέχουν οξυγόνο, είτε είναι ρίζες είτε όχι, κατατάσσονται σε μια κατηγορία ενώσεων που είναι γνωστή με τον όρο δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS). Οι ROS είναι προϊόντα του αερόβιου κυτταρικού μεταβολισμού και υπολογίζεται ότι περίπου 2-5% του οξυγόνου που καταναλώνεται καθημερινά από τα κύτταρα μετατρέπεται σε ROS. Αντίστοιχα με τις ROS, όλες οι δραστικές ενώσεις που περιέχουν άζωτο κατατάσσονται στην κατηγορία των δραστικών μορφών αζώτου (Reactive Nitrogen Species, RNS) (Joseph et al., 2005; Osawa, 1999).

Οι ελεύθερες ρίζες και οι δραστικές μορφές οξυγόνου παράγονται εντός του κυττάρου είτε ως αποτέλεσμα επίδρασης εξωτερικών περιβαλλοντικών παραγόντων είτε ως αποτέλεσμα του φυσιολογικού κυτταρικού μεταβολισμού. Επίσης, ορισμένα μέταλλα δρουν ως καταλύτες που προωθούν την παραγωγή ελευθέρων ριζών. Οι σημαντικότεροι παράγοντες που δύναται να οδηγήσουν εις την παραγωγή ελευθέρων ριζών είναι η έκθεση του κυττάρου σε υπεριώδη ακτινοβολία, σε χημικές ουσίες (Saffari and Sadrzadeh, 2003; Morton et al., 1999). Ενδοκυτταρικός, ως αποτέλεσμα του μεταβολισμού οι ελεύθερες ρίζες παράγονται από διάφορα ένζυμα ή άλλα βιομόρια στα μιτοχόνδρια ή σε άλλα σημεία του κυττάρου. Διάφορα βιομόρια όπως η αδρεναλίνη παράγουν υπεροξείδια και υδροϋπεροξείδια μέσω οξειδωτικών διαδικασιών. Τα φαγοκύτταρα παράγουν ελεύθερες ρίζες ως αμυντική απόκριση σε εξωτερικούς παράγοντες, ενώ η παραγωγή ελευθέρων ριζών συνεχίζεται από τους εκ των φαγοκυττάρων παραγόμενους φλεγμονώδεις παράγοντες. Επίσης, ένζυμα όπως οι λιποξυγενάσες, οι κυκλοξυγενάσες και οι μονοοξυγενάσες, το κυτόχρωμα P450 και οι φλεγμονώδεις κυτταροκίνες είναι πολύ πιθανό να οδηγούν στην παραγωγή ελευθέρων ριζών (Saffari and Sadrzadeh, 2003; Masella et al., 2005).



Σχήμα 11: Παραγωγή ελευθέρων ριζών στα μιτοχόνδρια (Saffari and Sadrzadeh, 2003)

Η οξειδάση της ξανθίνης είναι μία από τις κύριες ενζυματικές πηγές παραγωγής ROS in vivo. Αν και υπό φυσιολογικές συνθήκες αποτελεί μία δευδρογενάση των ιστών που μεταφέρει ηλεκτρόνια στο νικοτιναμιδοαδενινονουκλεοτίδιο (NAD), οξειδώνοντας την ξανθίνη σε ουρικό οξύ, υπό συνθήκες stress, λόγω περιορισμένης πρωτεόλυσης ή οξείδωσης της θειόλης, μετατρέπεται σε ένα άλλο ένζυμο το οποίο προωθεί την παραγωγή ριζών O^{2-} και η ROO^{2-} (Sanchez-Moreno, 2002), ενώ προωθείται και από τη διάσπαση της οξυαιμοσφαιρίνης εντός του οργανισμού. Επίσης η υπεροξειδική ρίζα δύναται να παραχθεί από τα μακροφάγα και τα νευρικά κύτταρα, που περιέχουν ένζυμα όπως η NADPH οξειδάση (Masella et al., 2005).

Η ενεργοποίηση του H_2O_2 εντός του κυττάρου λαμβάνει χώρα μέσω των ενεργοποιημένων φαγοκυττάρων και της οξειδωτικής δράσης ενζύμων, όπως η υπεροξειδική δισμουτάση (Superoxide Dismutase, SOD), η οποία καταλύει τη μετατροπή της υπεροξειδικής ρίζας σε υδροϋπεροξειδίο. Παρά το γεγονός ότι το H_2O_2 δεν παρουσιάζει μεγάλη δραστηριότητα, εμφανίζει τεράστια σημασία διότι από αυτό με επίδραση ακτινοβολίας ή με καταλυτική δράση διαφόρων ιόντων, προκύπτουν οι υδροξυλικές ρίζες, που εμφανίζουν πολύ μεγάλη δραστηριότητα στα βιομόρια του κυττάρου (Sanchez-Moreno, 2002).

Η ρίζα ($ONOO^{\cdot}$) είναι μια από τις πιο ενεργές δραστικές μορφές αζώτου και παράγεται από την αντίδραση ανάμεσα στην υπεροξειδική ρίζα και στη NO^{\cdot} . Εμφανίζει κυτταροτοξικότητα και προκύπτει κυρίως από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα νευρικά κύτταρα και τα μακροφάγα (Sanchez-Moreno, 2002; Osawa, 1999).

Ένας εκτενώς μελετημένος τρόπος παραγωγής ελευθέρων ριζών σε κυτταρικό επίπεδο είναι μέσω της καταλυτικής δράσης μετάλλων, όπως ο σίδηρος και ο χαλκός. Αυτά τα μέταλλα αποτελούν καταλύτες οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων εντός του οργανισμού γεγονός που εξηγεί τη χρησιμοποίησή τους σε ποικίλα ενζυμικά συστήματα. Όταν αυτά τα μέταλλα βρεθούν στην κατάλληλη ιοντική μορφή, ενώ παράλληλα ο κυτταρικός μηχανισμός δε δύναται να ελέγξει την παραγωγή των συγκεκριμένων ιόντων, τότε ελλοχεύει σημαντικός κίνδυνος παραγωγής μέσω οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων ελευθέρων ριζών in vivo (Joseph et al., 2005).

Για παράδειγμα, ο σίδηρος εντός του οργανισμού βρίσκεται υπό τη μορφή συμπλόκων, όπως η αιμοσφαιρίνη, η τρανσφερίνη και η φερριτίνη. Παρά ταύτα, ο σίδηρος δεν είναι πάντοτε αδρανής και σε κάποιες περιπτώσεις ιόντα του δύναται να διαφύγουν και να παραχθούν ελεύθερες ρίζες. Η παραγωγή ROS μέσω διαδικασίας ενεργής εμπλοκής ενός μεταλλικού ιόντος, κυρίως σιδήρου, είναι γνωστή ως «Χημεία Fenton». Η αντίδραση Fenton περιγράφεται με την παρακάτω ξίσωση:



Κατά την αντίδραση Fenton ο Fe^{2+} αντιδρά με τα υδροϋπεροξειδία σχηματίζοντας ενεργές υδροξυλικές ρίζες. Το ασκορβικό οξύ δρα προοξειδωτικά, διατηρώντας τον σίδηρο στη μορφή Fe^{2+} (Jacob, 1995). Εκτός από το Fe και ο χαλκός Cu αποτελεί σημαντικό καταλύτη παραγωγής ελευθέρων ριζών. Ο χαλκός αποτελεί τμήμα πολλών σημαντικών ενζύμων που εμπλέκονται στις βιολογικές διεργασίες (πχ σερουλοπλασμίνη) και όταν απελευθερώνεται καθίσταται δυνατό να καταλύσει το σχηματισμό υψηλής ενέργειας ελευθέρων ριζών (Gaetche and Chow, 2003).

2.7.4 Οξειδωτικό stress και συνέπειες σε κυτταρικό επίπεδο

Η ελεγχόμενη παραγωγή ελευθέρων ριζών και δραστικών μορφών οξυγόνου και αζώτου εντός του κυττάρου ελέγχεται από έναν αντιοξειδωτικό κυτταρικό μηχανισμό που περιλαμβάνει τόσο ενδογενή, όσο και εξωγενή αντιοξειδωτικά συστατικά και επιτυγχάνει ισορροπία ανάμεσα στις οξειδωτικές και τις αντιοξειδωτικές ουσίες του κυττάρου (Saffari and Sadrzadeh, 2003). Η κατάσταση κατά την οποία λαμβάνει χώρα μετατόπιση της φυσιολογικής αυτής προοξειδωτικής-αντιοξειδωτικής ισορροπίας προς την οξειδωτική πλευρά και οφείλεται είτε στην υπερπαραγωγή ελευθέρων ριζών που δεν εξουδετερώνονται από το αμυντικό σύστημα του οργανισμού είτε στην κατάπτωση του αμυντικού συστήματος ονομάζεται οξειδωτικό stress. Περίπου 1% των ROS δεν εξουδετερώνεται καθημερινά από το αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα του οργανισμού, οδηγώντας σε οξειδωτικό stress (Saffari and Sadrzadeh, 2003; Joseph et al., 2005; Masella et al., 2005; Koleva et al., 2002; Katalinic et al., 2005). Η υπερπαραγωγή ROS, ως αποτέλεσμα του οξειδωτικού stress, δύναται να προκαλέσει σημαντικές καταστροφές στο κύτταρο, οδηγώντας ακόμα και στο θάνατο του. Δύναται να δράσει καταστροφικά εις βάρος βιολογικών κυτταρικών μακρομορίων, όπως τα λιπίδια, οι πρωτεΐνες και το DNA, μέσω της οξείδωσης της κυτταροπλασματικής μεμβράνης και της απενεργοποίησης διαφόρων ενζύμων. Με βάση αυτά η επιστημονική κοινότητα θεωρεί το οξειδωτικό stress ως ένα καταλυτικό παράγοντα για την εμφάνιση πληθώρας εκφυλιστικών ασθενειών (Saffari and Sadrzadeh, 2003; Joseph et al., 2005; Osawa, 1999).

Components of Antioxidant Protection

Endogenous Antioxidants	Dietary Antioxidants	Metal Binding Proteins
NADPH and NADH Glutathione and thiols (-SH) Ubiquinol (coenzyme Q) Uric acid Bilirubin Metalloenzymes	Vitamin C (Ascorbic acid) Vitamin E (Tocopherols) Carotenoids	Ceruloplasmin (copper) Metallothionein (copper) Albumin (copper) Transferrin (iron) Ferritin (iron) Myoglobin (iron)

Πίνακας 8: Αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα (Jacob, 1995)

Πίνακας 9: Σημαντικά αντιοξειδωτικά ένζυμα (Jacob, 1995)

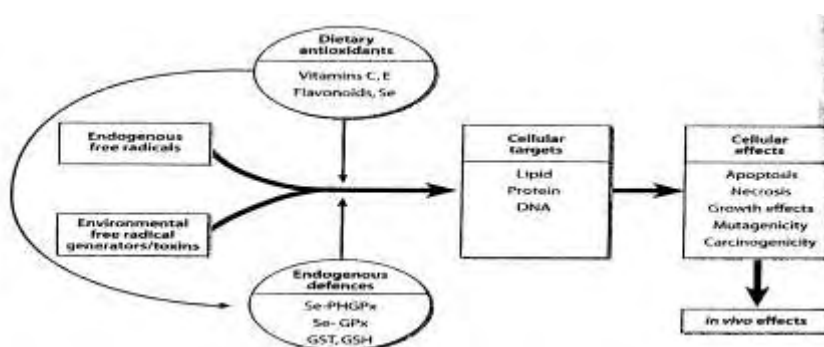
Free Radical Scavenging Enzymes

Enzymes	Reaction
Superoxide dismutase (SOD)	$2O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
Catalase	$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$
Glutathione peroxidase (GPx)	$ROOH + 2GSH \rightarrow ROH + H_2O + GSSG$
GSH = reduced glutathione, GSSG = oxidized glutathione	

Η παραγωγή ROS εξισορροπείται από τον οργανισμό μέσω ενός αμυντικού αντιοξειδωτικού συστήματος που αποτελείται από τα αντιοξειδωτικά της τροφής και τα ενδογενή αντιοξειδωτικά (πίνακες 8 και 9, σχήμα 12). Τα αντιοξειδωτικά της τροφής, όπως η βιταμίνη C, η βιταμίνη A, το σελήνιο, οι φαινολικές ενώσεις κτλ., ενισχύουν το αμυντικό σύστημα και μειώνουν την πιθανότητα οξειδωτικού stress (Masella et al., 2005). Τα ενδογενή αντιοξειδωτικά περιλαμβάνουν ένζυμα που καταλύουν αντιδράσεις δέσμευσης ελευθέρων ριζών και πρωτεΐνες που συνδέονται με μέταλλα αποτρέποντας την καταλυτική οξειδωτική τους δράση. Τα πιο σημαντικά ενδογενή αντιοξειδωτικά ένζυμα είναι η καταλάση, η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx). Άλλα σημαντικά ένζυμα είναι η τρανσφεράση S- γλουταθειόνης (GST), η αλδοκετορεδοκτάση (aldo-keto reductase) και η αλδεϋδική δεϋδρογονάση (aldehyde dehydrogenase) (Masella et al., 2005; Jacob, 1995).

Το οξειδωτικό stress οδηγεί σε μια σειρά διαδικασιών που έχουν ως αποτέλεσμα την καταστροφή των κυτταρικών δομών ή ακόμα και το θάνατο του κυττάρου (σχήμα 12). Οι ελεύθερες ρίζες προωθούν το στάδιο της εκκίνησης της διαδικασίας οξείδωσης των ακορέστων λιπαρών οξέων των μεμβρανικών φωσφολιπιδίων και των λιπιδίων του ενδοπλασματικού δικτύου και των μιτοχονδρίων. Οι ελεύθερες ρίζες, όπως οι υδροξυλικές και οι υπεροξειδικές, προσβάλλουν τους πλούσιους ηλεκτρονικά διπλούς δεσμούς των ακορέστων λιπαρών οξέων **LH** με συνέπεια να παράγεται μια άλκυλο ρίζα **L[•]**. Στη συνέχεια, κατά το στάδιο της διάδοσης, η άλκυλο ρίζα **L[•]** αντιδρά με μοριακό οξυγόνο και παράγεται η υπεροξειδική ρίζα **LOO[•]**, η οποία αφαιρεί ένα άτομο υδρογόνου από ένα άλλο λιπαρό οξύ δίνοντας ως προϊόν υδρουπεροξειδίο **LOOH** και **L[•]**. Η **L[•]** αντιδρά με μοριακό οξυγόνο με αποτέλεσμα να λαμβάνουν χώρα αλυσιδωτές αντιδράσεις παραγωγής λιπιδικών υδρουπεροξειδίων και ριζών (Osawa, 1999).

Η συνεχής οξείδωση των λιπιδίων οδηγεί στη μείωση της ρευστότητας των κυτταρικών μεμβρανών, στην αύξηση της διαπερατότητας σε επιβλαβείς ουσίες και την απενεργοποίηση μεμβρανικών ενζύμων. Η οξειδωτική καταστροφή των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων της κυτταρικής μεμβράνης έχει ως συνέπεια την παραγωγή ενός πολύπλοκου μίγματος λιπιδικών υδροϋπεροξειδίων και δευτερογενών προϊόντων, όπως η μαλονυλδιαλδεϋδη (malondialdehyde ή MDA), η υδροξυνονενάλη 4-hydroxynoneal ή HNE, και η ακρολεΐνη. Αυτές οι ενώσεις εμφανίζουν υψηλή δραστηριότητα και είναι ικανές να εισέλθουν εντός του κυττάρου και να αντιδράσουν ταχύτατα με λιπίδια, πρωτεΐνες, νουκλεοτίδια και ένζυμα, προκαλώντας την καταστροφή τους. Γι αυτό, το οξειδωτικό stress, συνδέεται άμεσα με την διαδικασία της γήρανσης και με πληθώρα ασθενειών, όπως ο καρκίνος και τα καρδιαγγειακά νοσήματα (Koleva et al., 2002; Osawa, 1999)



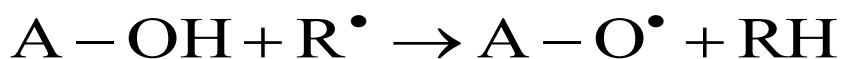
Σχήμα 12: Αντιοξειδωτική άμυνα και κυτταρική καταστροφή (Osawa, 1999)

2.7.5 Μηχανισμοί αντιοξειδωτικής δράσης φαινολικών ενώσεων

Τα φυσικά αντιοξειδωτικά, όπως τα φαινολικά συστατικά εμφανίζουν σημαντική αντιοξειδωτική δράση, συμβάλλοντας στον περιορισμό του οξειδωτικού stress σε κυτταρικό επίπεδο και αποτρέποντας την οξειδωτική καταστροφή του κυττάρου. Οι κυριότεροι μηχανισμοί αντιοξειδωτικής δράσης των φαινολικών ενώσεων είναι η δέσμευση των ελευθέρων ριζών και η συμπλοκοποίηση των ιόντων που προωθούν την υπερπαραγωγή τους. Άλλοι μηχανισμοί είναι η προστασία της κυτταρικής μεμβράνης και του DNA από την οξείδωση καθώς και η ενίσχυση της αντιοξειδωτικής άμυνας μέσω της αύξησης της δράσης των αντιοξειδωτικών ενζύμων.

2.7.6 Μηχανισμός δέσμευσης ελευθέρων ριζών

Ο σημαντικότερος μηχανισμός που εξηγεί τη συνεισφορά των φαινολικών ενώσεων στην ενίσχυση της αντιοξειδωτικής άμυνας του κυττάρου αφορά τη δυνατότητα τους να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες, καθιστώντας τις ανενεργές. Οι φαινολικές ενώσεις λειτουργούν ως ισχυροί αναγωγικοί παράγοντες που αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες δίνοντας φαίνοξυ-ρίζες, οι οποίες σταθεροποιούνται μέσω συντονισμού, λόγω του ακόρεστου συζυγιακού συστήματος, σύμφωνα με το σχήμα :



όπου **A-OH** είναι η φαινολική ένωση, **R[•]** η ελεύθερη ρίζα, **A-O[•]** η φαίνοξυ-ρίζα και **RH** το αδρανές προϊόν που προκύπτει από τη ρίζα. Αδρανή προϊόντα προκύπτουν και από την αντίδραση ανάμεσα στις παραγόμενες φαίνοξυ ρίζες (Harborne and Williams, 2000).

Έχει παρατηρηθεί ότι πληθώρα φαινολικών ενώσεων αντιδρούν με διάφορες ελεύθερες ρίζες, όπως η υδροξυλική, η υπεροξειδική και η **ONOO⁻**, σε οργανικά και υδατικά περιβάλλοντα. Η αντίδραση αυτή βασίζεται αφενός μεν στη μεταφορά ενός ατόμου υδρογόνου από την αρωματική υδροξυλομάδα της φαινολικής ένωσης στην ελεύθερη ρίζα, αφετέρου δε στην ικανότητα ενός αρωματικού συστατικού να υποστηρίξει ένα μονήρες ηλεκτρόνιο, εξαιτίας του απεντοπισμού γύρω από το π-σύστημα ηλεκτρονίων με διαμόρφωση των σταθερών, όχι δραστικών, ελευθέρων ριζών εξαιτίας απεντοπισμού του ασύζευκτου ηλεκτρονίου σε όλο το συζυγιακό π-σύστημα. Η στοιχειομετρία και η κινητική της αντίδρασης εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως ο αριθμός των υδροξυλομάδων (Rahman et al., 2006; Duthie et al., 2000; Coimbra et al., 2006)

Εξαιτίας αυτού του μηχανισμού αντιοξειδωτικής δράσης οι φαινολικές ενώσεις προστατεύουν τα λιπίδια του κυττάρου από την οξειδωτική καταστροφή διότι : α) δεσμεύουν τις υδροξυλικές, τις υπεροξειδικές και συνθετικές ρίζες, αδρανοποιώντας τις και μειώνοντας τη δραστηριότητα τους. β) τερματίζουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις παραγωγής λιπιδικών υδροϋπεροξειδίων. γ) αντιδρούν με ενώσεις εκκινητές της αλυσιδωτής αντίδρασης ή της ανακύκλωσης παραγωγής ριζών (Heim et al., 2002).

Η αντιοξειδωτική ικανότητα που βασίζεται στη δυνατότητα αντίδρασης με ελεύθερες ρίζες, αλλά και σε άλλους μηχανισμούς, δεν είναι ίδια για όλες τις φαινολικές ενώσεις, αλλά εξαρτάται από την κατηγορία στην οποία ανήκουν και από τη συγκεκριμένη χημική δομή που έχουν. Με τον όρο SAR (Structure Activity

Relationship) προσδιορίζεται η διαφορετική αντιοξειδωτική ικανότητα κάθε φαινολικής ένωσης, ανάλογα με τη δομή της (Heim et al., 2002).

Ο σημαντικότερος παράγοντας που καθορίζει την έκταση της αντιοξειδωτικής ικανότητας μίας φαινολικής ένωσης είναι οι υδροξυλομάδες. Στα φλαβονοειδή, το HO^\bullet του B δακτυλίου είναι αυτό που δίνει ένα υδρογόνο στις ελεύθερες ρίζες οδηγώντας σε σχετικά σταθερές ρίζες φλαβονοειδούς. Η ύπαρξη 3'-4'-κατεχόλης ή ο-τριωδρόξυ πυρογαλλόλης στο B-δακτύλιο αυξάνει την αντιοξειδωτική ικανότητα, γεγονός που εξηγεί τη μειωμένη αντίδραση με ελεύθερες ρίζες των φλαβονών, που δεν έχουν τέτοιες ομάδες, σε σχέση με άλλα φλαβονοειδή. Η παρουσία ελεύθερων υδροξυλίων στο δακτύλιο A, όπως το 6 HO^\bullet και κυρίως το 3 HO^\bullet αυξάνει την αντιοξειδωτική ικανότητα, ενώ έχειδειχθεί ότι τα φλαβονοειδή με 3 HO^\bullet και 3'-4'-κατεχόλη έχουν 10 φορές μεγαλύτερη ικανότητα αντίδρασης με RNS. Μελέτες έχουν δείξει ότι η ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών από μία φαινολική ένωση είναι τόσο μεγαλύτερη, όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των υδροξυλομάδων στο μόριο της (Rahman et al., 2006; Harborne and Williams, 2000).

Η παρουσία διπλού δεσμού ανάμεσα στους άνθρακες 2 και 3 και 4-καρβόνυλο ομάδας στο B δακτύλιο του φλαβονοειδούς είναι ένας ακόμα παράγοντας που επηρεάζει τη δυνατότητα δέσμευσης ROS. Η αύξηση του βαθμού πολυμερισμού (π.χ. προκυανιδίνες) φαίνεται να αυξάνει τη δραστηριότητα έναντι μεγάλου αριθμού ROS, ενώ η ύπαρξη και ο βαθμός της γλυκοζυλίωσης διαδραματίζει σπουδαιότατο ρόλο. Έχειδειχθεί ότι οι αγλυκόνες εμφανίζουν σε *in vitro* μοντέλα μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τους αντίστοιχους γλυκοζίτες, διότι εμφανίζουν υδροφιλικότητα και τροποποιούν τον τρόπο εισόδου των υδροϋπεροξειδίων εντός των μεμβρανών (Harborne and Williams, 2000; Heim et al., 2002).

2.7.7 Μηχανισμός συμπλοκοποίησης ιόντων

Όπως έχει αναφερθεί, τα μέταλλα όπως ο σίδηρος και ο χαλκός συμμετέχουν σε σημαντικές οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις του οργανισμού, όταν βρεθούν υπό μη ελεγχόμενες συνθήκες, δύναται να προωθήσουν την παραγωγή ελευθέρων ριζών, μέσω της αντίδρασης Fenton. Οι φαινολικές ενώσεις έχουν την ικανότητα να αποτρέπουν την παραγωγή ελευθέρων ριζών μέσω της αντίδρασης Fenton, δεσμεύοντας τα ιόντα και δημιουργώντας σύμπλοκα με αυτά, με συνέπεια να μειώνεται η παραγωγή ουσιών καταστροφικών για το κύτταρο. Συγκεκριμένα, οι φαινολικές ενώσεις αφενός μεν διατηρούν το σίδηρο στη μορφή Fe^{3+} , στην οποία δε μπορεί να συμμετέχει ως αντιδρών στην αντίδραση Fenton, αφετέρου δε συσσωρεύονται γύρω από τα ιόντα σιδήρου, αντιδρώντας με αυτά και δημιουργώντας σύμπλοκα (Peng Wong et al., 2005; Duthie et al., 2000; Rahman et al., 2006; Coimbra et al., 2006). Παρόμοια δυνατότητα συμπλοκοποίησης παρατηρείται και με τα ιόντα χαλκού Cu^{2+} (Gaetche and Chow, 2003).

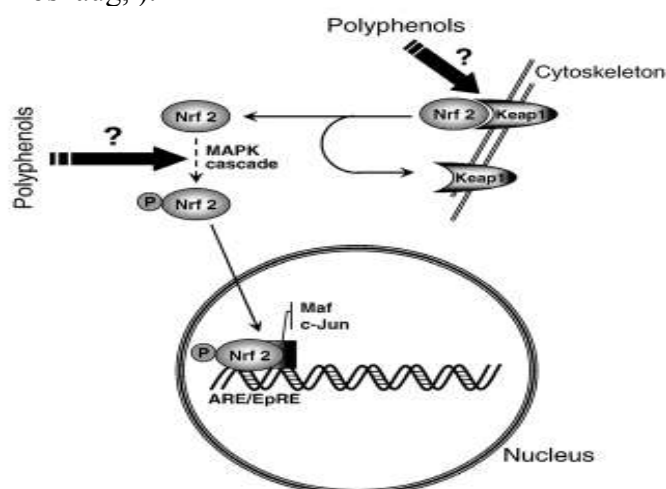
Η ικανότητα των φαινολικών ενώσεων να συμπλοκοποιούν τα ιόντα εξαρτάται από διάφορους παράγοντες. Η ύπαρξη ομάδας κατεχόλης ευνοεί τη συμπλοκοποίηση, ενώ η ύπαρξη γλυκοζιτικών δεσμών την καθιστά πιο δύσκολη, διότι περιορίζει τη δυνατότητα σύνδεσης των φαινολικών ομάδων με τα ιόντα. Τέλος, η μεθυλίωση θεωρείται ότι δρα προωθητικά της διαδικασίας συμπλοκοποίησης και της μείωσης των παραγόμενων ελευθέρων ριζών (Peng Wong et al., 2005; Heim et al., 2002).

2.7.8 Μηχανισμός προστασίας αντιοξειδωτικών ενζύμων

Η συνεισφορά των φαινολικών ενώσεων στην αύξηση της συνολικής αντιοξειδωτικής κατάστασης εντός του κυττάρου δεν έγκειται μόνο στον άμεσο ή έμμεσο περιορισμό της δραστηριότητας των ελευθέρων ριζών, αλλά και στην επωφελή επίδραση επί του συστήματος αντιοξειδωτικής άμυνας του κυττάρου. Οι πολυφαινόλες αναστέλλουν ενδογενή προοξειδωτικά ένζυμα (Coimbra et al., 2006; Peng Wong et al., 2005), προστατεύουν τα εξωγενή αντιοξειδωτικά, όπως οι βιταμίνες C και E, από την οξείδωση (Erba et al., 2004; Jacob, 1995) και ενισχύουν τη δράση των ενδογενών αντιοξειδωτικών ενζύμων. Με αυτό τον τρόπο προωθούν την κυτταρική αντιοξειδωτική άμυνα, μειώνοντας την πιθανότητα οι οξειδωτικές ελεύθερες ρίζες να υπερισχύσουν των κυτταρικών αντιοξειδωτικών (Jacob, 1995; Rahman et al., 2006; Masella et al., 2005).

Πληθώρα *in vitro* και *in vivo* μελετών έχει δείξει ότι οι πολυφαινόλες έχουν τη δυνατότητα να αυξάνουν τη δράση των κυριότερων αντιοξειδωτικών ενζύμων του κυττάρου, που είναι η καταλάση, η υπεροξειδική δισμουτάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (Rahman et al., 2006; Masella et al., 2005; Rodrigo et al., 2004). Αυτή η δυνατότητα πιθανόν να οφείλεται στην ικανότητα των πολυφαινολών να τροποποιούν την έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν την παραγωγή των συγκεκριμένων ενζύμων. Για παράδειγμα, έχει βρεθεί ότι η κερκετίνη, η καεμπερόλη και η λουτεολίνη τροποποιούν την έκφραση του γονιδίου που σχετίζεται με τη γλουταθειόνη στα καρκινικά κύτταρα του μαστού, μειώνοντας την έκφραση της μεταφοράς S- γλουταθειόνης (GST) (Masella et al., 2005).

Μελέτες έχουν δείξει ότι οι πολυφαινόλες δρουν σε συγκεκριμένη κατηγορία γονιδίων, τα AREs ή electrophil response elements (EpRes), τα οποία διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στο κυτταρικό αμυντικό σύστημα, διότι ενεργοποιούν τα αντιοξειδωτικά ένζυμα φάσης II, όπως NADPH, GST, GPx, Gred, sulfotransferases, epoxide hydrolases κτλ. Τα γονίδια αυτά ρυθμίζονται από μεταγραφικούς παράγοντες, όπως οι Nrf1 και Nrf2 πρωτεΐνες και οι MARK πρωτεΐνες (ERK, JNK και p38). Οι πολυφαινόλες ενεργοποιούν αυτούς τους μεταγραφικούς παράγοντες επηρεάζοντας τα μονοπάτια ρύθμισης των AREs γονιδίων και ενισχύοντας τα ενδογενή αντιοξειδωτικά ένζυμα, όπως φαίνεται στο Σχήμα 13 (Masella et al., 2005; Jan Øivind Moskaug,).



Σχήμα 13: Μηχανισμός ενίσχυσης της αντιοξειδωτικής δράσης των ενδογενών κυτταρικών ενζύμων, μέσω επιδράσης στα γονίδια (Masella et al., 2005)

2.7.9 Μηχανισμός προστασίας της κυτταροπλασματικής μεμβράνης

Ένας άλλος έμμεσος τρόπος με τον οποίο οι φαινολικές ενώσεις αυξάνουν την αντιοξειδωτική ικανότητα του κυττάρου, είναι η δυνατότητα τους να συνδέονται με την κυτταροπλασματική μεμβράνη, μειώνοντας την επιδεκτικότητα των συστατικών της για οξείδωση. Συνεπώς, μειώνουν την παραγωγή καταστροφικών για τα συστατικά του κυττάρου προϊόντων οξείδωσης των ακόρεστων λιπιδίων της μεμβράνης (Oteiza et al., 2005; Coimbra et al., 2006; Saffari and Sadrzadeh, 2003).

Οι πολυφαινόλες δρουν προστατευτικά στις μεμβράνες των κυττάρων, διότι τα μη πολικά τμήματα τους αντιδρούν με το υδρόφοβο μέρος της μεμβράνης, ενώ σχηματίζονται δεσμοί υδρογόνου ανάμεσα στις πολικές ομάδες των φωσfolιπιδίων με τα πιο υδρόφιλα φλαβονοειδή, στην επιφάνεια της μεμβράνης. Αυτό έχει ως συνέπεια : α) Την αλλαγή των φυσικών ιδιοτήτων της μεμβράνης, όπως η βελτίωση της ρευστότητας της. β) Τη μείωση της επιδεκτικότητας των λιπιδίων και των πρωτεϊνών στην οξείδωση. γ) Την έντονη αντιοξειδωτική δράση των προσκολλημένων στη μεμβράνη πολυφαινολών. δ) Τη μείωση της διαπερατότητας της μεμβράνης από οξειδωτικά μόρια, λόγω των δεσμών υδρογόνου (Oteiza et al., 2005).

2.7.10 Αντιφλεγμονώδης δράση φαινολικών συστατικών και ενίσχυση ανοσοποιητικού

Ένας άλλος σημαντικός ρόλος που εμφανίζουν οι φαινολικές ενώσεις είναι η αναστολή της φλεγμονώδους διαδικασίας στα κύτταρα διαφόρων ιστών του οργανισμού, μέσω της δράσης σε γονίδια και ενζυμικά συστήματα, η οποία οδηγεί στη μειωμένη παραγωγή φλεγμονώδων παραγόντων εντός του κυττάρου. Οι φλεγμονώδεις ουσίες, δύναται να αποτελέσουν παράγοντες προώθησης μηχανισμών γένεσης πληθώρας ασθενειών, όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις, ο καρκίνος, το άσθμα, νευρολογικές παθήσεις κτλ. (Widlansky et al., 2005; Rodrigo et al; 2005; Rahman et al., 2006).

Η ρεσβερατρόλη είναι μία φαινόλη του κόκκινου κρασιού που πληθώρα επιστημονικών μελετών την καθιστά υπεύθυνη για τον περιορισμό της φλεγμονώδους διαδικασίας. Αυτό οφείλεται στη δυνατότητα της να αναστέλλει την έκφραση των φλεγμονωδών κυτταροκινών στους πνεύμονες και στα επιθηλιακά κύτταρα, με συνέπεια την αποτροπή έκφρασης του παράγοντα NF-kB (Nuclear Factor kappa-B), ο οποίος είναι η υπεύθυνος για την παραγωγή της φλεγμονώδους κυκλοξυγενάσης (COX-2). Η ρεσβερατρόλη αλλάζει την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν την παραγωγή φλεγμονώδων ουσιών, όπως ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1), ELAM-1 (Endothelium Leucocyte Molecule-1), ενώ τροποποιεί τα προφλεγμονώδη μονοπάτια και φωσφορυλιώνει τις κινάσες MARK και ERK1/2 αποτρέποντας τη φλεγμονώδη διαδικασία που οδηγεί σε καρκίνο. Οι κατεχίνες του τσαγιού έχει βρεθεί ότι αναστέλλοντας τον παράγοντα NF-kB μειώνουν την έκφραση λευκοτριενών και άλλων φλεγμονώδων ουσιών (Widlansky et al., 2005; Rahman et al., 2006).

Το άσθμα και οι αλλεργίες είναι κατεξοχήν φλεγμονώδεις ασθένειες που επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από τα κορτικοστεροειδή. Το άσθμα προκύπτει από την ακετυλίωση στην εκ φλεγμονώδους IL-1β προκληθείσα απελευθέρωση μακροφάγων στα κύτταρα των πνευμόνων. Οι πολυφαινόλες δρουν στα γλυκοκορτικοειδή ελέγχοντας την ενεργοποίηση του NF-kB και τροποποιώντας τη

δράση άλλων παραγόντων. Έτσι, αλλάζει η έκφραση των γονιδίων που σχετίζονται με τη φλεγμονώδη διαδικασία στα επιθηλιακά κύτταρα των πνευμόνων και προωθείται η δράση ενζύμων, όπως τυροσινοντενιράση, κετορεδουκτάση, καρβόνυλο ρεδουκτάση, που βελτιώνουν τα φλεγμονώδη συμπτώματα του άσθματος. Σε παρεμφερή μηχανισμό υπόκεινται και η δράση των πολυφαινολών στις αλλεργίες και γενικά στην απώθηση της φλεγμονώδους διαδικασίας και την ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος του οργανισμού (Rahman et al., 2006; Jan Øivind Moskaug, 2001). Η ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος από τις πολυφαινόλες επιτυγχάνεται μέσω της αναστολής της φωσφολιπάσης A2, της κυκλοοξυγενάσης και της λιποξυγενάσης, οπότε μειώνονται τα επίπεδα των φλεγμονώδων προσταγδαλίνων PGE2 (Wollgast and Anklam, 2000).

2.8 Η δράση των φαινολικών συστατικών στην πρόληψη ασθενειών

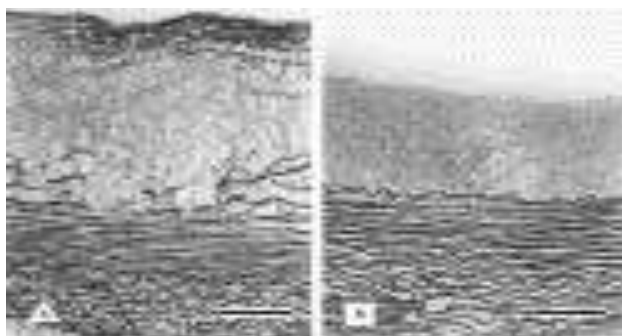
2.8.1 Φαινολικά συστατικά και καρδιαγγειακές παθήσεις

Οι καρδιαγγές παθήσεις αποτελούν τη σημαντικότερη αιτία θανάτου στη σύγχρονη κοινωνία και οι κυριότερες είναι η στεφανιαία νόσος και το αγγειακό εγκεφαλικό. Η παθοφυσιολογία των καρδιαγγειακών παθήσεων βασίζεται στη διαδικασία της αθηροσκλήρυνσης των αγγείων (όπως των στεφανιαίων αρτηριών της καρδιάς), κατά την οποία η συνεχής συσσώρευση λιπιδίων, ελαστίνης και άλλων ουσιών στο ενδοθήλιο, οδηγεί στη δημιουργία αθηρωματικής πλάκας. Όταν αυτή υποστεί θραύση λαμβάνει χώρα θρόμβωση, με αποτέλεσμα την εκδήλωση καρδιαγγειακού επεισοδίου (Πλέσσας, 1998). Τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότερες επιδημιολογικές μελέτες επιβεβαιώνουν τα ευρήματα των *in vitro* μελετών και των πειραμάτων σε ζώα, δείχνοντας μια ξεκάθαρα αντίστροφη σχέση ανάμεσα στην κατανάλωση τροφίμων πλούσιων σε πολυφαινόλες και στην εμφάνιση καρδιαγγειακών επεισοδίων. Επιδημιολογικές μελέτες κατανάλωσης πολυφαινολών έδειξαν μείωση του σχετικού κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων (Michelle et al., 2006; Duthie et al., 2000; Wollgast and Anklam, 2000). Αναφορικά με τους μηχανισμούς επίδρασης των πολυφαινολών στις καρδιαγγειακές παθήσεις, αυτοί βασίζονται κυρίως στην αποτροπή της αθηροσκληρυντικής διαδικασίας και περιλαμβάνουν την αποτροπή οξείδωσης της LDL, τη βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας, την αναστολή της αθηρωματικής και της φλεγμονώδους διαδικασίας, την επίδραση στα λιπίδια του αίματος και την αποτροπή συσσωμάτωσης των αιμοπεταλίων (Michelle et al., 2006).

2.8.2 Αντιαθηρωματική δράση πολυφαινολών

Η αθηρωματογένεση είναι μία διαδικασία που χαρακτηρίζεται από την πρόωρη αποικοδόμηση των εξωκυτταρικών μεταλλοπρωτεϊνών (MMP), την αύξηση παραγωγής αυξητικών παραγόντων στο ενδοθήλιο, όπως ο Vascular Endothelium Growth Factor (VEGF) και ο Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) και τελικά τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων, την ωρίμανση των αγγείων και τη δημιουργία αθηρωματικής πλάκας (Πλέσσας, 1998).

Πειράματα χορήγησης πολυφαινολών σε ποντίκια έδειξαν σημαντική μείωση του ρυθμού ανάπτυξης της αθηρωματικής πλάκας ή ακόμα και εξαφάνιση αυτής, (Σχήμα 15). Οι πολυφαινόλες φαίνεται ότι προλαβαίνουν την ενεργοποίηση του MMP (Matrix metalloproteinase), ενώ παράλληλα δρουν σε γονίδια που ρυθμίζουν τη μείωση παραγωγής των αυξητικών παραγόντων VEGF και PDGF, μέσω αναστολής ενεργοποίησης του μονοπατιού της κινάσης p38 MARK. Επίσης, δρουν σε γονίδια, όπως το p53 και το p21, με αποτέλεσμα να τροποποιούνται οι φάσεις S και G2 του κυτταρικού κύκλου και να μειώνεται ο πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων (Dell'Agli et al., 2004; Manach et al., 2005).



Σχήμα 14: Μείωση πάχους αθηρωματικής πλάκας στο ενδοθήλιο αρτηρίας ποντικών, μετά από συνεχή κατανάλωση πολυφαινολών (Manach et al., 2005)

2.8.3 Αντιοξειδωτική δράση και προστασία της LDL

Ο σημαντικότερος, ίσως, ρόλος των φαινολικών ενώσεων στην πρόληψη των καρδιαγγειακών παθήσεων έγκειται στην αντιοξειδωτική τους δράση στα ενδοθηλιακά κύτταρα, δεδομένου ότι οι καταστροφικές επιπτώσεις των ελευθέρων ριζών αποτελούν προωθητικό της αθηροσκλήρυνσης παράγοντα. Αν και ο αντιοξειδωτικός ρόλος των φαινολικών συστατικών στο καρδιαγγειακό σύστημα είναι πολυδιάστατος, 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 (Πλέσσας, 1998).

Η οξειδωμένη LDL προκύπτει από την οξείδωση των λιπιδίων και την τροποποίηση των απολιποπρωτεϊνών που βρίσκονται εντός αυτής. Η οξείδωση της LDL λαμβάνει χώρα στον υποενδοθηλιακό χώρο του αρτηριακού τοιχώματος. Στη διαδικασία εμπλέκονται αφενός μεν οι ρίζες ROS και RNS, αφετέρου δε ειδικά ένζυμα, όπως η μυελοπεροξειδάση (myeloperoxidase) ή λιποξυγενάση (lipoxygenase) ή NADPH οξειδάση, ή μόρια όπως το κυτόχρωμα P450 και το nicotinamide adenine dinucleotide phosphate. Η οξειδωμένη LDL θεωρείται ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες αθηροσκλήρυνσης, διότι προκαλεί διέγερση

διαδικασιών πολλαπλασιασμού των αρτηριακών κυττάρων, προκαλεί το σχηματισμό του αφρώδους κυττάρου και κινητοποιεί φλεγμονώδεις ουσίες. Η οξειδωμένη LDL προκαλεί την έκφραση των μορίων προσκόλλησης στα ενδοθηλιακά κύτταρα, όπως ICAM-1, VCAM-1 και E-Selectin, 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 foam cells, κύτταρα πλούσια σε λιπαρά οξέα και χοληστερόλη, υπεύθυνα για την πάχυνση της αθηρωματικής πλάκας (Duthie et al., 2000; Morton et al., 2000; Berrougui et al., 2006).

Πληθώρα επιστημονικών μελετών in vito και in vivo έχουν καταλήξει σε ασφαλή συμπεράσματα που καταδεικνύουν συγκεκριμένους μηχανισμούς δράσης των φαινολικών ενώσεων κατά της οξείδωσης της LDL. Από τους μηχανισμούς αυτούς οι κυριότεροι είναι οι εξής :

- α) Δεσμεύουν και σταθεροποιούν τις ελεύθερες ρίζες, μέσω προσφοράς ενός ατόμου H από το $-OH$ στην αρνητικά φορτισμένη ρίζα ($R^- + R'OH \rightarrow RH + R'O^-$), όπου $R'OH$ η φαινολική ένωση και RH το σταθερό προϊόν που παράγεται).
- β) Δρουν ως παράγοντες συμπλοκοποίησης, δεσμεύοντας ιόντα, όπως ο χαλκός (Cu^{+2}) και ο σίδηρος (Fe^{+2}), τα οποία μπορούν να οδηγήσουν στην παραγωγή ελεύθερων ριζών. Αναστέλλουν τη σύνδεση του χαλκού με απολιποπρωτεΐνες, ενώ εμποδίζουν τη διάσπαση των υδροϋπεροξειδίων σε ελεύθερες ρίζες, παρουσία σιδήρου (αντίδραση Fenton).
- γ) Αποτρέπουν την οξείδωση της βιταμίνης E και των καροτενοειδών (β-καροτένιο, λυκοπένιο) εντός της LDL, προστατεύοντας την από την οξείδωση.
- δ) Διατηρούν ή αυξάνουν τη δραστηριότητα του εσωτερικού ενζύμου της LDL, serum paraoxonase, προωθώντας την υδρόλυση των λιπιδικών υπεροξειδίων, από τα οποία προκύπτουν ελεύθερες ρίζες.
- ε) Βελτιώνουν την ενδοκυτταρική ισορροπία μειώνοντας την παραγωγή O_2 και υπεροξειδίου και αυξάνοντας τα επίπεδα των εσωτερικών αντιοξειδωτικών ενζύμων, όπως glutathione (GSH), glutathione reductase (GR) και peroxidase (GPx).
- στ) Αυξάνουν τη ρευστότητα των φωσfolιπιδικών μεμβρανών της LDL, σταθεροποιώντας τις και κάνοντας τις πιο ανθεκτικές στην οξείδωση (Morton et al., 2000; Michelle et al., 2006; Berrougui et al., 2006; Masella et al., 2004).

2.8.4 Πολυφαινόλες και ενδοθηλιακή λειτουργία

Πολλά επιστημονικά δεδομένα συνδέουν άμεσα τη διατήρηση φυσιολογικής λειτουργίας του ενδοθηλίου με την ομαλή λειτουργία του καρδιαγγειακού συστήματος και τη μειωμένη πιθανότητα εμφάνισης στεφανιαίας νόσου. Παράγοντες που μειώνουν τη δυνατότητα διαστολής και χαλάρωσης της αρτηρίας (ελαστικότητα αρτηρίας), σε συνδυασμό με φλεγμονώδεις ουσίες και αυξημένη πίεση αίματος οδηγούν σε ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, με αποτέλεσμα τη διευκόλυνση αφενός μεν της δημιουργίας αθηρωματικών πλακών, αφετέρου δε της θρόμβωσης και της κλινικής εμφάνισης της στεφανιαίας νόσου. Οι βασικές ουσίες που εκκρίνονται από το ενδοθήλιο και είναι υπεύθυνες για τη διατήρηση φυσιολογικής ελαστικότητας των αρτηριών είναι το μονοξείδιο του αζώτου (NO), η προστακυκλίνη (prostaglandin) και ο παράγοντας EDHF (Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor), ο οποίος έχει ενεργό ρόλο στη διατήρηση του αγγειακού τόνου και της πίεσης του αίματος. Αντίθετα, ουσίες υπεύθυνες για την μειωμένη διαστολή και τη σκλήρυνση των αρτηριών είναι οι ελεύθερες ρίζες και η ενδοθηλίνη-1 (endothelin-1), η οποία είναι προφλεγμονώδης και προωθεί τον πολλαπλασιασμό των μυών και τον τραυματισμό της αρτηρίας. Ένας σημαντικός παράγοντας μέτρησης της ενδοθηλιακής

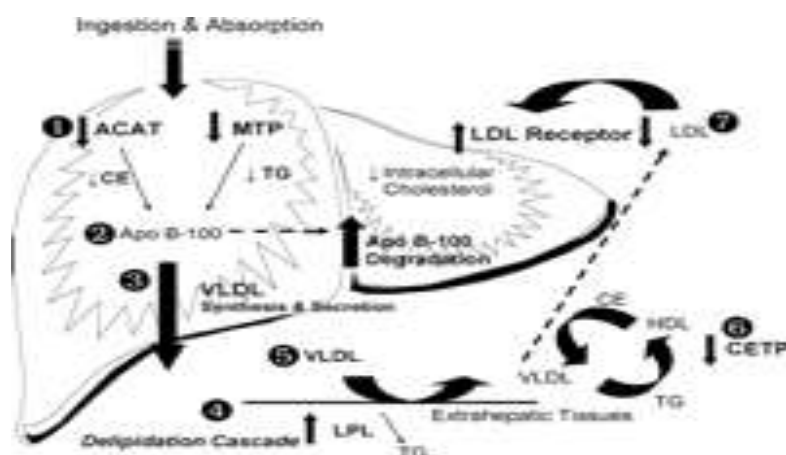
δυσλειτουργίας είναι ο FMD (Flow Mediation Dilation), βασικός δείκτης ελαστικότητας του ενδοθηλίου της αρτηρίας (Stoclet et al., 2004; Duthie et al., 2000; Manach et al., 2005; Abevwardena et al., 2002).

Τα φαινολικά συστατικά συνεισφέρουν στη μείωση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας με τους εξής τρόπους : α) Αυξάνουν τον παράγοντα FMD. β) Αυξάνουν τη δραστηριότητα του ενζύμου eNOS (NO Synthase Activity), αυξάνοντας την παραγωγή NO. γ) Αυξάνουν την χαλάρωση της αρτηρίας. Οι πολυφαινόλες του κρασιού φαίνεται ότι ενεργοποιούν συγκεκριμένα μονοπάτια κινασών στα ενδοθηλιακά κύτταρα, όπως p38 MARK (p38 Mitogen Activatrd Protein Kinase), $\frac{1}{2}$ ERK1/2 (Extracellular Signal Regulation Kinase) και PI3-Kinase/Akt, με αποτέλεσμα την χαλάρωση των αρτηριών, μέσω της κινητοποίησης του EDHF. δ) Αυξάνουν την απελευθέρωση της προστακυκλίνης από το ενδοθήλιο. ε) Αναστέλλουν τη σύνθεση της ενδοθηλίνης-1. στ) Αυξάνουν τη σύνθεση του χαλαρωτικού παράγοντα cyclic guanosine 3'5'-monophosphate. ζ) Μειώνουν την πίεση του αίματος, μέσω της παραγωγής NO η) Αυξάνουν την έκφραση της COX-2 (Cyclooxygenase-2) και της TXA2 (Thromboxane A2), που σχετίζονται με την παραγωγή NO, (Σχ. 9) (Stoclet et al., 2004; Duthie et al., 2000; Manach et al., 2005; Diebolt et al., 2001).

2.8.5 Επίδραση πολυφαινολών στα λιπίδια του αίματος

Τα φαινολικά συστατικά φαίνεται ότι συνεισφέρουν στην πρόληψη των καρδιαγγειακών παθήσεων παρεμβαίνοντας στο μεταβολισμό των λιπιδίων του αίματος και τροποποιώντας τις συγκεντρώσεις τους. Η αυξημένη συγκέντρωση λιπιδίων στην κυκλοφορία του αίματος είναι ένας βασικός παράγοντας κινδύνου αθηροσκλήρυνσης. Τα φαινολικά συστατικά μειώνουν την ολική χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια, αυξάνουν την HDL και μειώνουν την LDL, αποτρέποντας τη δημιουργία αθηρωματικών πλακών στις αρτηρίες (Zern and Fernandez, 2005; Duthie et al., 2000). Πολλές μελέτες συμπεραίνουν ότι τα φαινολικά συστατικά επηρεάζουν την απορρόφηση και το μεταβολισμό της χοληστερόλης, μειώνοντας τη συγκέντρωση της στο αίμα. Μελέτες σε ζώα προτείνουν ότι οι πολυφαινόλες αντιδρούν με τους πρωτεϊνικούς μεταφορείς της χοληστερόλης στην ψυκτροειδή παρυφή, εμποδίζοντας την απορρόφηση της στα εντεροκύτταρα και προοθώντας την απέκκριση της από τον οργανισμό.

Στο Σχήμα 15 φαίνεται ο βασικός μηχανισμός δράσης των πολυφαινολών στα λιπίδια του αίματος ο οποίος συνοψίζεται στα εξής σημεία : Οι πολυφαινόλες αλλάζουν το μεταβολισμό της χοληστερόλης και των λιποπρωτεϊνών : 1. Μειώνοντας τη δράση των MTP, ACAT. 2. Αυξάνοντας την αποδόμηση της B100. 3. Μειώνοντας τη σύνθεση της VLDL. 4. Αλλάζοντας το προφίλ των λιπιδίων στην κυκλοφορία του αίματος. 5. Αλλάζοντας την VLDL, μέσω μείωσης της apoE, οπότε αυξάνεται η LPL δραστηριότητα και μειώνονται τα τριγλυκερίδια στο πλάσμα. 6. Μειώνοντας την LDL, μέσω της μείωσης της VLDL και της αλλαγής του μεταβολισμού της χοληστερόλης (Zern and Fernandez, 2005).



Σχήμα 15: Επίδραση πολυφαινολών στα λιπίδια του αίματος (Zern & Fernandez, 2005)

2.8.6 Φαινολικά συστατικά και καρκίνος

Μετά τις καρδιαγγειακές παθήσεις ο καρκίνος αποτελεί τη σημαντικότερη αιτία θανάτου σε πολλές χώρες. Αν και τα αίτια εμφάνισης του θεωρούνται πολυδιάστατα, η παθοφυσιολογία του βασίζεται σε μεταλλάξεις σε γονίδια που σχετίζονται με τη φυσιολογική λειτουργία του κυτταρικού κύκλου, την επανόρθωση του DNA, και την τροποποίηση της δυνατότητας απόπτωσης των κυττάρων. Τα φυσιολογικά κύτταρα έχουν ενδογενείς μηχανισμούς διατήρησης ανέπαφων των γονιδίων τους, μέσω επανόρθωσης του DNA, αν αυτό υποστεί βλάβες ή μέσω της απόπτωσης τους, που είναι ένα είδος κυτταρικού θανάτου, που πραγματοποιείται πριν το κύτταρο γίνει καρκινικό. Αν, υπό επίδραση καρκινογόνων ουσιών, ακτινοβολίας ή άλλων παραγόντων, επηρεαστούν συγκεκριμένα γονίδια, όπως το αντιαποπτωτικό Bcl-2, τότε τα κύτταρα δύναται να μετατραπούν σε καρκινικά, με αποτέλεσμα την αποδιοργάνωση των φάσεων του κυτταρικού κύκλου, τον άκρατο πολλαπλασιασμό των κυττάρων, την ογκογέννεση και τελικά την κλινική εμφάνιση του καρκίνου σε διάφορα όργανα του σώματος (Ζαμπέλας, 2006; Χανιώτης, 1998; Duthie et al., 2000; Manach et al., 2004).

Τα τελευταία χρόνια πληθώρα μελετών σε ζώα, καθώς και in vitro μελετών σε ιστοκαλλιέργειες εμφανίζουν συσχέτιση ανάμεσα στην μείωση εμφάνισης του καρκίνου και στις πολυφαινόλες διαφόρων τροφίμων και ποτών (Hollman and Katan, 1999). Η επίδραση των πολυφαινολών σε διάφορους ιστούς έχει δείξει την αποτροπή δράσης διαφόρων καρκινογόνων ουσιών, όπως φαίνεται στο Σχ. 2.6. (Ferguson, 2000). Σε κυτταροκαλλιέργειες ιστών εντέρου, πνευμόνων, αίματος κ.α., βρέθηκε ότι η κερκετίνη αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των OVCA 433, ενώ η γενιστεΐνη και η καμφερόλη αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων HT29 και ML-3 στο ήπαρ (Duthie et al., 2000; Fu et al., 2000). Επίσης, η κερσετίνη χορηγούμενη σε ποντίκια περιόρισε το σχηματισμό καρκινικών όγκων, ενώ η κατεχίνη και η ρεσβερατρόλη μείωσε τον καρκίνο του δέρματος και του προστάτη (Soleas et al., 2002). Παρόλα αυτά, όμως, δεν υπάρχει ικανοποιητικός αριθμός επιδημιολογικών και κλινικών μελετών που να επιβεβαιώνουν συσχέτιση ανάμεσα στην κατανάλωση πολυφαινολών και την εμφάνιση καρκίνου. Αν και κάποιες μελέτες δείχνουν τέτοια συσχέτιση, κυρίως μελέτες που αφορούν χορήγηση πράσινου τσαγιού και κόκκινου κρασιού, κάποιες άλλες δε δείχνουν εμφανή και στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα (Fu et al., 2000; Camuse et al., 2005), όπως η μελέτη Zutphen και άλλες επιδημιολογικές μελέτες, που δεν έδειξαν συσχέτιση της πρόσληψης φλαβονοειδών με τον καρκίνο. Συνεπώς, απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να προκύψουν ασφαλή

συμπεράσματα στο θέμα αυτό. Οι κυριότεροι μηχανισμοί, πάντως, που αφορούν την πιθανή δράση των φαινολικών ενώσεων στον καρκίνο είναι η επίδραση σε γονίδια, η τροποποίηση ενζύμων, η αντιοξειδωτική δράση κ.α. (Duthie et al., 2000; Hollman and Katan, 1999).

2.8.7 Μηχανισμός αντιοξειδωτικής δράσης

Η υπερπαραγωγή ROS εντός του κυττάρου δύναται να αποτελέσει σημαντικό παράγοντα καρκινογένεσης, διότι οι ελεύθερες ρίζες προκαλούν δομικές αλλαγές στο DNA μέσω αντιδράσεων οξείδωσης, μεθυλίωσης και διαμίνωσης. Μελέτες έδειξαν ότι οι φαινολικές ενώσεις, δεσμεύοντας τις ελεύθερες ρίζες, προστατεύουν το DNA από την καταστροφή, γεγονός που αποτρέπει βλάβες που θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε καρκίνο. Μελέτες σε Caco-2 κύτταρα του κόλον έδειξαν ευεργετική δράση των φλαβονοειδών στο DNA, ενώ η κατανάλωση κρασιού μείωσε την καταστροφή του DNA, λόγω δέσμευσης των ελευθέρων ριζών (Camouse et al., 2005; Le Marchand, 2002; Duthie, 2000; Scalbert et al., 2002; Ferguson, 2000).

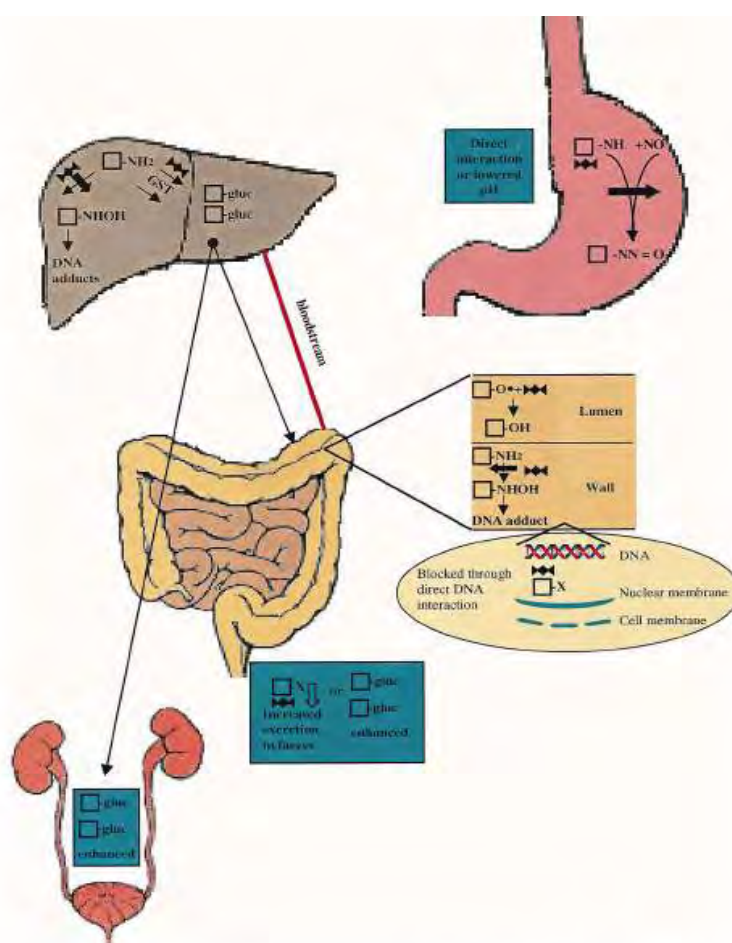


Fig. 2. Some of the mechanism of antimutagenic action of polyphenols and their associated target organs. (↔) Polyphenol; (□-NH) Amine; (□-NH₂) Arylamine; (□-O) Free radical; (□-gluc) Carcinogen-glucuronide; (□-X) Carcinogen; (□-NN=O) Nitrosamine; (□-NHOH) Activated arylamine; (□-OH) Inactive species.

Σχήμα 16: Αντικαρκινική δράση πολυφαινολών στα όργανα του σώματος (Ferguson, 2000)

2.8.8 Μηχανισμός τροποποίησης ενζυμικών συστημάτων

Τα χημικά καρκινογόνα για να βρεθούν σε κατάσταση πρόκλησης καρκίνου πρέπει να μετασχηματιστούν από τα ένζυμα της φάσης I σε ενεργή μορφή, ώστε να μπορούν να συνδεθούν με το DNA και να προκαλέσουν μεταλλάξεις. Αν αυτές οι μεταλλάξεις δε διορθωθούν από τον οργανισμό, τότε προκύπτει καρκίνος. Αν δεν προκύψει καρκίνος, τα ένζυμα της φάσης II αναλαμβάνουν να διασπάσουν την ενεργή μορφή του καρκινογόνου και να την απομακρύνουν από τον οργανισμό, ώστε να μειώσουν την πιθανότητα να εμφανιστεί αργότερα καρκίνος. Οι πολυφαινόλες έχει δειχθεί ότι αναστέλλουν τα ένζυμα του κυτοχρώματος P450 της οικογένειας CY P1A, που ενεργοποιούν καρκινογόνα, όπως οι πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες και οι ετεροκυκλικές αμίνες, ενώ αυξάνουν τη δράση αντιοξειδωτικών ή αποικοδομητικών της ενεργής μορφής του καρκινογόνου ενζύμων (Marchand, 2002; Duthie, 2000).

Έχει δειχθεί ότι η κερσετίνη αναστέλλει τα ένζυμα EROD και PROD στα ηπατοκύτταρα, αναστέλλοντας την καρκινογένεση. Οι καρκινογόνες αμίνες στα τρόφιμα προωθούνται από ένζυμα, που αναστέλλονται από κάποια φλαβονοειδή, τα οποία παράλληλα αυξάνουν τα ένζυμα της φάσης II, όπως η GST και η tripeptide glutathione, που αποτρέπουν την καρκινογένεση. Επίσης, οι πολυφαινόλες αυξάνουν τη δράση των ενζύμων DT-diaphorase και quinone reductase, τα οποία περιορίζουν την κυτταρική τοξικότητα, μειώνοντας τις κινόνες και τις ελεύθερες ρίζες (Duthie, 2000; Urquiga and Leighton, 2000).

2.8.9 Μηχανισμοί επίδρασης επί γονιδίων και αναστολής πολλαπλασιασμού κυττάρων

Ένας από τους σημαντικότερους μηχανισμούς δράσης των φαινολικών ενώσεων στην πρόληψη της διαδικασίας καρκινογένεσης είναι η επίδραση επί συγκεκριμένων γονιδίων (Gattipati et al., 2006 ; Duthie et al., 2000; Urquiga and Leighton, 2000). Οι πολυφαινόλες τροποποιούν την έκφραση των γονιδίων που ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο και τη διαδικασία της απόπτωσης, με αποτέλεσμα να αυξάνονται τα κύτταρα στη φάση G1, να μειώνονται στις φάσεις G2 και S, και να προωθείται η απόπτωση τους (Thangapazham, 2006; Duthie et al., 2000; Marchand, 2002; Ferguson, 2000). Για παράδειγμα, οι κατεχίνες του τσαγιού έχει βρεθεί ότι προωθούν την απόπτωση των κυττάρων σε καρκινικά κύτταρα C310T112CL8, μέσω απορύθμισης του γονιδίου p53, το οποίο ρυθμίζει τις φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Άλλα φλαβονοειδή, όπως η κερσετίνη αυξάνουν την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων του μαστού (MDA-MB468), ενώ απορυθμίζουν τις προσταγδαλίνες, βασικούς αντιαποπτωτικούς παράγοντες (Duthie et al., 2000; Thangapazham, 2006).

Οι πολυφαινόλες αντιδρούν με το κυτταρικό DNA αλλάζοντας την έκφραση γονιδίων, με συνέπεια να μπλοκάρουν μεταγραφικά μονοπάτια, αναστέλλοντας τη μεταφορά μηνυμάτων. Το σύμπλοκο AP-1 (μορφές c-jun, c-fos), είναι μεταγραφικός παράγοντας που προκαλεί την παραγωγή πρωτεασών. Οι πολυφαινόλες αναστέλλουν τη μεταγραφή του AP-1, εμποδίζοντας το μετασχηματισμό του DNA. Έτσι, προκαλούν την έκφραση πρωτεϊνών, που συνδέονται με τη μορφή c-jun και σχηματίζουν ετεροδιμερή που μειώνουν την ενεργοποίηση γονιδίων που προκαλούν καρκινογένεση (Duthie et al., 2000; Fujiki, 1997). Επίσης, οι πολυφαινόλες του τσαγιού φαίνεται να αναστέλλουν τη δράση της τελομεράσης, ενζύμου που προωθεί το συνεχή πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων (Wollgast and Anklam, 2000), ενώ υπορυθμίζουν τις κυκλίνες E και D (Thangapazham, 2006).

2.8.10 Απορύθμιση ενδοκυτταρικής επικοινωνίας

Η επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων μέσω μεμβρανικών υποδοχέων είναι κρίσιμη στη ρύθμιση φυσιολογικής κυτταρικής ομοιόστασης, διότι βοηθάει τη μεταφορά ουσιών ανάμεσα στα κύτταρα, ενώ αλλαγές στην επικοινωνία και στις συνδέσεις του κυττάρου αποτελεί παράγοντα κινδύνου καρκινογένεσης. Τα φλαβονοειδή αναστέλλουν, μέσω γονιδιακής επίδρασης, το νεοπλασματικό μετασχηματισμό των καρκινικών κυττάρων (Duthie et al., 2000).

Η p-γλυκοπρωτεΐνη είναι μια μεμβρανική πρωτεΐνη που συνεισφέρει στην κυτταρική άμυνα έναντι των φυσικών xenobiotics, αποτρέποντας τη μετατροπή τους σε καρκινογόνες ουσίες. Οι πολυφαινόλες αλλάζουν το επίπεδο φωσφορυλίωσης των μεμβρανών ή ρυθμίζουν την έκφραση των p-γλυκοπρωτεϊνών αυξάνοντας την ικανότητα τους να αντιδρούν με τα xenobiotics. Για παράδειγμα, η κερσετίνη αναστέλλει τη δράση της adriamycin στα MCF-7 κύτταρα του μαστού (Duthie et al., 2000; Wollgast and Anklam, 2000), ενώ πολλά φρούτα και λαχανικά έχει βρεθεί ότι έχουν ικανότητα απομάκρυνσης καρκινογόνων ουσιών μέσω της προώθησης της δράσης του ενζύμου phenolsulfotransferase (Yeh and Yen, 2005; Steffan et al., 2005).

2.8.11 Επίδραση πολυφαινολών στον εντερικό σωλήνα

Τρόφιμα πλούσια σε πολυφαινόλες, όπως το τσάι, φαίνεται ότι επιδρούν ευεργετικά στο πεπτικό σύστημα, τόσο στη στοματική κοιλότητα και τον οισοφάγο, όσο και στο στομάχι, το λεπτό και το παχύ έντερο. Έχει βρεθεί ότι η κατανάλωση πράσινου τσαγιού αυξάνει την αντοχή των δοντιών στα βακτήρια, ενώ αναστέλλει το σχηματισμό οδοντικής πλάκας και τερηδόνας και ενισχύει το σμάλτο των δοντιών (Ishihara et al., 1999).

Πληθώρα επιδημιολογικών μελετών εμφανίζουν αντίστροφη σχέση ανάμεσα στην κατανάλωση πράσινου τσαγιού και τον καρκίνο του στομάχου. Ένας πιθανός λόγος της ευεργετικής δράσης κατά του καρκίνου του στομάχου είναι η παρεμπόδιση της ανάπτυξης του μικροοργανισμού *Helicobacter pylori*, ο οποίος ευθύνεται για την καρκινογένεση στο στομάχι και στο δωδεκαδάκτυλο και του ενζύμου urease, το οποίο προωθεί την ανάπτυξη τέτοιων μικροοργανισμών εντός των πεπτικών υγρών. Ένας άλλος μηχανισμός αφορά την αναστολή δράσης καρκινογόνων παραγόντων. Οι κατεχίνες αντιδρούν με τις δευτεροταγείς αμίνες και αμίδια δίνοντας κινόνες, με αποτέλεσμα να μειώνουν το σχηματισμό καρκινογόνων νιτροζαμίνων και νιτροζοαμιδίων.

Ένας από τους κυριότερους λόγους που πολλές επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν ότι η κατανάλωση πολυφαινολών μειώνει τον κίνδυνο καρκίνου του λεπτού και του παχέος εντέρου είναι η δυνατότητα τους να αναστέλλουν τη δράση επιβλαβών μικροοργανισμών και να βελτιώνουν την εντερική μικροχλωρίδα. Εκχυλίσματα τσαγιού σε in vitro πειράματα, που επιβεβαιώθηκαν σε in vivo μελέτες σε ανθρώπους, αύξησαν τη δράση των ευεργετικών μικροοργανισμών, όπως τα *Bifidobacteria*, ενώ μείωσαν τη δράση των επιβλαβών κλωστρίδιων, σταφυλοκόκκων κ.α. Παράλληλα μείωσαν τις προκαρκινογόνες ουσίες και διατήρησαν το PH σε χαμηλά επίπεδα.

Επιδημιολογικές μελέτες αναφέρουν ότι κατανάλωση πράσινου τσαγιού πάνω από 10 φλιτζάνια την ημέρα μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο καρκίνου του παχέος εντέρου. Η αναστολή από τις πολυφαινόλες της έκφρασης της κυκλοξυγενάσης και της NO συνθάσης στο κόλον, αποτρέπει την κολίτιδα και την εντερική νεοπλασία. Η αποτροπή του καρκίνου του παχέος εντέρου οφείλεται και στην προώθηση της

κυτταρικής απόπτωσης, μέσω επίδρασης στην G0 κυτταρική φάση και αναστολή της topoisomerase I (Ishihara et al., 1999; Koo and Cho, 2004).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

3. Πειραματικό μέρος

3.1 Μέθοδοι προσδιορισμού φαινολικών ενώσεων

3.1.1 Μέθοδος προσδιορισμού ολικών φαινολών (Folin Ciocalteu).

- **Αντιδραστήρια**
Folin Ciocalteu
Υδατικό διάλυμα Na_2CO_3 20%. w/v
Δις απεσταγμένο νερό
- **Εξοπλισμός**
Φασματοφωτόμετρο Hitachi V-2900
Φυγόκεντρος SPD111V

Η μέθοδος αυτή περιγράφει τον ποσοτικό προσδιορισμό των συνολικών φαινολικών συστατικών. Τα ολικά φαινολικά που περιέχονται στους αρχικούς οίνους και στα παραγόμενα από αυτούς κλασματα, προσδιορίζονται με τη βοήθεια φασματοφωτομέτρου υπεριώδους-ορατού (UV-vis) διπλής δέσμης, με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu και μέτρηση της απορρόφησης στα 765nm. Η μέθοδος βασίζεται στην αναγωγή (και ταυτόχρονη οξείδωση φαινολικών συστατικών δείγματος) διαλύματος φωσφορομολυβδενικού και φωσφοροβολφραμικού οξέος (Folin-Ciocalteu reagent) σε φωσφορομολυβδενικό/φωσφοροβολφραμικό-φαινολικό σύμπλοκο, μπλε χρώματος και σε αλκαλικό περιβάλλον :

Phenolics + alkaline + FC reagent → blue colored product, Abs 765nm

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των ολικών φαινολικών γίνεται με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης γαλλικού οξέος, ενώ δεν είναι δυνατή η ταυτοποίηση κάθε ένωσης ξεχωριστά. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg γαλλικού οξέος/g ξηρού βάρους. Η ποσότητα δείγματος και διαλύματος αντιδραστηρίου FC, καθώς και το μήκος κύματος που μετράται η απορρόφηση προσαρμόζονται ανάλογα με την περίπτωση και τις συνθήκες του πειράματος. (Sokmen et al., 2005; Peng Wong et al., 2005; Luximon-Ramma et al., 2005 ; Singleton and Rosi, 1965; Scerget et al., 2004).

3.1.1.1 Κατασκευή πρότυπης καμπύλης μεθόδου Folin Ciocalteu

Προτού εφαρμόσουμε την πειραματική πορεία της μεθόδου προηγήθηκε η κατασκευή της πρότυπης καμπύλης. Για το σκοπό αυτό παρασκευάσαμε πρότυπα υδατικά διαλύματα γαλλικού οξέος συγκεντρώσεων 5,10,20,30,40,50 mg/100ml στα οποία εφαρμόσαμε την μέθοδο. Συγκεκριμένα, ακολουθήθηκε η παρακάτω πειραματική πορεία. Σε eppendorf tube του 1,5 ml προσθέτουμε

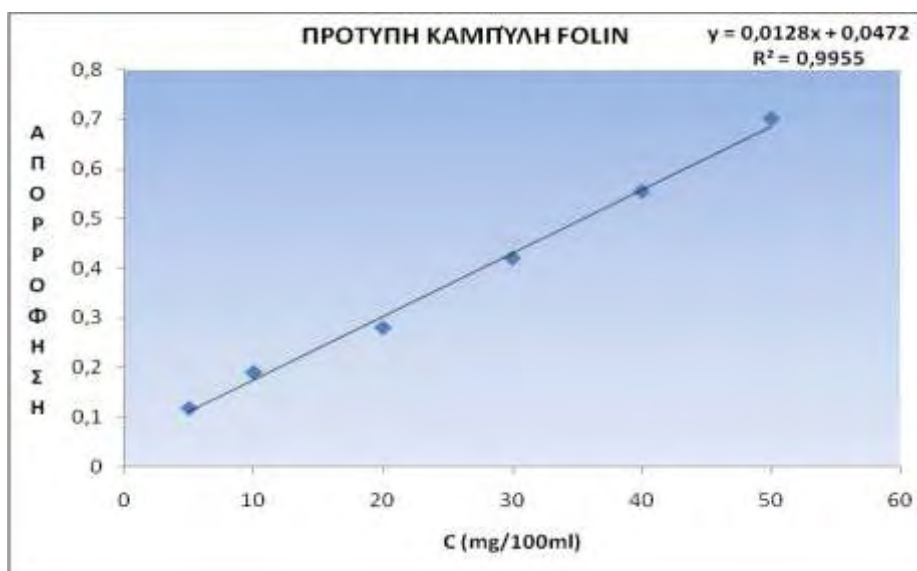
- 790 µl απιονισμένου νερού
- 10 µl από το κάθε πρότυπο διάλυμα
- 50 µl αντιδραστήριο folin ciocalteu, και ακολουθεί ανακίνηση
- Αναμονή 1 λεπτό, προσθήκη
- 150 µl υδατικού διαλύματος 20% Na_2CO_3

- Ανακίνηση και αναμονή για 120 λεπτά σε σκοτεινό περιβάλλον.
- Μέτρηση απορρόφησης στα 760 nm.

Οι απορροφήσεις του κάθε προτύπου διαλύματος φαίνονται στον παρακάτω πίνακα, από τις οποίες κατασκευάσαμε την πρότυπη καμπύλη.

Πίνακας 10: Απορροφήσεις πρότυπων διαλυμάτων για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης μεθόδου Folin Ciocalteu

Συγκέντρωση πρότυπου διαλύματος (mg/100ml)	Απορρόφηση 760 nm (Abs)
5	0,118
10	0,19
20	0,28
30	0,42
40	0,554
50	0,7



3.1.2 Μέθοδος προσδιορισμού ολικών φλαβονοειδών (Total Flavonoids Content TFC)

Η μέθοδος αυτή περιγράφει τον ποσοτικό προσδιορισμό των συνολικών φλαβονοειδών. Τα ολικά φλαβονοειδή που περιέχονται στους αρχικούς οίνους και στα παραγόμενα από αυτούς κλάσματα, προσδιορίζονται με τη βοήθεια φασματοφωτομέτρου υπεριώδους-ορατού (UV-vis) διπλής δέσμης, με τη μέθοδο TFC (total flavonoid content) και μέτρηση της απορρόφησης στα 510 nm. (Maria del Alamo et al, 2004. Verzelloni et al 2007)

3.1.2.1 Κατασκευή πρότυπης καμπύλης μεθόδου TFC

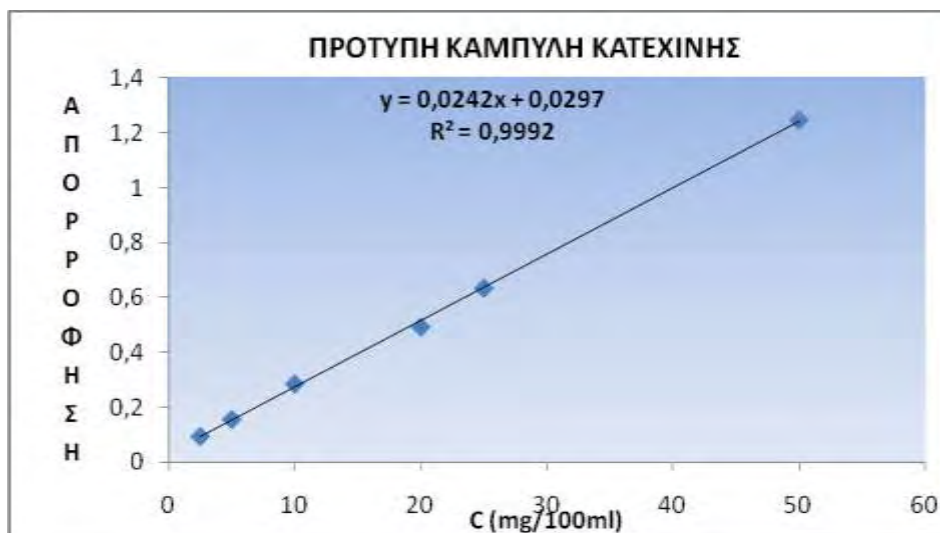
- **Αντιδραστήρια**
Υδατικό διάλυμα NaNO_2 5% w/v
Υδατικό διάλυμα AlCl_3 10% w/v
Υδατικό διάλυμα NaOH 1M
Δις απεσταγμένο νερό
- **Εξοπλισμός**
Φασματοφωτόμετρο Hitachi V-2900
Φυγόκεντρος SPD111V

Όπως και στην προηγούμενη μέθοδο προτού εφαρμόσουμε την πειραματική πορεία προηγήθηκε η κατασκευή της πρότυπης καμπύλης. Για το σκοπό αυτό παρασκευάσαμε πρότυπα υδατικά διαλύματα κατεχίνης συγκεντρώσεων 2,5 5,10,20,25,50 mg/100ml στα οποία εφαρμόσαμε την μέθοδο. Συγκεκριμένα, ακολουθήθηκε η παρακάτω πειραματική πορεία. Σε δοκιμαστικό σωλήνα των 10 ml προσθέτουμε,

- 1 ml προτύπου δ/τος
- 4 ml απιονισμένου νερού
- 0,3 ml υδατικού διαλύματος NaNO_2 5%
- Αναμονή για 5 λεπτά, προσθήκη
- 0,3 ml υδατικού διαλύματος AlCl_3 10%, αναμονή για 1 λεπτό, προσθήκη
- 2 ml NaOH 1M, και προσθήκη έως τον όγκο των 10 ml με απιονισμένο νερό
- Μέτρηση απορρόφησης στα 510 nm.

Οι απορροφήσεις του κάθε προτύπου διαλύματος φαίνονται στον παρακάτω πίνακα, από τις οποίες κατασκευάσαμε την πρότυπη καμπύλη.

Πίνακας 11: Απορροφήσεις πρότυπων διαλυμάτων για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης μεθόδου TFC



Συγκέντρωση πρότυπου διαλύματος (mg/100ml)	Απορρόφηση 510 nm (Abs)
2,5	0,118
5	0,19
10	0,28
20	0,42
25	0,554
50	0,7

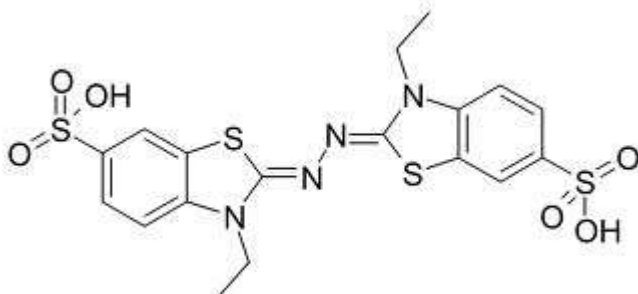
3.2 Προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στο πλάσμα και στους ιστούς

Ο προσδιορισμός της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας αποτελεί την πιο διαδεδομένη μέθοδο αξιολόγησης της βιοδιαθεσιμότητας των φαινολικών ενώσεων. Δεδομένης της μεγάλης αντιοξειδωτικής ικανότητας των φαινολικών ενώσεων η αύξηση της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στο πλάσμα ή τους ιστούς μετά από την κατανάλωση ενός τροφίμου πλούσιου σε πολυφαινόλες, θεωρείται ότι οφείλεται κατά κύριο λόγο σε αυτές. Η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα (Total Antioxidant Capacity, TAC) υπολογίζεται με πληθώρα μεθόδων *in vitro* σε διάφορα τρόφιμα, ποτά και βότανα. Μετά από κατάλληλη προσαρμογή οι ίδιες μέθοδοι χρησιμοποιούνται και για τον προσδιορισμό της TAC *in vivo*, στο πλάσμα και τους ιστούς, ενώ έχουν βρεθεί και μέθοδοι προσαρμοσμένες αποκλειστικά στη μέτρηση της TAC στους οίνους. (Verzelloni et al 2007, Tabart et al 2009)

3.2.1 Η μέθοδος TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

Η μέθοδος TEAC ή ABTS βασίζεται στην αναστολή από τα αντιοξειδωτικά, όπως οι φαινολικές ενώσεις, της απορρόφησης του 2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate) (ABTS. +):

Σχήμα 17: δομή ABTS+



το οποίο εμφανίζει χαρακτηριστική απορρόφηση στα 734nm. Το προσχηματισμένο κατιόν ABTS + είναι ένα πράσινο-μπλε χρωμοφόρο που με προσθήκη αντιοξειδωτικών ανάγεται σε ABTS. Το σταθερό διάλυμα ABTS + παρασκευάζεται με την αντίδραση υδατικού διαλύματος ABTS με διάλυμα potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) και παραμονή του μίγματος στο σκοτάδι για 24h. Η αρχική μέθοδος βασίζεται στην ενεργοποίηση της metmyoglobin, δρώντας ως υπεροξειδάση, με H_2O_2 μέσω του σχηματισμού ριζών ferrymyoglobin, οι οποίες εν συνεχεία οξειδώνουν το ABTS σχηματίζοντας ABTS. +. Ανάλογα με την περίπτωση έχουν σχεδιαστεί διάφορες τεχνικές εφαρμογής της μεθόδου, σύμφωνα με τις οποίες η απορρόφηση του μίγματος με το αντιοξειδωτικό μετράται μετά τη σταθεροποίηση του μίγματος, οπότε το χρώμα είναι σταθερό ή πριν την έναρξη της αντιοξειδωτικής αντίδρασης.

Κατά την εφαρμογή της μεθόδου, οι σχηματιζόμενες ρίζες ABTS + αναμειγνύονται με το δείγμα (που περιέχει πολυφαινόλες) σε ένα μέσο αντίδρασης και υπολογίζεται το ποσοστό της αναστολής της απορρόφησης στα 734nm, το οποίο καθορίζει την ποσότητα των πολυφαινολών. Η χρήση του Trolox ως πρότυπο επιτρέπει την ονομασία της μεθόδου TEAC. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμο Trolox, που ορίζονται ως τη συγκέντρωση του διαλύματος Trolox (mmol/l), με ένα δυναμικό ισοδύναμο αντιοξειδωτικού σε 1mmol/l διαλύματος του δείγματος.

3.2.1.1 Κατασκευή πρότυπης καμπύλης μεθόδου TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

- **Αντιδραστήρια**
 - Υδατικό διάλυμα 2,45 mM $K_2S_2O_8$
 - Trolox
 - Υδατικό διάλυμα ABTS 7mM
 - Δις απεσταγμένο νερό
- **Εξοπλισμός**
 - Φασματοφωτόμετρο Hitachi V-2900
 - Φυγόκεντρος SPD111V

Όπως και στην προηγούμενη μέθοδο, προτού εφαρμόσουμε την πειραματική πορεία προηγήθηκε η κατασκευή της πρότυπης καμπύλης. Για το σκοπό αυτό παρασκευάσαμε πρότυπα υδατικά διαλύματα Trolox συγκεντρώσεων 0,01, 0,02, 0,04, 0,08 και 0,1mM στα οποία εφαρμόσαμε την μέθοδο. Συγκεκριμένα, ακολουθήθηκε η παρακάτω πειραματική πορεία. Σε εppedolf των 2 ml προσθέτουμε,

- 5 μl προτύπου διαλύματος
- 1 ml ABTS + (παρασκευάζεται με την ανάμειξη 7 mmol/lit ABTS και 2,45 mmol/lit K₂S₂O₈) και παραμένει στο σκοτάδι για 24 ώρες πριν την χρήση του και αφού η απορρόφηση του ρυθμιστεί στο 0,7 με αιθανόλη.
- Αναμονή για 20 min και μέτρηση της απορρόφησης στα 734 nm.

Η % μείωση της απορρόφησης του κάθε προτύπου διαλύματος σε σχέση με το αρχικό ABTS+ φαίνονται στον παρακάτω πίνακα με βάση τις οποίες κατασκευάσαμε και τη πρότυπη καμπύλη.

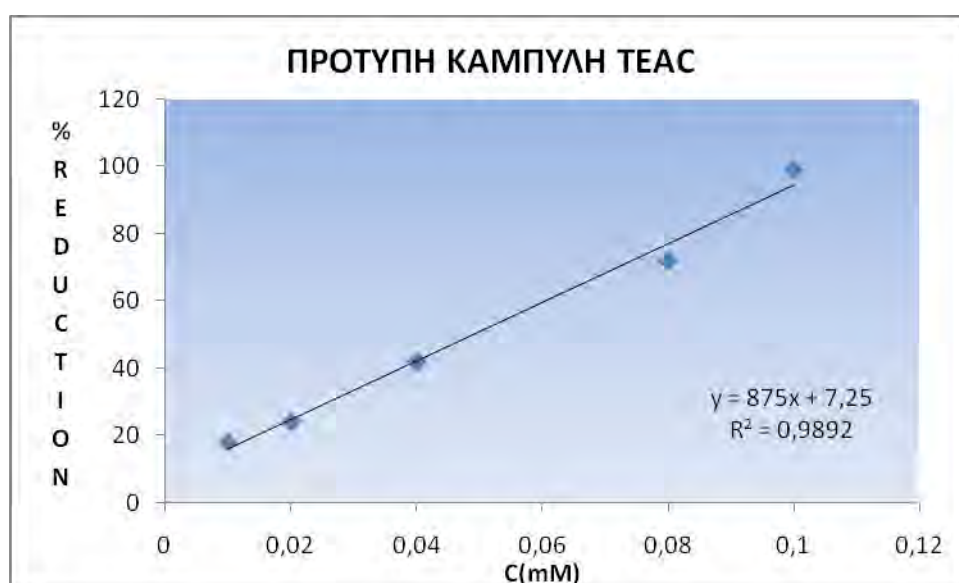
Πίνακας 12: Η % μείωση της απορρόφησης του κάθε προτύπου διαλύματος σε σχέση με το αρχικό ABTS+

Συγκέντρωση πρότυπου διαλύματος trolox (mM)	% reduction
0,01	18
0,02	24
0,04	42
0,08	72
0,1	99

$$\% \text{ reduction} = [(A_B - A_A) / A_B] \times 100$$

A_B=Απορρόφηση τυφλού δείγματος

A_A=Απορρόφηση προτύπου



3.3 Πειραματική πορεία

3.3.1 Επιλογή οίνων

Οι οίνοι που επιλέχθηκαν στην συγκεκριμένη διατριβή είναι από τις περιοχές:

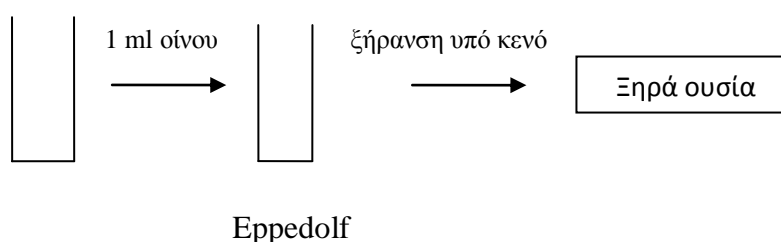
1. Νομός Καρδίτσας ζώνη ΟΠΑΠ Μέσενικόλα (ποικιλία Μαυρο Μεσενικόλα).
2. Νομός Καρδίτσας περιοχή Βούναινα (ποικιλία syrah).
3. Νομός Λάρισας ζώνη ΟΠΑΠ Ραψάνη (ξινόμαυρο, κρασάτο, σταυρωτό).
4. Νομός Λάρισας, επαρχία Τύρναβου (ποικιλία μοσχάτο Αμβούργου).

Τα κριτήρια επιλογής των 4 συγκεκριμένων οίνων ήταν:

- Η ύπαρξη της ζώνης ΟΠΑΠ (οίνοι Ονομασίας Προέλευσης Ανωτέρας Ποιότητας), όπου επιλέχθηκαν δύο οίνοι.
- Η σημαντική ανάπτυξη της αμπελοκαλλιέργειας τα τελευταία χρόνια σε συγκεκριμένες περιοχές, με την παραγωγή.

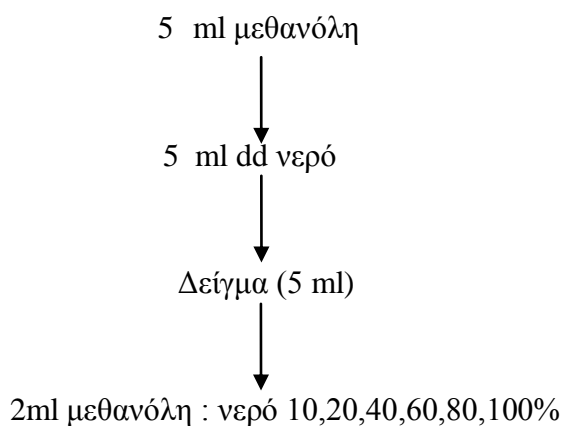
3.3.2 Ξήρανση υπό κενό.

Για κάθε οίνο πήραμε 10 erpedolf στα οποία τοποθετήσαμε από 1 ml οίνου και τα ξεράναμε υπό κενό στους 38 βαθμούς κελσίου με φυγοκέντρηση στα 17000 g, μέχρι την λήψη ξηρού υπολείμματος. Η συγκεκριμένη τεχνική εφαρμόστηκε για να απομακρυνθεί η αλκοόλη που θα παρεμπόδιζε την ακρίβεια των περεταίρω μετρήσεων. Μετά το τέλος της ξήρανσης και την παραλαβή του στερεού υπολείμματος, η εναπομείνασα ποσότητα του ζυγίστηκε. Συνεπώς, στο τέλος της διαδικασίας για κάθε οίνο είχαμε 10 erpedolf με ζυγισμένη την ποσότητα ξηρού υπολείμματος στο καθένα.



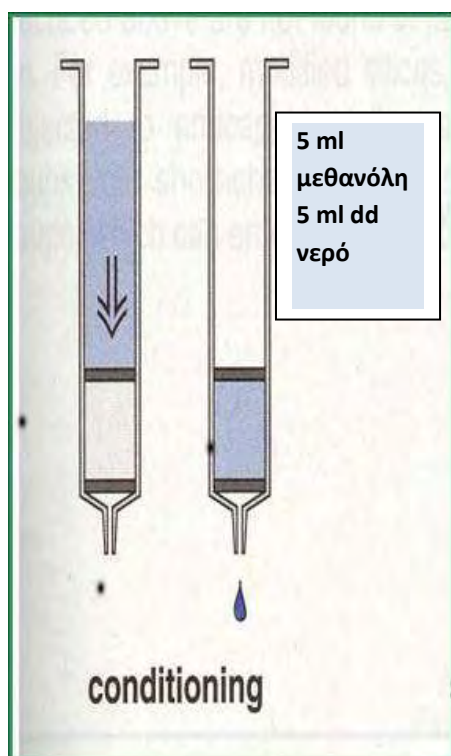
3.3.3 Κλασμάτωση, Εκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction).

Για κάθε οίνο επιλέχθηκαν 2 επreddolfs (στα οποία αφού καταγράψαμε την ποσότητα της στερεάς ουσίας που περιείχαν) τα επαναδιαλύσαμε με 2 ml απιονισμένο νερό μέχρι τον τελικό όγκο των 5 ml. Στη συνέχεια ακολούθησε η διαδικασία της κλασμάτωσης με εκχύλιση στερεάς φάσης, όπου στο κάθε cartridge φορτώθηκαν τα εξής:

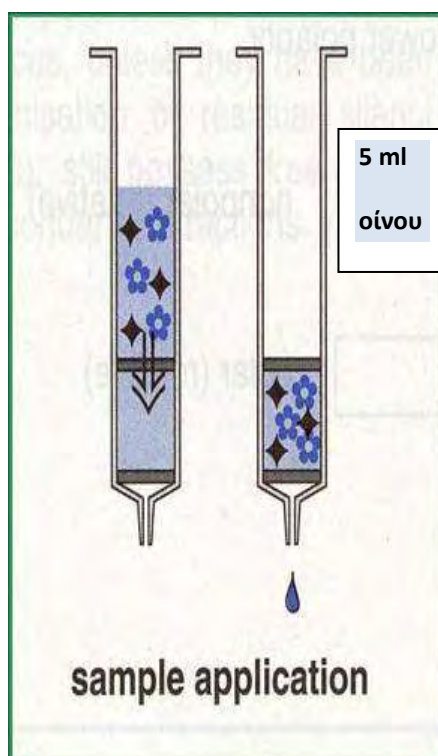


Συνοπτικά η διαδικασία φαίνεται στο παρακάτω σχήμα:

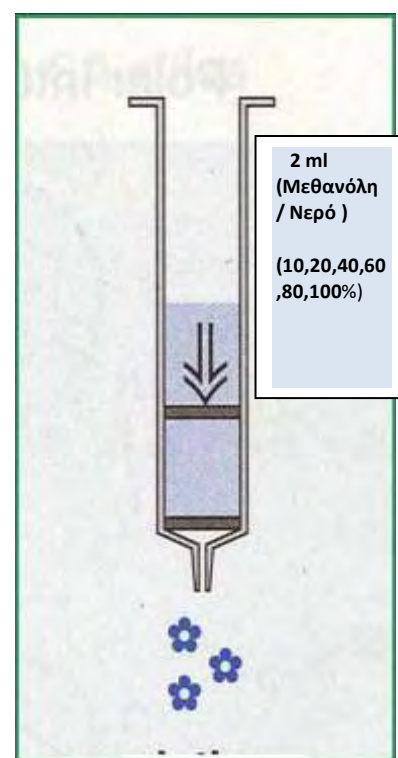
1. Φάση σταθεροποίησης στήλης



2. Φόρτωση δείγματος



3. Βαθμιδωτή έκλουση



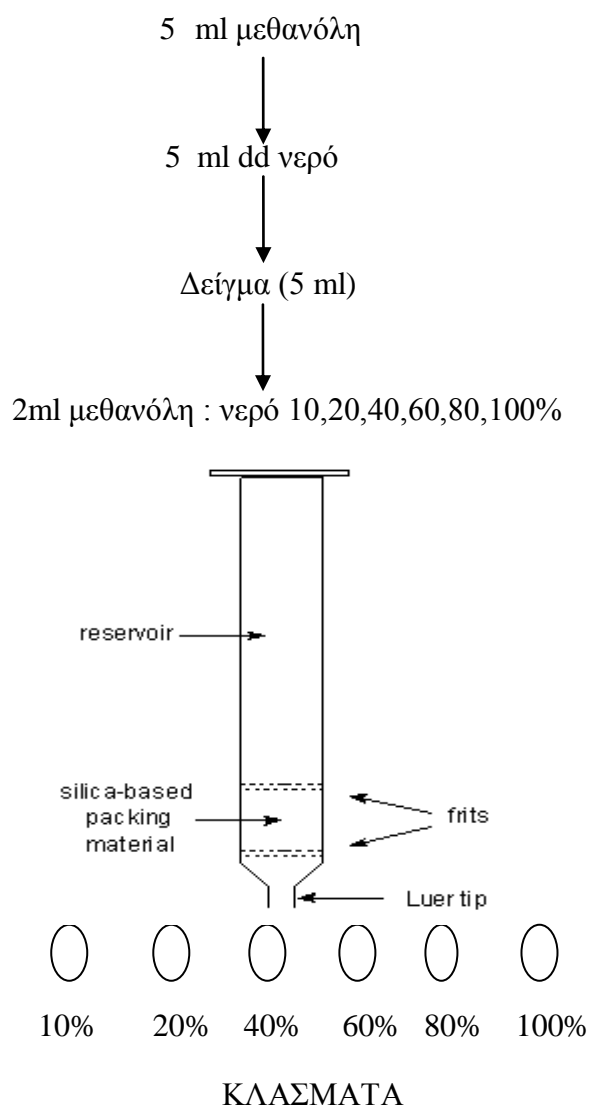
Συσκευή εκχύλισης στερεάς φάση (solid phase extraction)

Σχήμα 18: Διαδικασία κλασμάτωσης

Με την εφαρμογή της παραπάνω διαδικασίας επιτύχαμε:

- Την απομάκρυνση ουσιών που θα παρεμπόδιζαν την ακρίβεια των μετρήσεων
- Τον διαχωρισμό των διαφόρων φαινολικών (φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα, τανίνες, ανθοκυάνες, κατεχίνες) ομάδων σε κλάσματα.

Συνοπτικά, στο τέλος της διαδικασίας κλασμάτωσης για κάθε αρχικό οίνο προέκυψαν 6 κλάσματα. Τα οποία επεναξηράνθηκαν υπό κενό μέχρι την παραλαβή στερεού υπολείμματος και καταγράφηκε το ξηρό βάρος τους. Η όλη διαδικασία φαίνεται παρακάτω στο σχήμα 19:



Σχήμα 19: Πειραματική πορεία κλασμάτωσης.



3.3.4 Περιγραφή και χαρακτηρισμός κλασμάτων

Στα συλλεγόμενα κλάσματα θα γίνει περιγραφή και χαρακτηρισμός με την εφαρμογή των πειραματικών μεθόδων που αναφέρθηκαν στις παραγράφους 3.1 και 3.2.

Συγκριμένα σε κάθε κλάσμα θα γίνουν μετρήσεις ως προς :

- Περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες, εφαρμογή δείκτη **Folin Ciocalteu**. Πρόκειται για μια φασματοφωτομετρική μέθοδος στην οποία γίνεται ποσοτικός προσδιορισμός των φαινολικών συστατικών που υπάρχουν στους οίνους.
- Προσδιορισμός ολικών φλαβονοειδών. **Μέθοδος TFC (Total Flavonoid Content)** η οποία θα χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση φλαβονοειδών φαινολών (κατεχίνες, επικατεχίνες).
- Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των κλασμάτων. **Μέθοδος TEAC(Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)**. Η μέθοδος στηρίζεται στον υπολογισμό της αναστολής από τα φαινολικά συστατικά του οίνου του αντιδραστηρίου ABTS που παρουσιάζει χαρακτηριστική απορρόφηση. Ο υπολογισμός γίνεται βάση των απορροφήσεων προτύπων διαλυμάτων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

4.Αποτελέσματα

Στη συγκεκριμένη παράγραφο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των τιμών των τριών δεικτών που μετρήθηκαν (ολικές φαινόλες, ολικά φλαβονοειδή ,αντιοξειδωτική ισχύς) για τους τέσσερις παραγόμενους οίνους της Θεσσαλίας και των παραγόμενων από αυτούς κλασμάτων.

Όσων αφορά τους πίνακες, σε αυτούς βλέπουμε τα αριθμητικά αποτελέσματα του κάθε δείκτη για τον αρχικό οίνο και τα παραγόμενα έξι κλάσματα. Όπως φαίνεται και σε κάθε πίνακα τόσο η διαδικασία της εκχύλισης στερεάς φάσης όσο και η μέτρηση του κάθε δείκτη έγινε τρεις φορές για λόγους επαναληψιμότητας των αποτελεσμάτων. Πριν την διαδικασία της εκχύλισης της στερεάς φάσης η επαναδιάλυση του ξηρού υπολείμματος των οίνων και των κλασμάτων έγινε με απιονισμένο νερό για την 1^η και 2^η επανάληψη και με μεθανόλη για την 3^η. Κατά την διαδικασία επαναδιάλυσης με νερό της στερεάς φάσης του κλάσματος 60% (μεθανόλη/ νερό) του οίνου από την περιοχή Βούναινα, παρατηρήθηκε ίζημα που φανερώνει την μη πλήρη διάλυση του στερεού υπολείμματος. Για τον λόγο αυτό έγινε επαναδιάλυση του κλάσματος με μεθανόλη όπου και δεν υπήρξε ίζημα. Έτσι αποφασίστηκε στην 3^η επανάληψη η επαναδιάλυση σε όλα τα κλάσματα να γίνει με μεθανόλη για να διαπιστωθεί όπως και έγινε η επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων των δεικτών για τις τρεις επαναλήψεις. Από τα παραπάνω εξηγείτε η παρουσία δυο αριθμητικών τιμών στον πίνακα με τα αποτελέσματα του κλάσματος 60%(μεθανόλη /νερό) του οίνου από την περιοχή Βούναινα, όπου μέσα στην παρένθεση είναι η τιμή του δείκτη για το κλάσμα που δεν διαλύθηκε πλήρως.

Όσων αφορά τα γραφήματα, σε αυτά παρουσιάζεται η πορεία (αυξομείωση) της τιμής του κάθε δείκτη για τα έξι κλάσματα που προέκυψαν από του 4 οίνους. Σε κάθε γράφημα έχουμε τρεις γραμμές με μπλέ κόκκινο και πράσινο χρώμα που η κάθε μία αφορά την κάθε επανάληψη. Η επαναληψιμότητα και η ακρίβεια των αριθμητικών τιμών οδηγεί στην σύμπτωση των τριών γραμμών ώστε να μην ξεχωρίζουν μεταξύ τους. Μόνο στην περίπτωση του κλάσματος 60%(μεθανόλη/νερο) του οίνου από την περιοχή Βούναινα υπάρχει απόκλιση της πορείας της τρίτης γραμμής για τον λόγο που αναφέραμε προηγουμένως.

Από τους πίνακες των αποτελεσμάτων των δεικτών, παρατηρούμε αύξηση των τιμών των δεικτών από το κλάσμα 10%(μεθανόλη/νερό) έως το κλάσμα 40% (μεθανόλη/νερό) και μείωση έως το τελευταίο κλάσμα. Αυτή πορεία αυξομείωσης των τιμών παρατηρήθηκε σε όλα τα κλάσματα των τεσσάρων οίνων. Αυτή η αυξομείωση παρατηρήθηκε και χρωματικά παρόλο που δεν μετρήσαμε την ένταση του χρώματος κάθε κλάσματος.

Τέλος από την παραπάνω διαπίστωση της αυξομείωσης των τιμών των δεικτών στα έξι κλάσματα των 4 οίνων προκύπτει ότι η αντιοξειδωτική ισχύς του κάθε οίνου συσχετίζεται με την περιεκτικότητά του σε ολικές φαινόλες και φλαβονοειδή.

Πίνακας 13: Αποτελέσματα δεικτών οίνου από την περιοχή Βούναινα

ΚΛΑΣΜΑΤΑ	Total phenols (mg/100ml)			Total flavonoids (mg/100ml)			Antioxodant activity (% reduction)		
	1 ^η επανάληψη	2 ^η επανάληψη	3 ^η επανάληψη Μεθανόλη*	1 ^η επανάληψη	2 ^η επανάληψη	3 ^η επανάληψη Μεθανόλη*	1 ^η επανάληψη	2 ^η επανάληψη	3 ^η επανάληψη Μεθανόλη*
10%	60,6	60,1	60,4	8,85	8,87	8,8	86	85,7	85,8
20%	92,8	91,8	92	17,2	17	17,5	90	89,8	90,1
40%	146,8	147	147	29,18	29	30	98,5	99	99
60%	30,2(12,2)**	30,2(12,1)**	30,2	16,8(8,1)**	16,8(8,2)**	16,8	52,6(18,1)**	52,6(18,2)**	52,5
80%	0,85	0,86	0,84	5,3	5,1	5	42	41,8	41
100%	0	0	0	0,8	0,82	0,8	30	31	31,4
Οίνος	360,2			80,2			98,8		

*επαναδιάλυση ξηρού υπολείμματος με 100% μεθανόλη

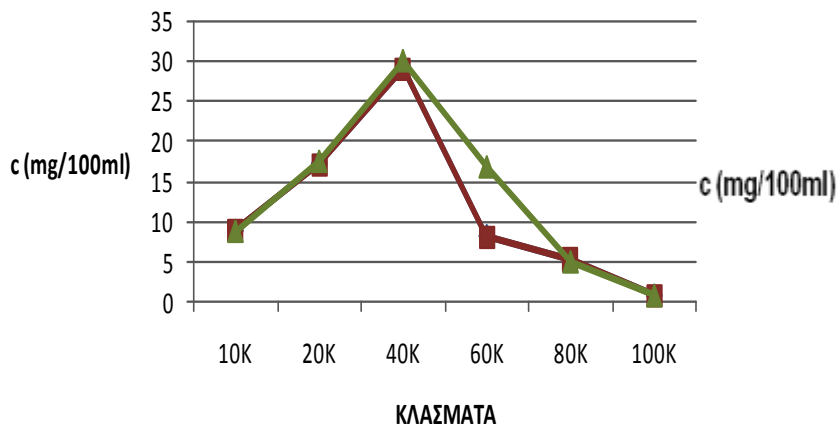
**τιμή του κλάσματος που δεν επαναδιαλύθηκε πλήρως με 100% νερό

Πίνακας 14: Αρχική-μεταφερόμενη ξηρά ουσία στα διάφορα κλάσματα (οίνος από περιοχή Βούναινα)

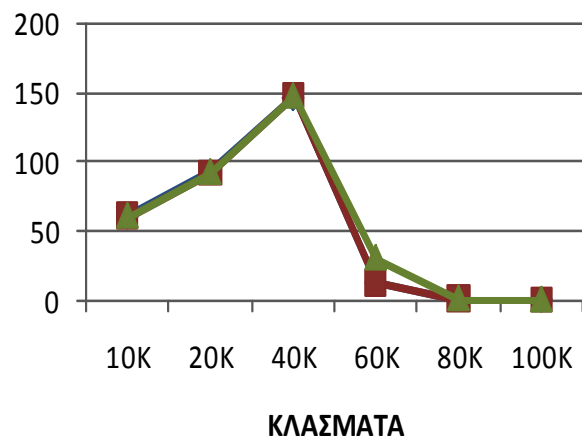
Αρχική ποσότητα ξηρής ουσίας (g)			Κλάσματα	Ποσότητα ξηρής ουσίας 1 ^η επανάληψη (g)	Ποσότητα ξηρής ουσίας 2 ^η επανάληψη (g)	Ποσότητα ξηρής ουσίας 3 ^η επανάληψη (g)
1 ^η	2 ^η	3 ^η				
0,12	0,119	0,098	10%	0,018	0,018	0,015
			20%	0,005	0,005	0,04
			40%	0,007	0,007	0,006
			60%	0,005	0,005	0,004
			80%	0,003	0,003	0,003
			100%	0,002	0,002	0,001

**Διαγράμματα Δεικτών οίνου από
την περιοχή Βούναινα**

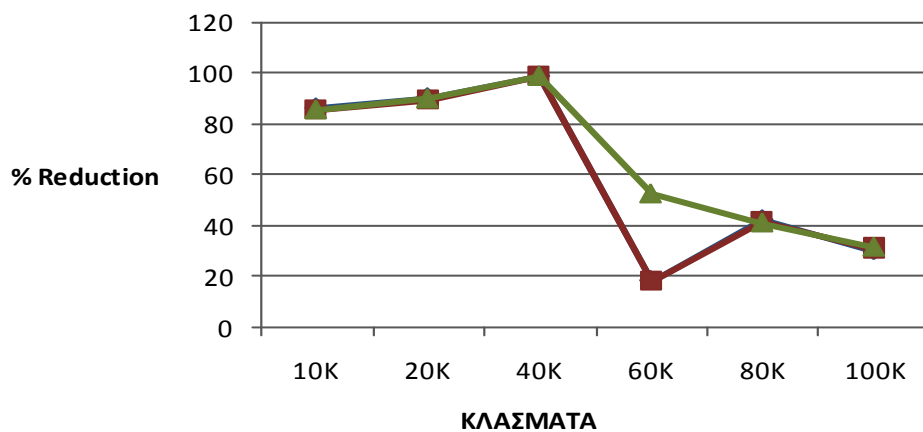
Δείκτης ολικών φλαβονοειδών (Βουναινα)



Δείκτης folin ciocalteu (Βούναινα)



Μέθοδος TEAC (Βούναινα)



**Πίνακας 15: Αποτελέσματα δεικτών οίνου
από την περιοχή Μεσενικόλα**

ΚΛΑΣΜΑΤΑ	Total phenols (mg/100ml)			Total flavonoids (mg/100ml)			Antioxodant activity (% reduction)		
	1 ^η επανάληψη	2 ^η επανάληψη	3 ^η επανάληψη Μεθανόλη*	1 ^η επανάληψη	2 ^η επανάληψη	3 ^η επανάληψη Μεθανόλη*	1 ^η επανάληψη	2 ^η επανάληψη	3 ^η επανάληψη Μεθανόλη*
10%	37	37,25	37,3	5,6	5,63	5,58	69	69,5	68,8
20%	47,6	47,2	47,5	7,36	7,35	7,34	76,6	76,5	76,2
40%	53,6	-	53,8	10,2	-	10,3	83,2	83	83,2
60%	13,9	13,6	13,6	3,11	3,09	3,12	45,4	44	45,5
80%	0	0	0	0	0	0	13,5	13,1	13,4
100%	0	0	0	0	0	0	10,4	10	10,2
Οίνος	186,8			32,2			84,6		

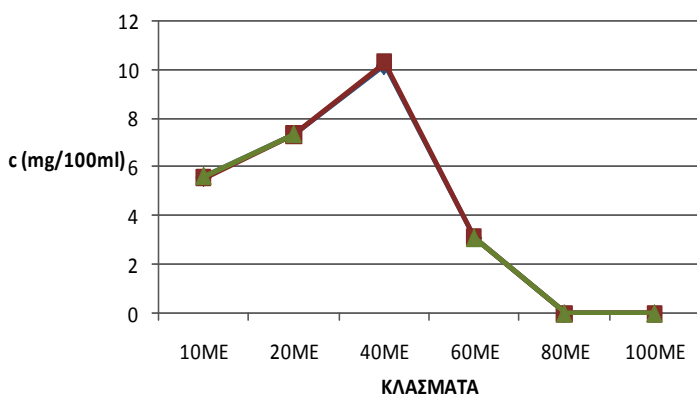
*επαναδιάλυση ξηρού υπολείμματος με 100% μεθανόλη

**Πίνακας 16: Αρχική-μεταφερόμενη ξηρά
ουσία στα διάφορα κλάσματα
(οίνος από την περιοχή Μεσενικόλα)**

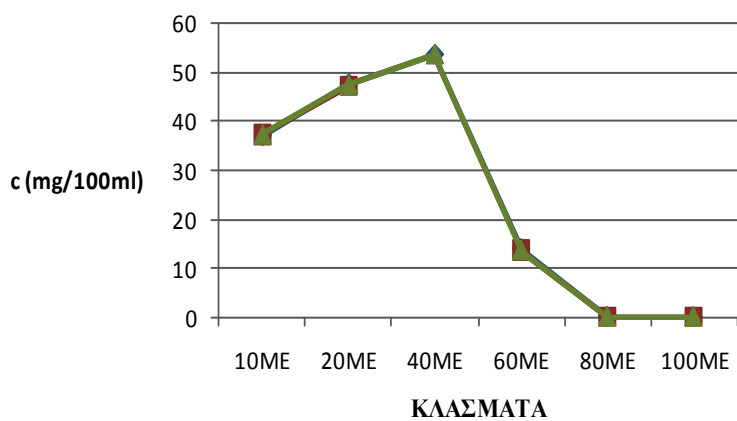
Αρχική ποσότητα ξηρής ουσίας (g)			Κλάσματα	Ποσότητα ξηρής ουσίας 1 ^η επανάληψη	Ποσότητα ξηρής ουσίας 2 ^η επανάληψη	Ποσότητα ξηρής ουσίας 3 ^η επανάληψη
1 ^η	2 ^η	3 ^η		(g)	(g)	(g)
0,072	0,074	0,052	10%	0,005	0,007	0,008
			20%	0,001	0,002	0,002
			40%	0,002	0,003	0,003
			60%	0,001	0,001	0,001
			80%	0	0	0
			100%	0	0	0

**Διαγράμματα Δεικτών οίνου από
την περιοχή Μεσενικόλα**

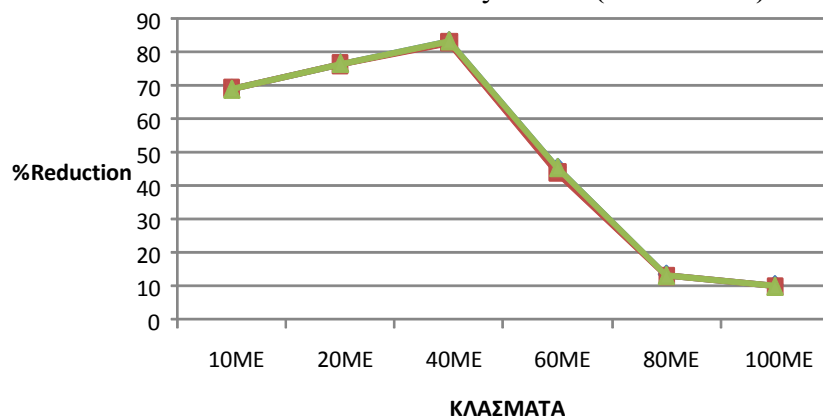
Δείκτης ολικών φλαβονοειδών (Μέσενικόλας)



Δείκτης folin ciocalteau (Μέσενικόλας)



Μέθοδος T EAC (Μέσενικόλα)



**Πίνακας 17: Αποτελέσματα δεικτών
οίνου από την περιοχή Τύρναβου**

ΚΛΑΣΜΑΤΑ	Total phenols (mg/100ml)			Total flavonoids (mg/100ml)			Antioxidant activity (% reduction)		
	1 ^η επανάληψη	2 ^η επανάληψη	3 ^η επανάληψη Μεθανόλη*	1 ^η επανάληψη	2 ^η επανάληψη	3 ^η επανάληψη Μεθανόλη*	1 ^η επανάληψη	2 ^η επανάληψη	3 ^η επανάληψη Μεθανόλη*
10%	20,4	20,37	20,2	2,36	2,36	2,35	50,1	51	51
20%	51,6	51	51	6,2	6,29	6,23	71,1	71	71,3
40%	62	61,1	62,1	10	10,2	10	83,7	82,8	82,5
60%	7,4	7,5	7,5	1,1	1,12	1,1	7,5	7	7,2
80%	0	0	0	0	0	0	7	7	7
100%	0	0	0	0	0	0	6,8	6,6	6,5
Οίνος	160,5			21,8			69,5		

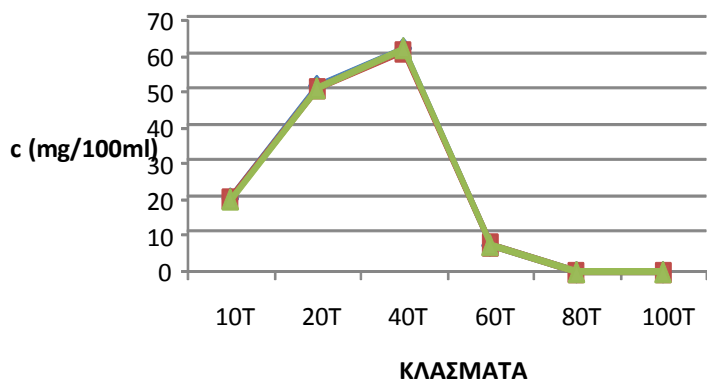
*επαναδιάλυση ξηρού υπολείμματος με 100% μεθανόλη

**Πίνακας 18: Αρχική-μεταφερόμενη
ξηρά ουσία στα διάφορα κλάσματα
(οίνος από την περιοχή Τύρναβος)**

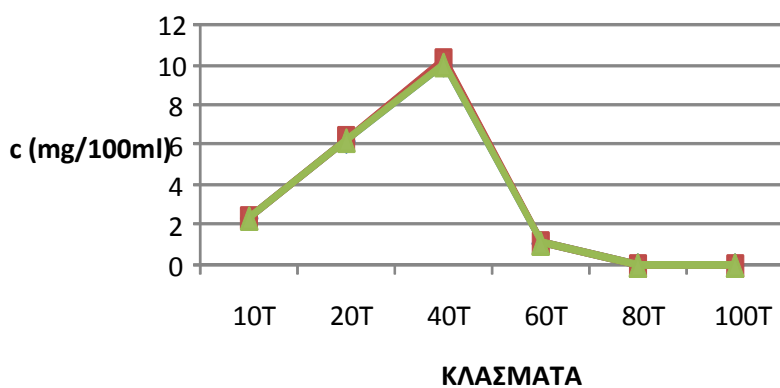
Αρχική ποσότητα ξηρής ουσίας (g)			Κλάσματα	Ποσότητα ξηρής ουσίας 1 ^η επανάληψη (g)	Ποσότητα ξηρής ουσίας 2 ^η επανάληψη (g)	Ποσότητα ξηρής ουσίας 3 ^η επανάληψη (g)
1 ^η	2 ^η	3 ^η				
0,081	0,085	0,094	10%	0,01	0,01	0,01
			20%	0,002	0,002	0,002
			40%	0,003	0,003	0,004
			60%	0,001	0,001	0,001
			80%	0	0	0
			100%	0	0	0

**Διαγράμματα Δεικτών οίνου από την
περιοχή τυρνάβου**

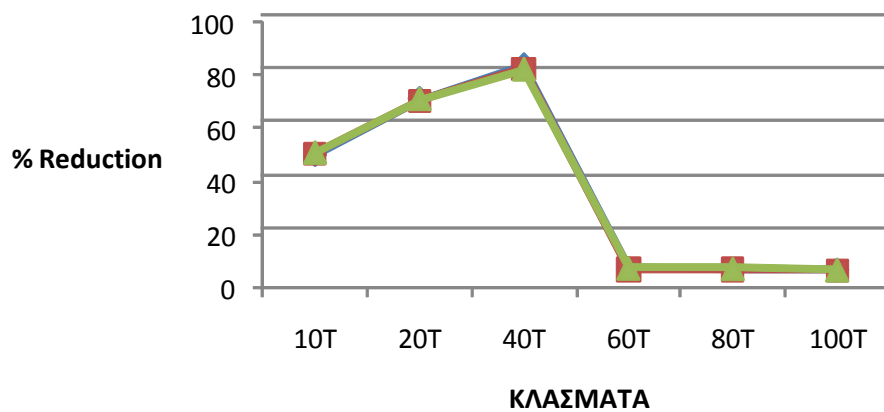
Δείκτης ολικών φλαβονοειδών Τύρναβος



Δείκτης folin ciocalteu (Τύρναβος)



Μέθοδος TEAC (Τύρναβος)



**Πίνακας 19: Αποτελέσματα δεικτών
οίνου από την περιοχή Ραψάνη**

ΚΛΑΣΜΑΤΑ	Total phenols (mg/100ml)			Total flavonoids (mg/100ml)			Antioxodant activity (% reduction)		
	1 ^η επανάληψη	2 ^η επανάληψη	3 ^η επανάληψη Μεθανόλη*	1 ^η επανάληψη	2 ^η επανάληψη	3 ^η επανάληψη Μεθανόλη*	1 ^η επανάληψη	2 ^η επανάληψη	3 ^η επανάληψη Μεθανόλη*
10%	43,5	43,1	43,2	6,04	6	6,02	80	79	80,5
20%	61,4	62	61,9	9,02	9,04	9,01	83,2	83	83,1
40%	76,2	77	77	14,06	14,1	14	96,3	95	95,9
60%	13,8	13,5	13,7	2,3	2,5	2,5	42,1	41,9	42,2
80%	0	0	0	0	0	0	13	-	13,2
100%	0	0	0	0	0	0	9	9	9
Οίνος	219,8			35,4			90,2		

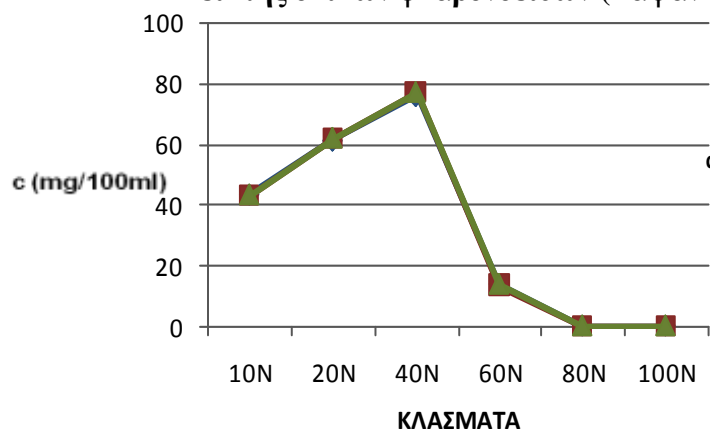
*επαναδιάλυση ξηρού υπολείμματος με 100% μεθανόλη

**Πίνακας 20: Αρχική-μεταφερόμενη
ξηρά ουσία στα διάφορα κλάσματα
οίνος από τη περιοχή Ραψάνη**

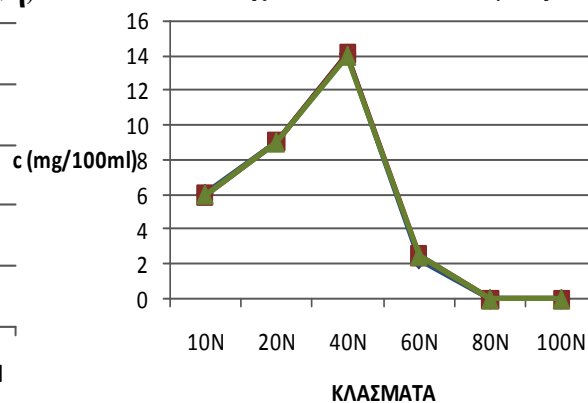
Αρχική ποσότητα ξηρής ουσίας (g)			Κλάσματα	Ποσότητα ξηρής ουσίας 1 ^η επανάληψη (g)	Ποσότητα ξηρής ουσίας 2 ^η επανάληψη (g)	Ποσότητα ξηρής ουσίας 3 ^η επανάληψη (g)
1 ^η	2 ^η	3 ^η				
0,068	0,079	0,077	10%	0,011	0,0011	0,001
			20%	0,001	0,001	0,001
			40%	0,002	0,002	0,003
			60%	0,001	0,001	0,001
			80%	0	0	0
			100%	0	0	0

**Διαγράμματα Δεικτών οίνου από
την περιοχή Ραψάνη**

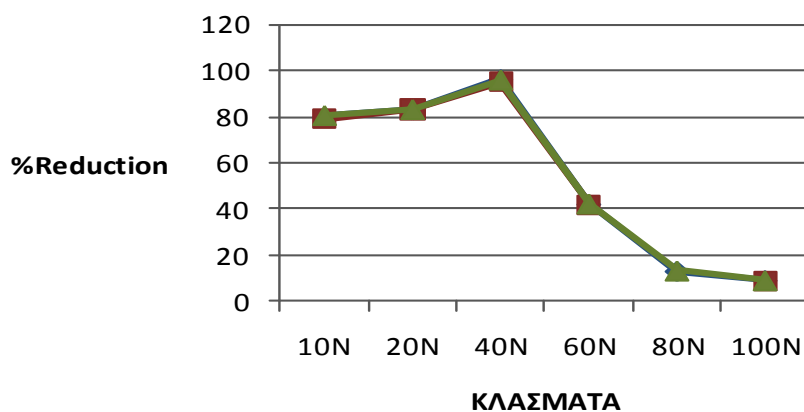
Δείκτης ολικών φλαβονοειδών (Ραψάνη)



Δείκτης folin ciocalteu (Ραψάνη)



Μέθοδος TEAC (Ραψάνη)



**Πίνακας 21: Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων για τους
4 οίνους της Θεσσαλίας**

Οίνος περιοχή: Μεσσηνικόλα	Ολικές φαινόλες mg/100ml			Ολικά φλαβονοειδή mg/100ml			Αντιοξειδωτική ισχύς (%reduction)		
Κλάσματα	1η Επανάληψη	2η Επανάληψη	3η Επανάληψη*	1η Επανάληψη	2η Επανάληψη	3η Επανάληψη*	1η Επανάληψη	2η Επανάληψη	3η Επανάληψη*
10%	37	37,25	37,3	5,6	5,63	5,58	69	69,5	68,8
20%	47,6	47,2	47,5	7,36	7,35	7,34	76,6	76,5	76,5
40%	53,6	-	53,8	10,2	-	10,3	83,2	83	83,2
60%	13,9	13,6	13,6	3,11	3,09	3,12	45,4	44	45,5
80%	0	0	0	0	0	0	13,5	13,1	13,4
100%	0	0	0	0	0	0	10,4	10	10,2
ΑΘΡΟΙΣΜΑ	152,1	98,05	152,2	26,27	16,07	26,34	-	-	-
Οίνος	186,8			32,2			84,6		

Οίνος περιοχή: Βούναινα	Ολικές φαινόλες mg/100ml			Ολικά φλαβονοειδή mg/100ml			Αντιοξειδωτική ισχύς (%reduction)		
Κλάσματα	1η Επανάληψη	2η Επανάληψη	3η Επανάληψη*	1η Επανάληψη	2η Επανάληψη	3η Επανάληψη*	1η Επανάληψη	2η Επανάληψη	3η Επανάληψη*
10%	60,6	60,1	60,4	8,85	8,87	8,8	86	85,7	85,8
20%	92,8	91,8	92	17,2	17	17,5	90	89,8	90,1
40%	146,8	147	147	29,18	29	30	98,5	99	99
60%	(30,2)(12,2)	(30,2)(12,1)	30,2	(16,8)(8,2)	(16,8)(8,1)	16,8	(52,5)(18,1)	(52,5)(18,2)	52,5
80%	0,85	0,86	0,84	5,3	5,1	5	42	41,8	41
100%	0	0	0	0,8	0,82	0,8	30	31	31,4
ΑΘΡΟΙΣΜΑ	301,05	299,76	330,44	61,33	60,79	78,9	-	-	-
Οίνος	360,2			80,2			98,8		

*επαναδιάλυση ξηρού υπολείμματος με 100% μεθανόλη

Οίνος περιοχή: Τυρνάβου	Ολικές φαινόλεςmg/100ml			Ολικά φλαβονοειδή mg/100ml			Αντιοξειδωτική ισχύς (%reduction)		
Κλάσματα	1η Επανάληψη	2η Επανάληψη	3η Επανάληψη*	1η Επανάληψη	2η Επανάληψη	3η Επανάληψη*	1η Επανάληψη	2η Επανάληψη	3η Επανάληψη*
10%	20,4	20,37	20,2	2,36	2,36	2,35	50,1	51	51
20%	51,6	51	51	6,2	6,29	6,23	71,1	71	71,3
40%	62	61,1	62,1	10	10,2	10	83,7	82,8	82,5
60%	7,4	7,5	7,5	1,1	1,12	1,1	7,5	7	7,2
80%	0	0	0	0	0	0	7	7	7
100%	0	0	0	0	0	0	6,8	6,6	6,5
ΑΘΡΟΙΣΜΑ	141,4	139,97	140,8	19,66	19,97	19,68	-	-	-
Οίνος	160,5			21,8			69,5		

Οίνος περιοχή :Ραψάνη	Ολικές φαινόλες mg/100ml			Ολικά φλαβονοειδή mg/100ml			Αντιοξειδωτική ισχύς (%reduction)		
Κλάσματα	1η Επανάληψη	2η Επανάληψη	3η Επανάληψη*	1η Επανάληψη	2η Επανάληψη	3η Επανάληψη*	1η Επανάληψη	2η Επανάληψη	3η Επανάληψη*
10%	43,5	43,1	43,2	6,04	6	6,02	80	79	80,5
20%	61,4	62	61,9	9,02	9,04	9,01	83,2	83	83,1
40%	76,2	77	77	14,06	14,1	14	96,3	95	95,9
60%	13,8	13,5	13,7	2,3	2,5	2,5	42,1	41,9	42,2
80%	0	0	0	0	0	0	13	-	13,2
100%	0	0	0	0	0	0	9	9	9
ΑΘΡΟΙΣΜΑ	194,9	195,6	195,8	31,42	31,64	31,53	-	-	-
Οίνος	219,5			35,4			90,2		

*επαναδιάλυση ξηρού υπολείμματος με 100% μεθανόλη

5.1. Συμπεράσματα

1. Έγινε προσδιορισμός σημαντικών για την υγεία του ανθρώπου χαρακτηριστικών των επιλεγμένων οίνων της Θεσσαλίας. Συγκεκριμένα, για κάθε οίνο υπολογίστηκε:

- Η περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες
- Η περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή
- Η αντιοξειδωτική ισχύς

2. Υπολογίστηκε ότι η περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες στους τέσσερις θεσσαλικούς οίνους κυμαίνεται από 160,5 mg/100ml έως 360,2mg/100ml. Η υψηλότερη τιμή σε ολικές φαινόλες μετρήθηκε στον οίνο από την περιοχή Βούναινα.

3. Υπολογίστηκε ότι η περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή στους τέσσερις θεσσαλικούς οίνους κυμαίνεται από 21,8 mg/100ml έως 80,2mg/100ml. Η υψηλότερη τιμή σε ολικές φαινόλες μετρήθηκε και πάλι στον οίνο από την περιοχή Βούναινα.

4. Η αντιοξειδωτική ισχύς στους τέσσερις θεσσαλικούς οίνους κυμαίνεται από 69,5%(%reduction) ή 0,07(Mm trolox equivalent) έως 98,8 reduction ή 0,1(Mm trolox equivalent). Η υψηλότερη τιμή μετρήθηκε και πάλι στον οίνο από την περιοχή Βούναινα.

5. Αποδείχθηκε ότι η αντιοξειδωτική ισχύς του κάθε οίνου συσχετίζεται με την περιεκτικότητά του σε ολικές φαινόλες και φλαβονοειδή.

6. Παρατηρήθηκε ότι ένα ποσοστό της αντιοξειδωτικής ισχύος του κάθε οίνου οφείλεται και σε ουσίες εκτός των φαινολών.

7. Το παραγόμενο κλάσμα μέτριας υδροφοβικότητας (40% αιθανόλη-60% νερό) παρουσίασε και τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες, φλαβονοειδή και αντιοξειδωτική ισχύ. Οι τιμές αυτές κυμάνθηκαν από 53,6mg/100ml έως 147 mg/100ml για τις ολικές φαινόλες, από 10 mg/100ml έως 30 mg/100ml και από 83%(reduction) έως 99 (%reduction) για τα φλαβονοειδή και την αντιοξειδωτική ισχύ αντίστοιχα.

8. Σε κάθε οίνο πραγματοποιήθηκε κλασματοποίηση του στερεού περιεχομένου αυτού, από όπου και παραλήφθηκαν κλάσματα με σκοπό τον συσχετισμό του φαινολικού προφίλ του κάθε κλάσματος με πιθανή αντικαρκινική δράση.

5.2 Συζήτηση

Στη συγκεκριμένη εργασία μελετήθηκαν τέσσερις ερυθροί οίνοι της Θεσσαλίας, από τους νομούς Καρδίτσας και Λάρισας και συγκεκριμένα από τις περιοχές Βούναινα και Μεσενικόλα, Ραψάνη και Τύρναβο αντίστοιχα. Η επιλογή των παραπάνω περιοχών έγινε με βάση κριτήρια όπως η ανάπτυξη της αμπελοοινικής δραστηριότητας στις συγκεκριμένες περιοχές στο παρελθόν, αλλά κυρίως στις μέρες μας. Η ύπαρξη δύο ζωνών ΟΠΑΠ (Μεσενικόλα, Ραψάνη) ήταν το βασικό κριτήριο επιλογής των περιοχών αυτών. Όπως είδαμε σε όλες τις περιοχές μελετήθηκαν ερυθροί οίνοι, λόγω του ότι η τεχνολογία παρασκευής τους συντελεί στον εμπλουτισμό τους με μεγαλύτερες ποσότητες φαινολικών συστατικών σε σχέση με τους λευκούς. Από το γεγονός αυτό γίνεται αντιληπτό για πιο λόγο απορρίφθηκαν άλλες αμπελοοινικές περιοχές της Θεσσαλίας, όπως ο νομός Τρικάλων και κυρίως ο νομός Μαγνησίας, όπου παρόλο αναπτύσσεται σημαντική αμπελοοινική δραστηριότητα με την ύπαρξη ζώνης ΟΠΑΠ, η δραστηριότητα αυτή οφείλεται σχεδόν εξολοκλήρου στην παραγωγή λευκών οίνων.

Σε κάθε οίνο πραγματοποιήθηκε κλασματοποίηση του στερεού περιεχομένου του με σκοπό τον διαχωρισμό των διαφόρων φαινολικών (φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα, τανίνες, ανθοκυάνες, κατεχίνες) ομάδων σε κλάσματα. Οι παράμετροι που μετρήθηκαν, τόσο στους οίνους όσο και στα παραγόμενα από αυτούς κλάσματα, ήταν η περιεκτικότητα τους σε ολικές φαινόλες με τη μέθοδο Folin Ciocalteu, η περιεκτικότητα τους σε ολικά φλαβονοειδή με τη μέθοδο TFC (Total Flavonoids Concentration) και η μέτρηση της αντιοξειδωτικής τους ισχύος με τη μέθοδο TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).

Η περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες και ολικά φλαβονοειδή στους τέσσερις θεσσαλικούς οίνους κυμάνθηκε από 160,5 mg/100ml έως 360,2mg/100ml και από 21,8 mg/100ml έως 80.2mg/100ml αντίστοιχα. Η αντιοξειδωτική ισχύς κυμάνθηκε από 69.5 (%reduction) ή 0,07(Mm trolox equivalent) έως 98,8 (%reduction) ή 0,1(Mm trolox equivalent). Και για τις τρεις παραμέτρους η υψηλότερη τιμή μετρήθηκε στον οίνο από την περιοχή Βούναινα. Από τα παραπάνω αποδεικνύεται ότι η αντιοξειδωτική ισχύς του κάθε οίνου συσχετίζεται με την περιεκτικότητα του σε φαινόλες και φλαβονοειδή, ενώ παράλληλα παρατηρήθηκε ότι ένα ποσοστό της αντιοξειδωτικής ισχύος του κάθε οίνου οφείλεται και σε ουσίες εκτός των φαινολών.

Σημαντικό είναι επίσης το γεγονός ότι δεν έχει αναφερθεί μέχρι στιγμής η ύπαρξη αντίστοιχης μελέτης για τους θεσσαλικούς οίνους, πράγμα που σημαίνει ότι με την εργασία αυτή γίνεται μια προσπάθεια μελέτης των ποιοτικών χαρακτηριστικών των οίνων που σχετίζονται με πιθανή ευεργετική δράση στην υγεία του ανθρώπου και καθρεφτίζουν τη διατροφική αξία των οίνων αυτών. Επιπλέον, θα πρέπει να αναφέρουμε ότι σε διεθνές επίπεδο το πεδίο μελέτης των φαινολικών συστατικών των οίνων, των αντιοξειδωτικών του ιδιοτήτων και επιπλέον η σύνδεση αυτών με πιθανές ευεργετικές δράσεις για την ανθρώπινη υγεία, είναι ένα πεδίο μελέτης πολύ σημαντικό με πολυάριθμες επιστημονικές εργασίες σε πολλές χώρες, όπου σε κάθε μελέτη αποδείχθηκε η συσχέτιση του φαινολικού περιεχομένου του κάθε οίνου με την αντιοξειδωτική του ικανότητα, καθώς επίσης και διαφορά της κάθε φαινολικής ομάδας ως προς την αντιοξειδωτική της ισχύ (Stasko et al,2008, Hua et al,2009).

Στην Ελλάδα, τα τελευταία χρόνια έχουν υπάρξει μελέτες των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων ελληνικών οίνων, κυρίως όμως για λευκούς (S. Kallithraka et al 2009). Από τα παραπάνω εάν λάβουμε υπόψη τη σημασία που αποδίδεται στις πιθανές ωφέλιμες δράσεις για την υγεία του ανθρώπου στις φαινολικές ενώσεις (προστασία έναντι καρδιαγγειακών νοσημάτων) κατανοούμε τη σημασία της ύπαρξης μια μελέτης των θεσσαλικών οίνων.

Τέλος, θα πρέπει να αναφέρουμε ότι η συγκεκριμένη εργασία ανοίγει το δρόμο για τη διερεύνηση της ύπαρξης αντικαρκινικών ιδιοτήτων στους θεσσαλικούς οίνους και στα παραγόμενα από αυτούς κλάσματα, όπως γίνεται σε αντίστοιχες μελέτες σε διεθνές επίπεδο, με τελικό σκοπό τη διερεύνηση της πιθανής χρήσης των φαινολικών ουσιών σε λειτουργικά τρόφιμα.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abevwardena, M., Runnie, I., Nizar, M., Suhaila, M., Head, R., & Suhaila, M. (2002). **Vasorelaxation induced by common edible tropical plant extracts in isolated rat aorta and mesenteric vascular bed.** *Journal of Ethnopharmacology*, **92**, 311-316.
2. Albert Y . Sun, Agnes Symonyi, Grace Y Sun.(2001) **The “French paradox” and beyond : neuroprotective effects of polyphenols.** *Free Radical Biology and Medicine*, vol **32**.
3. Andreau L.Waterhouse (2002). **Wine phenolics .Handbook of Antioxidant, second edition**
4. Andrej Stasko, Vlasta Brezova, Milan Majur, Milan Certik, Michal Kalinak, George Gescheidt.(2008).**A comparative study on the antioxidant properties of Slovakian an Austrian wines.** *LWT-Food Science and Technology* **41(2008) 2126-2135**
5. Alexey Kondrashov,Rudolf sevcik, Hana Benacova, Milada Kostinova, Kostirova, Stanislav Stipek. **The key role of grape variety for antioxidant capacity of red wines.** *European journal of Clinical Nutrition and Metabolism* **4 (2009) e41-e46**
6. Berrougui, H., Cloutier, M., Isabelle, M., & Khalil, A. (2006). **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*, **184**, 389-396.
7. Camouse, M., Hanneman K. K., Conrad, E. P., & Baron, E. D. (2005). **Protective effects of tea polyphenols and caffeine.** *Expert. Rev. Anticancer Therapy*, **5(6)**, 1061-1068.
8. Chiesi, M., & Schwaller R. (1995). **Inhibition of constitutive endothelial NOS synthase activity by tannin and quercetin.** *Biochem. Pharmacology*, **49**, 495-501.
9. Coimbra, S., Castro, E., Rocha-Pereira, P., Rebelo, I., Rocha, S., & Santos-Silva, A. (2006). **The effect of green tea in oxidative stress.** *Clinical Nutrition*, **25(5)**, 790-796.
10. D Villano , M.S. Fernandez –Pachon, A.M. Troncoso, M.C. Garcia –Parrilla. **Influence of enological practices on the antioxidant activity of wines.** *Food Chemistry* **95 (2006) 394-404**
11. D Villano , M.S. Fernandez –Pachon, A.M. Troncoso, M.C. Garcia –Parrilla. **Determination of the phenolic composition of sherry and table white wines by liquid chromatography and their relation with antioxidant activity.** *Analytica Chimica Acta* **563 (2006) 101-108**
12. D Villano , M.S. Fernandez –Pachon, A.M. Troncoso, M.C. Garcia –Parrilla. **The antioxidant activity of wines determined by the ABTS method influence of sample dilution and time.** *Talanta* **64(2004) 501-509**
13. Dell’Agli, M., Busciala, A., & Bosisio, E. (2004). **Vascular effects of wine polyphenols.** *Cardiovascular Research*, **63**, 593-602.
14. Diebolt, M., Bucher, B., & Andriantsitohaina, R. (2001). **Wine polyphenols decrease blood pressure, improve NO vasorelaxation, and induce gene expression.** *Hypertension*, **38**, 159.

15. Duthie, G. G., Duthie, S. J., & Kyle, A. M. (2000). **Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants.** *Nutrition Research Reviews*, 13(1), 340-357.
16. Erba, D., Grass, L., Josephy, D., Goldberg, D. M., & Diamandis, E. P. (2002). **A comparison of the anticarcinogenic properties of four red wine polyphenols.** *Clinical Biochemistry*, 35, 119-124.
17. F.Alen-Ruiz , M.S.Garcia –Falcon, M.C. Perez-Lamela, E. Martinez-Carballo, J. Simal-Candara. **Influence of major polyphenols on antioxidant activity in Mencia and Brancellao red Wines.** *Food Chemistry* 113 (2009) 53-60
18. Ferguson, L. R. (2001). **Role of plant polyphenols in genomic stability.** *Mutation Research*, 475, 89-111.
19. Fujiki, H., Suganuma, M., Okabe, S., Sueoka, N., Komori, A., Sueoka, E., Tomoko, K., Tada, Y., Suga, K., Imai, K., & Nakachi K. (1997). **Cancer inhibition by green tea.** *Mutation Research*, 402, 307-310.
20. Gaddipalti, P., & Maheshwari, K. (2006). **Green tea polyphenols and its constituent epigallocatechin gallate inhibits proliferation of human breast cancer cells in vitro and in vivo.** *Cancer Letters*, 245(1-2), 232-241.
21. Gaetke, L. M., & Chow, C. K. (2003). **Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients.** *Toxicology*, 189(1-2), 147-163.
22. Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000). **Advancements in flavonoid research since 1992.** *Phytochemistry*, 55, 481-504.
23. Heim, K. E., Tagliafero, A. R., & Bobiyla, D. J. (2002). **Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships.** *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 572-584.
24. Holman, P. C. H., & Katan M. B. (1999). **Dietary flavonoids: Intake, health effects and bioavailability.** *Food and Chemical Toxicology*, 37, 937-942.
25. Holman, P. C. H & Katan M. B. (1997). **Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man.** *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 51(8), 305-310.
26. Hua Li, Xiaoyu Wang, Yong Li, Peihong Li, Hua Wang (2009). **Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines.** *Food Chemistry* 112 (2009) 454-460.
27. Irquiaga, I., & Leighton, F. (2000). **Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress.** *Biological Research*, 32(2), 716-730.
28. Jacob, R, (1995). **The integrated antioxidant system.** *Nutrition Research*, 15(5), 755-766.
29. Jissy K jacob, Fatima Hakimuddin, Gopinadhan Paliyath, Helen Fisher. **Antioxidant and antiproliferative activity of polyphenols in novel high-polyphenol grapes lines.** *Food Research International* 41(2008) 419-428
30. Kampa .M.A, Nifli. P, Notas G, Castanas E. **Polyphenol and cancer cell growth.** *Rev Physiol Biochem Pharmacol* (2007) 159: 79-113
31. Katalinic, V., Milos, M., Kulsic, T., & Jukic, M. (2006). **Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols.** *Food Chemistry*, 94(4), 550-557.
32. Koleva, I. I., Van Beek, T. A., Linssen, J. P. H., de Groot, A & Evstatieva, L. N. (2002). **Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods.** *Phytochemical Analysis*, 13, 8-17.

33. Madhavi, D. L., Singhal, R. S., Kalkarni, P. R. (1996). **Technological aspect of food antioxidants in food antioxidants.** *Food Chemistry*, 50(3), 3660-3667.
34. Makris, D., Kallithraka, S., & Kefalas, P. (2006). **Flavonols in grapes, grape products and wines: Burden, profile and influential parameters.** *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 396-404.
35. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., & Jimenez L. (2004). **Polyphenols: food sources and bioavailability.** *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 724-747.
36. Manach, C., Mazur, A., & Scalbert, A. (2005). **Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases.** *Current Opinion in Lipidology*, 16, 77-84.
37. Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Remesy, C. (2005). **Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. Review of 97 bioavailability studies.** *American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 230-242.
38. Maria del Alamo ,Lourdes Casado ,Victor Hernandez, Juan Jose Jimenez, **Determination of free molecular phenolics and catechins in wine by solid phase extraction on polymeric cartridges and liquid chromatography with diode array detection.** *Journal of Chromatography A*, 1049(2004) 97-105
39. Masella, R., Vari, R., & D'Archivio, M. (2004). **Extra virgin olive oil biophenols inhibit cell-mediated oxidation of LDL by increasing the mRNA transcription of glutathione-related enzymes.** *Journal of Nutrition*, 134, 785-791.
40. Matsingou, T. C., Petrakis, N., Kapsokefalou, M., & Salifoglou, A. (2003). **Antioxidant activity of organic extracts from aqueous infusions of sage.** *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51, 6696-6701.
41. Merken, H., & Beecher, G. R. (2000). **Measurement of flavonoids by High-Performance Liquid Chromatography: A review.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(3), 579-597.
42. Morton, L. W., Caccetta, R. A-A., Puddey, I. B., & Croft, K. D. (2000). **Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease.** *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 27(3), 152-162.
43. Neuza Paixao, Rosa Perestrelo, Jose C.Marques, Jose S Camara. **Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red ,rose and white wines.** *Food Chemistry* 105 (2007) 204-214
44. Osawa T. (1999). **Protective role of dietary polyphenols in oxidative stress.** *Mechanisms of Ageing and Development*, 111, 133-139.
45. Oteiza, P. I., Erlejman, A. G., Verstraeten, S. V., Keen, C. L., & Fraga, V. G. (2005). **Flavonoid-membrane interactions: a protective role of flavonoids at the membrane surface?** *Clinical Dev. Immunology*, 12(1), 19-25.
46. Peng wong, S., Peng Leong, L., & Koh, J. H. W. (2006). **Antioxidant activity of aqueous extracts of selected plants.** *Food Chemistry*, 99(4), 775-783.
47. Pierini Roberto, Jennifer M. Gee, Nigel J. Belshaw and Ian T.Jonhson. **Flavonoids and intestinal cancer.** *British journal of Nutrition* (2008),99
48. Rahman, I., Biswas, S. K., & Kirkham, P. A. (2006). **Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols.** *Biochemical Pharmacology*, 72(11), 1439-1452.

49. Robbins, R. (2003). Phenolic acids in foods: **An overview of analytical methodology.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(2), 2866-2887.
50. Rodrigo, R., & Bosco, C. (2006). **Oxidative stress and protective effects of polyphenols: Comparative studies in human and rodent kidney. A review.** *Comparative Biochemistry and Physiology*, 142, 317-327.
51. Rodrigo, R., Castillo, R., Carrasco, R., Huerta, P., & Moreno, M. (2005). **Diminution of tissue lipid peroxidation in rats is related to the in vitro antioxidant capacity of wine.** *Life Sciences*, 76, 889-900.
52. Saffari, Y., & Sadrzadeh, S. M. H. (2004). **Green tea metabolite EGCG protects membranes against oxidative damage in vitro.** *Life Sciences*, 74, 1513-1518.
53. Sanchez-Moreno, C. (2002). **Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems.** *Food Science and Technology Int.*, 8(3), 121-137.
54. Scalbert, A., Morand, C., Manach, C., & Remesy, C. (2002). **Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health.** *Biomedical Pharmacotherapy*, 56, 276-282.
55. Soleas, G., Grass, L., Josephy, D., Goldberg, D. M., & Diamandis, E. P. (2002). **A comparison of the anticarcinogenic properties of four red wine polyphenols.** *Clinical Biochemistry*, 35, 119-124.
56. Stoclet, J. C., Chataigneu, T., & Ndiaye, M. (2004). **Vascular protection by dietary polyphenols.** *European Journal of Pharmacology*, 500, 299-313.
57. Saura-Calixto, F., Serrano, J., & Goni, I. (2007). **Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet.** *Food Chemistry*, 101, 492-501.
58. Tabart Jessica, Kevers Claire, Pincemail Joel, Defraigne Jean-olivier, Dommes Jacques. **Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests.** *Food Chemistry* 113(2009) 1226-1233
59. Verzelloni Elena, Davide Tagliazucchi, Angela Conte (2007). **Relationship between the antioxidant properties and the phenolic and flavonoid content in traditional balsamic vinegar.** *Food Chemistry* 105(2007) 564-571
60. Widlansky, M. E., Duffy, S. J., Hamburg, N. M., Gokce, N., Warden, B. A., Wiseman, S., Keaney, J. F., Frei, B., & Vita, J. A. (2005). **Effects of black tea consumption on plasma catechins and markers of oxidative stress and inflammation in patients with coronary artery disease.** *Free Radical Biological Medicine*, 38(4), 499-506.
61. Wollgast, J., & Anklam, E. (2000). **Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health?** *Food Research International*, 33, 449-459.
62. Yeh, C. T., & Yen, G. C. (2005). **Effect of vegetables on human phenolsulfotransferases in relation to their antioxidant activity and total phenolics.** *Free Radical Research*, 39(8), 893-904.

ΕΚΔΟΣΕΙΣ

63. Ζαμπέλας, Α. (2007). **Κλινική διατροφή και ασθένειες**, Αθήνα, 2007.
64. Πλέσσας Σ. (1998) **Διαιτητική του ανθρώπου**. Εκδόσεις Φάρμακον-Τύπος, Αθήνα.
65. Χανιώτης Φ. (1998) **Παθολογία**. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα 1998.
66. Boutlon, Sigleton, Bisson, Kunkee: **Principles and practices of winemaking. Originally published Chapman & Hall New York 1996**
67. Bruce W.Zoecklein, Kenneth C. Fugelsag, Barry H.Gump, Fred S. Nury: **Wine analysis and production 1995. Aspen publishers New York 1995**
68. P. Ribereau-Gayon, Y.Clories , A.Maujean, D.Doubourdieu: **Handbook of enology, volume 2, the chemistry of wine stabilization and treatments, 2003. JOHN WILEY & SONS, LTD**
69. Παναγιώτη Α. Τσέτουρα: **Οινοτεχνία, η επιστήμη του κρασιού στην πράξη, 2003 Εκδόσεις Σταμούλη**.
70. Ευάγγελος Ηρ. Σουφλερός: **Οινολογία, τόμος 1 και 2 Θεσσαλονίκη 2000 Εκδόσεις Σουφλερός**
71. Γ.Κοτσερίδης: **Οινολογία II (Σημειώσεις)**, Αθήνα 2005
72. Γ.Κοτσερίδης: **Οινολογία I (Σημειώσεις)**, Αθήνα 2004
73. Σταυρακάκης ,Μ: **Ειδική αμπελουργία (θέματα αμπελογραφίας)**, Αθήνα 2000
74. Σταυρακάκης ,Μ: **Ειδική αμπελουργία (Φυσιολογία και οικολογία της αμπέλου)**, Αθήνα 2000
75. Σταυρακάκης ,Μ: **Γενική αμπελουργία** Αθήνα 2000
76. Ιωάννης Ρούμπος **Σύγχρονη αμπελουργία Εκδόσεις ΩΡΕΣ – Βόλος 1996**

ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ

www.thessalia.gr

www.greekwinefederation.gr

www.cancer.gov

www.eligast.gr

[www.wikipedia. Gr](http://www.wikipedia.Gr)

www.keosoe.gr

