



Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών σπουδών
“Τοξικολογία”

Μεταπτυχιακή Διατριβή

“Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας
ελληνικών κρασιών και ζύθου με συνδυασμό *in vitro*
τεχνικών”

Μαρία Γκασδρόγκα

Λάρισα, 2022



University of Thessaly
Department of Biochemistry & Biotechnology
Postgraduate Masters Studies in Toxicology

Masters Thesis

“Antioxidant capacity of Greek wine varieties and
Greek beers combining in vitro techniques”

Maria Gkastrogka

Larissa, 2022

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Κουρέτας Δημήτριος, Καθηγητής Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών – Τοξικολογίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Βεσκούκης Αριστείδης, Επίκουρος Καθηγητής στην Οξειδοαναγωγική Βιολογία της Διατροφής και της Άσκησης, Σχολή Επιστημών Φυσικής Αγωγής, Αθλητισμού και Διαιτολογίας, Τμήμα Διαιτολογίας και Διατροφολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Χαλαμπαλάκη Μαρία, Επίκουρη Καθηγήτρια του Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή του ΠΜΣ Τοξικολογίας, κ. Κουρέτα Δημήτριο, που ανέλαβε να είναι υπεύθυνος της Μεταπτυχιακής Διατριβής μου, και μου έδωσε τη δυνατότητα να υλοποιήσω την παρούσα εργασία στο εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επίκουρο Καθηγητή Βεσκούκη Αριστείδη και την Επίκουρη Καθηγήτρια Χαλαμπαλάκη Μαρία για τη συμμετοχή τους στην Τριμελή Συμβουλευτική Επιτροπή, καθώς και τον Υποψήφιο Διδάκτορα Τέκο Φώτιο για την πολύτιμη καθοδήγησή του σε όλη την πειραματική και συγγραφική διαδικασία.

Περίληψη

Ο οίνος και ο ζύθος αποτελούν ευρέως διαδεδομένα ροφήματα, που εμφανίζουν ποικίλες ευεργετικές επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία, γνωστές ακόμη από την αρχαιότητα. Πλήθος μελετών έχουν αποδείξει πως οι ευεργετικές επιδράσεις των ροφημάτων αυτών οφείλονται στο υψηλό περιεχόμενό τους σε πολυφαινόλες, ενώσεις με αντιοξειδωτική δράση *in vitro* και *in vivo*. Ο σκοπός αυτής της μελέτης είναι η εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας λευκών (Ασύρτικο, Μαλαγουζιά) και ερυθρών (Αγιωργίτικο, Ξινόμαυρο) ποικιλιών ελληνικών οίνων και τύπων ζύθου (ale και lager), με στόχο την αξιολόγηση τους σε *in vitro* επίπεδο ως πηγές διατροφικών αντιοξειδωτικών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των λευκών και ερυθρών ποικιλιών οίνου, με τις ερυθρές να είναι δραστικότερες σε όλες τις δοκιμασίες, ενώ η ερυθρή ποικιλία Ξινόμαυρο ήταν η δραστικότερη από τις ερυθρές, και η ποικιλία Ασύρτικο η δραστικότερη των λευκών. Στατιστικά σημαντική διαφορά μετρήθηκε επίσης και μεταξύ των τύπων ζύθου, με τις μπύρες τύπου ale να υπερισχύουν έναντι του τύπου lager. Σύγκριση των αποτελεσμάτων ζύθου και οίνου έδειξε πιο αυξημένη αντιοξειδωτική ικανότητα των ποικιλιών οίνου, που οφείλεται στο υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενό του. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν πως όλοι οι τύποι των δύο ροφημάτων εμφανίζουν ικανότητα εξουδετέρωσης των ελεύθερων ριζών *in vitro*, αποτελώντας έτσι σημαντική διατροφική πηγή αντιοξειδωτικών ουσιών.

Abstract

Wine and beer are widely consumed beverages with many beneficial effects in human health, which have been known since antiquity. Many studies have demonstrated that those effects are attributed to their high content in polyphenols, substances with increased antioxidant action in vitro and in vivo. The aim of the present study is the evaluation of the antioxidant capacity of Greek white (Asyrtiko, Malagouzia) and red (Agiorgitiko, Xinomavro) wine and beer varieties using in vitro assays. The results have shown that there are statistical significant differences between red and white wine varieties, in favor of the red ones, which is attributed to their increased levels of polyphenols, with the red variety Xinomavro being the most potent among reds, and the white variety Asyrtiko the most potent among whites. The different types of beer have also shown statistical significant difference in antioxidant capacity, with ale type beers being more potent antioxidants than lager type beers. When comparing wine and beer samples, the wine samples have shown higher capacity of free radical scavenging in vitro. Both beverages have demonstrated antioxidant capacities in vitro, thus making them an important source of dietary antioxidants.

Πίνακας περιεχομένων

1. Εισαγωγή	10
1.1. Οίνος.....	11
1.1.1 Η άμπελος <i>Vitis vinifera</i>	11
1.1.2 Οι πρώτες ενδείξεις οινοποίησης.....	12
1.1.3 Οινοποίηση στον Ελλαδικό χώρο – Ο ρόλος του οίνου.....	13
1.1.4 Σύγχρονη Οινοποιία.....	15
1.1.5 Οινοποιητικές ποικιλίες αμπέλου	16
1.1.5.1 Λευκές ποικιλίες.....	16
1.1.5.2 Ερυθρές ποικιλίες	17
1.1.6 Στάδια της οινοποίησης.....	18
1.1.6.1 Αλκοολική ζύμωση.....	19
1.1.6.2 Μηλογαλακτική ζύμωση.....	21
1.1.7 Συστατικά οίνου.....	21
1.1.7.1 Νερό.....	22
1.1.7.2 Σάκχαρα	22
1.1.7.3 Αλκοόλες.....	22
1.1.7.4 Οξέα.....	22
1.1.7.5 Φαινόλες και φαινολικά παράγωγα	23
1.1.7.6 Βιταμίνες.....	24
1.1.7.7 Διαλυμένα αέρια.....	24
1.1.7.8 Αμινοξέα και βιογενείς αμίνες	25
1.1.7.9 Πεπτίδια	25
1.2. Ζύθος.....	26
1.2.1 Τα πρώτα ευρήματα.....	26
1.2.2 Ο ρόλος του ζύθου στην Ελλάδα.....	27
1.2.3 Συστατικά του ζύθου.....	29
1.2.3.1 Κριθάρι - σιτηρά.....	29
1.2.3.2 Λυκίσκος.....	29
1.2.3.3 Ζύμες.....	30
1.2.4 Στάδια παραγωγής.....	30
1.2.4.1 Βυνοποίηση.....	30
1.2.4.2 Ζυθοποίηση.....	31
1.2.5 Τύποι μπίρας.....	32
1.3 Στατιστικά στοιχεία – Ελλάδα	32

1.3.1 Οίνος	32
1.3.2 Ζύθος.....	33
1.4 Ελεύθερες ρίζες.....	34
1.4.2 Δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS)	34
1.4.2.1 Πηγές ROS.....	35
1.4.3 Οξειδωτικό στρες.....	36
1.5 Αντιοξειδωτικά.....	36
1.5.1 Ευεργετικές επιδράσεις κρασιού	37
1.5.2 Ευεργετικές επιδράσεις μύρας.....	38
1.6 Πολυφαινόλες.....	39
1.6.1 Πολυφαινόλες οίνου	40
1.6.2 Είδη φαινολικών ενώσεων - οίνος	42
1.6.2.1 Φλαβονοειδή	42
1.6.2.2 Μη φλαβονοειδή.....	44
1.6.3 Είδη φαινολικών ενώσεων – ζύθος.....	46
1.6.4. Επιδράσεις φαινολών στην υγεία.....	48
1.7 Σκοπός	49
2. Πειραματικό	50
Υλικά και Μέθοδοι.....	51
2.1 Χημικά Αντιδραστήρια.....	51
2.2 Προετοιμασία διαλυμάτων.....	51
2.3 Εξεταζόμενα δείγματα	51
2.4 Πειραματική διαδικασία	52
2.4.1 Προσδιορισμός του συνολικού πολυφαινολικού περιεχόμενου μέσω του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu.....	52
2.4.2 Προσδιορισμός της αναγωγικής ικανότητας έναντι του χαλκού (μέθοδος CUPRAC).....	52
2.4.3 Επαγόμενη από ρίζες Περοξυλίου (ROO•) πρόκληση μονόκλωνων θραυσμάτων σε πλασμιδιακό DNA.....	53
2.5 Στατιστική ανάλυση	55
3. Αποτελέσματα.....	56
3.1 Σύγκριση των ποικιλιών οίνου	57
3.2 Σύγκριση των ποικιλιών οίνου ανά περιοχή	59
3.3 Σύγκριση των ποικιλιών οίνου με βάση το χρώμα.....	60
3.4 Συσχέτιση του πολυφαινολικού περιεχομένου ποικιλιών οίνου με κάθε in vitro μέθοδο	61
3.5 Σύγκριση τύπων ζύθου	63

3.6	Συσχέτιση του πολυφαινολικού περιεχομένου τύπων ζύθου με κάθε in vitro μέθοδο ..	64
3.7	Σύγκριση δειγμάτων οίνου και ζύθου	65
4.	Συζήτηση	67
4.1	Σύγκριση ποικιλιών οίνου	68
4.2	Σύγκριση τύπου ζύθου	70
4.3	Σύγκριση οίνου και ζύθου	71
4.4	Γενικά συμπεράσματα και μελλοντικοί στόχοι	72
5.	Βιβλιογραφία	74
6.	Παράρτημα	79

1. Εισαγωγή

1.1 Οίνος

1.1.1 Η άμπελος *Vitis vinifera*

Η άμπελος *Vitis vinifera* αποτελεί ένα από τα παλαιότερα καλλιεργούμενα φυτά με ζωντανούς προγόνους. Το γένος *Vitis* αποτελείται από τρεις ομάδες, με βάση το γεωγραφικό εντοπισμό τους. Σύμφωνα με βοτανολόγους, υπάρχουν 25-30 Αμερικανικά είδη, περίπου ίδιος αριθμός για την Ασία, ενώ μόνο ένα είδος έχει προέλευση την Ευρασία, το είδος *vinifera*. Σε αντίθεση με την Αμερικανική και Ασιατική άμπελο, οι Ευρωπαϊκοί άγριου τύπου πληθυσμοί *vinifera* έχουν εκλείψει.

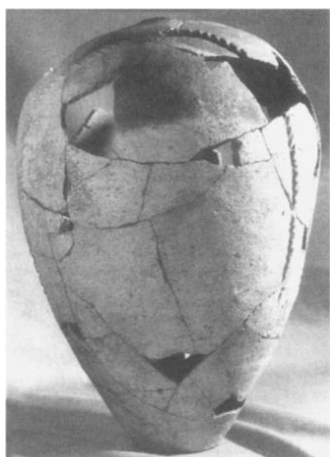
Οι αρχαιότερες ενδείξεις για την καλλιέργεια *Vitis vinifera* προέρχονται από την Χαλκολιθική (3700-3200 π.Χ.) και Πρώιμη εποχή του Χαλκού (3200- 1900 π.Χ.) σε περιοχές του Λεβάντε (Μέση Ανατολή). Αρχαιολογικά ευρήματα εμφανίζονται με μεγαλύτερη συχνότητα και χρονολογούνται στα τέλη της Εποχής του Χαλκού στην Εγγύς Ανατολή. Τα ευρήματα αυτά συμπληρώνονται επίσης και από δοχεία αποθήκευσης οίνου, πρέσες, αλλά και από καλλιτεχνικές απεικονίσεις σταφυλιών και της διαδικασίας οινοποίησης. Από την 3η χιλιετία και έπειτα, πραγματοποιούνται καταγραφές σχετικά με φρέσκα σταφύλια, σταφίδες, και οίνο, σε πηγές σφηνοειδούς γραφής στη Μεσοποταμία. Επιπλέον, πλήθος ευρημάτων για την πρώιμη καλλιέργεια αμπέλου προέρχονται από την αρχαία Αίγυπτο (McGovern et al., 2003).



Εικόνα 1. Απεικόνιση αγροτικής σκηνής από τον Τάφο του Nakht της 18^{ης} Δυναστείας, Θήβαι Αιγύπτου (περίπου 1390 π.Χ.), Μετροπολιτικό Μουσείο Τέχνης, Νέα Υόρκη.

1.1.2 Οι πρώτες ενδείξεις οινοποίησης

Η αρχαιότερη ένδειξη οινοποίησης και οίνου προέρχεται από τον αρχαιολογικό χώρο του Γκοντίν Τεπέ (Godin Tere) στο κεντροδυτικό Ιράν, και χρονολογείται στα τέλη της 4^{ης} χιλιετίας π.Χ. (3500 - 2900 π.Χ.). Πρόκειται για δοχεία, τα οποία ανακαλύφθηκαν σε θραύσματα, από την ομάδα του dr. T. Cuyler Young Jr στα τέλη του 1960 με αρχές του 1970. Τα δοχεία προέρχονται από πρωτο-Σουμέρια αποικία, αποτελούμενη από εμπόρους, και στρατεύματα της Μεσοποταμίας. Η περιοχή αυτή βρίσκεται στην ευρύτερη περιοχή του Χορασάν, την οποία θα διέσχιζε αργότερα ο Δρόμος του Μεταξιού από την Κίνα προς τη Μεσόγειο. Είναι πιθανό, η άγρια ποικιλία Ευρασιατικής αμπέλου *Vitis sylvestris* να μεγάλωνε εδώ στην αρχαιότητα, από την οποία προέρχεται το υποείδος *Vitis vinifera*, το οποίο χρησιμοποιείται σήμερα στην οινοποιία.



Εικόνα 2. Δοχείο από το Godin Tere με οπή κοντά στη βάση (Βασιλικό Μουσείο Οντάριο).

Η αρχιτεκτονική των δοχείων που βρέθηκαν στο Godin Tere (στενό στόμιο, επιμήκης λαιμός, εσωτερική επένδυση από πηλό) υποδεικνύει τη χρήση τους για μεταφορά και αποθήκευση υγρών, όπως επίσης και η ύπαρξη μίας μικρής οπής στο κάτω μέρος τους, από την οποία πιθανολογείται πως έρρεε ο οίνος. Πολλά από τα θραύσματα των δοχείων περιείχαν μία κόκκινη εναπόθεση στο εσωτερικό. Ανάλυση της σύστασης του κόκκινου υπολείμματος των δοχείων αυτών με υπέρυθρη φασματοσκοπία (1990), έδειξε την ύπαρξη ταρταρικού οξέος, το οποίο απαντάται σχεδόν αποκλειστικά σε σταφύλια,

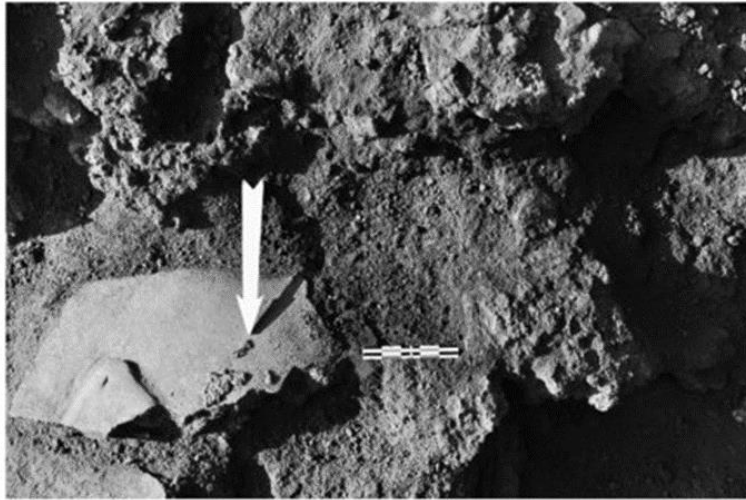
γεγονός που συμφωνεί με την υπόθεση πως περιείχαν έναν τύπο αρχαίου οίνου. Επιπλέον, προϊόντα αποδόμησης ανθοκυανίνων αποτελούν στοιχεία που αποκλείουν τη χρήση των δοχείων για αποθήκευση άλλων υγρών, όπως η μύρα και το ελαιόλαδο (McGovern et al., 2003).

1.1.3 Οινοποίηση στον Ελλαδικό χώρο – Ο ρόλος του οίνου

Στον Ελλαδικό χώρο, ενδείξεις καλλιέργειας αμπέλου εμφανίζονται σχετικά αργότερα. Συγκεκριμένα, ευρήματα από πυρήνες σε αρχαιολογικούς τόπους της Θεσσαλίας και Μακεδονίας από την Ύστερη Νεολιθική εποχή (4300-2800 π.Χ.) απαντώνται συχνά, αλλά όχι σε αριθμό ικανό να υποδηλώνει την καλλιέργειά τους. Οι ισχυρότερες ενδείξεις προέρχονται από την Ύστερη Ελλαδική περίοδο IV (2200-2000 π.Χ.) (McGovern et al., 2003). Αναλύσεις υπολειμμάτων σε αγγεία της 3^{ης} χιλιετίας (Πρώιμη Εποχή του Χαλκού) που βρέθηκαν στην Κρήτη έχουν ταυτοποιηθεί ως οίνος (Valamoti et al., 2007).

Κατά την κλασική περίοδο, η Ιταλία και η Ελλάδα θεωρούνταν ως οι γνωστότερες οινοπαραγωγικές χώρες. Η βόρεια Ελλάδα, και συγκεκριμένα η Θράκη και η Θάσος, καθώς και τα νησιά Χίος και Λήμνος, παρήγαγαν οίνους που θεωρούνταν υψηλής ποιότητας κατά την αρχαιότητα. Σήμερα, η Ελλάδα παράγει την πλειοψηφία των κρασιών της από γηγενείς, και πιθανώς αρχαίες, ποικιλίες (Jackson R. S., 2008).

Τα αρχαιοβοτανολογικά ευρήματα της περιοχής Ντικιλί-Τας (Ορθόπετρα) των Φιλίππων περιλαμβάνουν καψαλισμένους πυρήνες σταφυλιών που χρονολογούνται στο 4460-4000 π.Χ. Τα νεολιθικά οικήματα στα οποία βρέθηκαν καταστράφηκαν από φωτιά, με αποτέλεσμα τη συντήρηση των σταφυλιών. Τα ευρήματα αυτά δείχνουν την ύπαρξη πυρήνων σταφυλιού μαζί με την εξωτερική επιφάνεια, τα οποία πιθανώς χρησιμοποιήθηκαν για την εξαγωγή του χυμού. Ο χυμός αυτός πιθανολογείται να χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή οίνου, γεγονός που συμφωνεί και με άλλα ευρήματα των ίδιων οικημάτων, όπως η ανακάλυψη ποτηριών με δύο λαβές (Valamoti et al., 2007).



Εικόνα 3. Τμήματα δοχείου με υπολείμματα *vitis vinifera*, που έπειτα από ανάλυση πιθανολογείται πως περιείχε μία μορφή οίνου με ρητίνη.

Ο ρόλος του οίνου

Οι κυριότερες πηγές σχετικά με την παραγωγή και διανομή του οίνου στην Αρχαία Ελλάδα προέρχονται από Μινωικά και Μυκηναϊκά διοικητικά αρχεία σε Γραμμική Α και Β. Το κρασί που συλλεγόταν από τα ανάκτορα είχε πολλές χρήσεις, και συγκεκριμένα χρησιμοποιούνταν για άμεση κατανάλωση ως μέρος ιεροτελεστιών της ανώτερης τάξης, για την παρασκευή αρωμάτων, ως εμπορικό αγαθό, ως προσφορά στους θεούς, και για κατανάλωση σε εορτές. Φαίνεται πως η κατανάλωση κρασιού ήταν σημαντικό στοιχείο του Ελληνικού πολιτισμού, και έχει παράδοση που χρονολογείται εδώ και τουλάχιστον 5000 έτη (McGovern et al., 2003).

Οι θετικές αλλά και οι αρνητικές επιδράσεις του οίνου στον άνθρωπο ήταν γνωστές στον αρχαίο κόσμο. Συγγραφείς από την 3^η χιλιετία π.Χ. ακόμα επισημαίνουν τις ευεργετικές χρήσεις του. Ωστόσο, εκτεταμένες είναι και οι αναφορές σχετικά με τις αρνητικές επιδράσεις του. Κατά τον 4^ο π.Χ. αιώνα, ο Ιπποκράτης συμπεριέλαβε τις απόψεις που επικρατούσαν γύρω από την κατανάλωση οίνου σε μία θεραπευτική μεθοδολογία, με την οποία υποστήριζε πως η κατανάλωση κρασιού είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της υγιούς κατάστασης, σε σημείο που “συνταγογραφούσε” συγκεκριμένους τύπους οίνου για συγκεκριμένες παθήσεις. Οι

απόψεις του Ιπποκράτη και των μεταγενέστερών του υιοθετήθηκαν πλήρως από τους Ρωμαίους, και ιδιαίτερα από τον Κέλσο (27π.Χ- 37μ.Χ.) ο οποίος εστίασε στο ρόλο της διατροφής ως θεραπευτικής πρακτικής. Αν και τα αρχαία Ελληνικά και Ρωμαϊκά γραπτά εγκωμιάζουν τη χρήση του οίνου, προτείνουν αυτή να γίνεται με μέτρο. Αυτό φαίνεται στο γεγονός πως η κατανάλωση κρασιού γινόταν έπειτα από αραιώση με νερό, καθώς η απευθείας κατανάλωση θεωρούταν βάρβαρη πρακτική, και μόνο ο Διόνυσος και οι άλλοι θεοί μπορούσαν να το καταναλώσουν χωρίς αραιώση, καθώς δε θα επηρεάζονταν από τα συμπτώματα μέθης (McGovern et al., 2003).

1.1.4 Σύγχρονη Οινοποιία

Σήμερα το 61% των αμπελώνων παγκοσμίως βρίσκονται στην Ευρώπη, και από την παραγωγή τους περίπου το 77% χρησιμοποιείται για την παραγωγή κρασιού. Τη μεγαλύτερη έκταση αμπελώνων καταλαμβάνει η Ισπανία, ωστόσο ο μεγαλύτερος όγκος οίνου παράγεται από τη Γαλλία και την Ιταλία, οι οποίες ευθύνονται για το 50% της παραγωγής οίνου παγκοσμίως, και αποτελούν και τον κύριο καταναλωτή (Jackson R. S. 2008).

Αμπελουργία και οινοποίηση στην Ελλάδα

Η αμπελουργία παίζει σημαντικό ρόλο στον αγροτικό τομέα της Ελλάδας, με σχεδόν 110.000 εκτάρια αμπέλου να παράγουν 2,3 εκατομμύρια εκατόλιτρα οίνου το 2020, με αποτέλεσμα η Ελλάδα να βρίσκεται ανάμεσα στις 10 χώρες στην παραγωγή οίνου στην Ευρώπη. Από τα πρώτα χρόνια της αμπελουργίας, τα αμπέλια που καλλιεργούνταν ήταν οργανικής καλλιέργειας, αν και αταξινόμητα, καθώς γινόταν χρήση μόνο λιπασμάτων ζωικής προέλευσης. Τα γόνιμα εδάφη της Ελλάδας αποτελούν μόνο ένα μικρό τμήμα της συνολικής της έκτασης, με αποτέλεσμα την απομόνωση των αμπελώνων σε μέρη με χαμηλό δυναμικό ανάπτυξής τους.

Ο ακριβής αριθμός των γηγενών ποικιλιών αμπέλου της Ελλάδας δεν είναι γνωστός, καθώς οι ειδικοί διαφωνούν ως προς αυτόν, με μερικούς να υποστηρίζουν πως ανέρχεται σε

περισσότερες από 350. Ωστόσο πιστεύεται πως μία πιο ρεαλιστική προσέγγιση είναι πιθανώς 200. Πολλοί υποστηρίζουν πως η Ελλάδα έχει την πλουσιότερη συλλογή γηγενών ποικιλιών από κάθε άλλη οινοπαραγωγική χώρα. Η διαφωνία σχετικά με τον αριθμό των γηγενών ποικιλιών προέρχεται από τις διαφορετικές ονομασίες που δίνονται σε κάθε περιοχή για την ίδια ποικιλία. Από όλες τις γηγενείς ποικιλίες αμπέλου, περίπου 60 χρησιμοποιούνται σε ευρεία κλίμακα, και έχουν τη δυνατότητα να παρέχουν σημαντικό αγοραστικό πλεονέκτημα στα ελληνικά κρασιά.

Ένα κοινό χαρακτηριστικό των ελληνικών οινοποιήσιμων ποικιλιών είναι τα σχετικά χαμηλά επίπεδα αλκοόλ, μεταξύ 12 και 13,5% abv (alcohol by volume), γεγονός που επιτρέπει την κατανάλωση του οίνου μαζί με το γεύμα (Lazarakis M., 2005).

1.1.5 Οινοποιητικές ποικιλίες αμπέλου

1.1.5.1 Λευκές ποικιλίες

Ασύρτικο

Μία από τις σπουδαιότερες οινοποιητικές ποικιλίες αμπέλου, και από τις καλύτερες στη λεκάνη της Μεσογείου, είναι το Ασύρτικο, με χαρακτηριστική υψηλή οξύτητα (pH μικρότερο από 3). Η άμπελος του Ασύρτικου είναι ανθεκτική στις περισσότερες ασθένειες. Υπό φυσιολογικές, μη στρεσογόνες συνθήκες, έχει τη δυνατότητα να παράγει περισσότερα από 60 εκατόλιτρα ανά εκτάριο. Το Ασύρτικο είναι ιδιαίτερα ανθεκτικό στην ξηρασία, και ο σκληρός φλοιός του το προστατεύει από τους έντονους θερινούς ανέμους των νησιών του Αιγαίου πελάγους. Επιπλέον, είναι εξαιρετικά ευπροσάρμοστο σε διαφορετικούς τύπους εδάφους και κλίματος.

Οι περιοχές στις οποίες δε καλλιεργείται είναι λίγες, και έχει ιδιαίτερο ρόλο στον οίνο ΠΟΠ Σαντορίνη, καθώς και τον οίνο ΠΟΠ Πλαγιές Μελιτόνα της Χαλκιδικής. Το Ασύρτικο δεν απαιτεί ωρίμανση σε βαρέλι, ωστόσο μπορεί να παλαιωθεί για τουλάχιστον 5 έτη, δίνοντας ξηρές εκδοχές.

Μαλαγουζιά

Η ιστορία της ποικιλίας αυτής είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα, καθώς είχε σχεδόν εκλείψει έως τα μέσα του 1970, όταν ο καθηγητής της Γεωπονικής Σχολής Θεσσαλονίκης, Λογοθέτης, καλλιέργησε στη Χαλκιδική, σε έκταση του κτήματος Καρρά, διάφορες σπάνιες ποικιλίες που είχε συλλέξει από όλη την Ελλάδα. Εκεί καλλιεργήθηκε και η άγνωστη μέχρι τότε Μαλαγουζιά, την οποία είχε συλλέξει από την Αιτωλοακαρνανία. Στη συνέχεια, όλα τα σταφύλια οινοποιήθηκαν μαζί, χωρίς να γίνει αξιολόγηση του δυναμικού κάθε ποικιλίας. Η μετέπειτα ανακάλυψη του ιδιαίτερου χαρακτήρα της μαλαγουζιάς, καθώς και η εξάπλωσή της, οφείλονται στον Ευάγγελο Γεροβασιλείου, του Κτήματος Καρρά, καθώς και στην Ρωξάνη Μάτσα, του Κτήματος Μάτσα, οι οποίοι συνέβαλαν στην εξάπλωση αυτής της ποικιλίας.

Η άμπελος αυτή δεν είναι ανθεκτική στην ξηρασία, και η ωρίμανσή της μπορεί να επιταχυνθεί με μία ή δύο περιόδους στάγδην ύδρευσης. Ο τρύγος γίνεται σε διαφορετικά στάδια ωρίμανσης, με συνέπεια τα διαφορετικά επίπεδα αρωμάτων στο τελικό προϊόν. Οι οίνοι που προέρχονται από τη Μαλαγουζιά είναι τριών ειδών: παλαιωμένοι σε δρύινα βαρέλια, καθώς και δύο τύποι κρασιών δεξαμενής με διαφορετικό αρωματικό προφίλ (Lazarakis M., 2005).

1.1.5.2 Ερυθρές ποικιλίες

Αγιωργίτικο

Η ποικιλία αυτή, μαζί με το Ξινόμαυρο, θεωρούνται οι πιο σημαντικές ποικιλίες αμπέλου στην Ελλάδα από άποψη διεθνούς αναγνωρισιμότητας. Η ποικιλία του Αγιωργίτικου ονομάζεται “πολυδύναμη”, καθώς μπορεί να οδηγήσει σε πολλούς τύπους κρασιών, όπως ερυθρωποί και ερυθροί οίνοι.

Το Αγιωργίτικο είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο σε ικές μολύνσεις, και δε μπορούν να βρεθούν κλώνοι απαλλαγμένοι από ιούς. Παρόλα αυτά, μπορεί να δώσει υψηλές αποδόσεις. Είναι επίσης ευαίσθητο σε μούχλα και ερυσίβη, έλλειψη σε κάλιο, και υγρασία. Για την παραγωγή ποιοτικών καρπών απαιτούνται συνθήκες στρες. Οι ιδανικές συνθήκες για καλλιέργεια της ποικιλίας αυτής είναι πυκνή φύτευση (περίπου 5.000 άμπελοι ανά εκτάριο), καθώς και άνυδρα, άγονα εδάφη, σε συνδυασμό με διαρκή έλεγχο του θόλου. Για να επιτευχθεί η πλήρης

ωρίμανση σε άρωμα και φαινολικές ενώσεις, απαιτείται μακρά περίοδος ανάπτυξης, σε σημεία με κατά προτίμηση υψηλό υψόμετρο. Η ωρίμανση ολοκληρώνεται στα μέσα του Σεπτεμβρίου. Το Αγιωργίτικο είναι η ποικιλία του οίνου ΠΟΠ Νεμέας, και καλλιεργείται ευρέως στην Αττική και την κεντρική και βόρεια Πελοπόννησο (Lazarakis M., 2005).

Ξινόμαυρο

Όπως και το Αγιωργίτικο, η ποικιλία αυτή είναι “πολυδύναμη”, και δίνει οίνους διαφορετικών ειδών, όπως ερυθρωποί, ερυθροί, ακόμη και αφρώδεις. Ωστόσο, θεωρείται το αντίθετο του Αγιωργίτικου, καθώς ενώ το Αγιωργίτικο αναπτύσσεται σχετικά εύκολα, το Ξινόμαυρο απαιτεί ιδιαίτερες συνθήκες ανάπτυξης. Η ποικιλία αυτή ωφελείται από μακρόχρονη παλαιώση για αρκετά χρόνια, έως και δεκαετίες. Η ποικιλία αυτή έχει ιδιαίτερες καλλιεργητικές απαιτήσεις, καθώς είναι ευαίσθητη σε άνυδρες συνθήκες, σε μούχλα και ερυσίβη, καθώς και στον βοτρυτή της άμπελου. Έχει υψηλές απαιτήσεις σε ασβέστιο, και ευδοκμεί σε εδάφη με υψηλή κατακράτηση σε νερό. Επιπλέον, η ευαισθησία του στην έλλειψη σε κάλιο, αντικατοπτρίζεται στα υψηλά επίπεδα οξύτητας του καρπού.

Για καλύτερα αποτελέσματα, προτείνεται η φύτευση περίπου 4.000 αμπέλων ανά εκτάριο. Η δομή του θόλου που σχηματίζεται από το φύλλωμα είναι επίσης σημαντική. Ένα συχνό πρόβλημα της ποικιλίας αυτής είναι η ωρίμανση των σακχάρων και ταννίνων. Επιπλέον, η κλωνική επιλογή είναι ιδιαίτερα σημαντική για αυτή την ποικιλία, και υπάρχει μεγάλος αριθμός διαθέσιμων κλώνων με διαφορετικά χαρακτηριστικά, όπως ο χρόνος ωρίμανσης, το μέγεθος των τσαμπιών και των φύλλων, το χρώμα και μέγεθος του καρπού κα. Σήμερα, καλύτερη επιλογή θεωρείται η ανάμιξη διάφορων κλώνων και όχι η εύρεση του ιδανικού κλώνου (Lazarakis M., 2005).

1.1.6 Στάδια της οινοποίησης

Η διαδικασία της οινοποίησης ξεκινά με τη συγκομιδή των καρπών (τρύγος), το διαχωρισμό των σταφυλιών από τους βλαστούς (εκκραγισμός), και τη θραύση τους ώστε να απελευθερωθεί

ο χυμός. Στη συνέχεια ακολουθεί η διαδικασία της διαύγασης, η οποία διευκολύνει την εξαγωγή θρεπτικών και αρωματικών ουσιών από τον πολτό, το φλοιό και τους πυρήνες. Το στάδιο της διαύγασης είναι σύντομο για τη λευκή οινοποίηση, και σπανίως διαρκεί πάνω από μερικές ώρες. Τα ερυθρώπα κρασιά παράγονται από ερυθρές ποικιλίες αμπέλου, με σύντομη περίοδο διαύγασης, έως και 24 ώρες. Για τα ερυθρά κρασιά ωστόσο, το στάδιο αυτό είναι παρατεταμένο, και μπορεί να διαρκέσει έως και τρεις εβδομάδες, ενώ πραγματοποιείται ταυτόχρονα με την αλκοολική ζύμωση. Η παραγόμενη αλκοόλη υποβοηθά έτσι την εξαγωγή των ανθοκυανινών, και την πρόσληψη των ταννινών από τα στέμφυλα. Μία ακόμη διαδικασία πίεσης βοηθά στην απελευθέρωση του υπόλοιπου χυμού. Η ζύμωση πραγματοποιείται σε ανοξείδωτες δεξαμενές διαλείποντος έργου πλήρους αναμίξεως, και μπορεί να ξεκινήσει αυθόρμητα εξαιτίας των ενδημικών ζυμών που βρίσκονται στην επιφάνεια των σταφυλιών. Η πιο διαδεδομένη πρακτική ωστόσο, είναι ο εμβολιασμός του γλεύκους με στελέχη ζυμομηκύτων γνωστών χαρακτηριστικών. Με το πέρας της αλκοολικής ζύμωσης μπορεί να ακολουθήσει μία ακόμη ζύμωση, η μηλογαλακτική, αν και είναι διαδικασία προαιρετική, και εφαρμόζεται στα ερυθρά κρασιά, καθώς συμβάλει στη μείωση της οξύτητάς τους. Τέλος, ακολουθεί η ωρίμανση, και περαιτέρω επεξεργασία πριν την εμφιάλωση, όπως η απομάκρυνση ιζήματος που δημιουργείται (Jackson R. S. 2008).

1.1.6.1 Αλκοολική ζύμωση

Φυσιολογικά, Η διαδικασία της ζύμωσης πραγματοποιείται αυθόρμητα. Εάν τα σταφύλια αφεθούν για πολλές ημέρες, τότε ξεκινά η διαδικασία της ζύμωσης, λόγω των σακχάρων που περιέχουν. Όταν ο καρπός υποστεί ρήξη και απελευθερωθεί ο χυμός, τότε αποικείται από ζυμωτική χλωρίδα, η οποία μετατρέπει τα σάκχαρα σε αλκοόλ (αιθανόλη). Ωστόσο, η διαδικασία αυτή θα τερματιστεί προτού παραχθεί αιθανόλη εάν ο ζυμομύκητας *Saccharomyces cerevisiae* δεν είναι παρόν στο περιβάλλον, καθώς δεν είναι μέλος της ενδημικής χλωρίδας της αμπέλου.

Η αλκοολική ζύμωση είναι μία αναερόβια διαδικασία μεταβολισμού, στην οποία το υπόστρωμα και το τελικό προϊόν είναι οργανικές ενώσεις. Η γλυκόζη και η φρουκτόζη

μεταβολίζονται προς αιθανόλη, μέσω γλυκόλυσης. Η διαδικασία αυτή έχει μελετηθεί εκτεταμένα στον ζυμομήκητα *S. cerevisiae*, ο οποίος, μαζί με τον *Oenococcus oeni* αποτελεί τον κύριο μικροοργανισμό στη διαδικασία της οινοποίησης. Οι δύο αυτές ζύμες έχουν ανθεκτικότητα σε ήπιες και υψηλές συγκεντρώσεις αιθανόλης, και επιπλέον ο *S. cerevisiae* δεν είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος σε υψηλές συνθήκες οξύτητας (Jackson, 2008).

Ωστόσο, κατά την αυθόρμητη αλκοολική ζύμωση διάφορα είδη ζύμης μπορεί να είναι παρόντα, όπως τα είδη *Candida*, *Kloeckera*, *Hanseniaspora*. Για τον περιορισμό τους, τα οινοποιεία προσθέτουν διοξείδιο του θείου, και εμβολιάζουν τον παραγόμενο χυμό με ξηρές ζύμες (*Saccharomyces cerevisiae*), οι οποίες είναι ανθεκτικές και μπορούν να αναπτυχθούν παρουσία του. Η τεχνική αυτή είναι η πιο διαδεδομένη σήμερα, ωστόσο υπάρχουν και παραδοσιακά κελάρια τα οποία συνεχίζουν να χρησιμοποιούν την αυθόρμητη αλκοολική ζύμωση, καθώς πιστεύεται πως προσδίδει πιο περίπλοκο χαρακτήρα στο τελικό προϊόν (Moreno-Arribas, Polo, 2009). Τα παραπάνω χαρακτηριστικά έχουν καταστήσει τον *S. cerevisiae* την κυρίαρχη ζύμη στην διαδικασία παραγωγής κρασιού.

Η διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης για παραγωγή οίνου πραγματοποιείται σε δεξαμενές διαλείποντος έργου πλήρους αναμίξεως, δηλαδή η συγκέντρωση των διαθέσιμων θρεπτικών είναι μέγιστη στην αρχή της ζύμωσης, και μειώνεται κατά τη διάρκειά της. Με το τέλος της ζύμωσης, τα περισσότερα σάκχαρα έχουν μεταβολιστεί, με αποτέλεσμα την παραγωγή “ξηρού” οίνου. Η καμπύλη ανάπτυξης του *S. cerevisiae* σε αυτές τις συνθήκες, έχει διαφοροποιήσεις από την τυπική καμπύλη που παρατηρείται φυσιολογικά. Συγκεκριμένα, η περίοδος προσαρμογής είναι σχεδόν ανύπαρκτη, η φάση εκθετικής αύξησης είναι σχετικά σύντομη, η στατική φάση μπορεί να ξεκινήσει προτού περιοριστούν τα θρεπτικά, ενώ η φάση θανάτου είναι ιδιαίτερα μεγάλη (Jackson R. S., 2008). Τα δύο τελικά προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης, δηλαδή η αιθανόλη και το διοξείδιο του άνθρακα, μπορούν να μεταφερθούν εκτός του κυττάρου με απλή διάχυση (Moreno-Arribas, Polo, 2009).

Ανάπτυξη

Ο αρχικός πληθυσμός της ζύμης, στην περίπτωση που δε γίνει εμβολιασμός, είναι περίπου 10^4 κύτταρα/ml, ενώ μπορεί να είναι υψηλότερος σε περιπτώσεις μυκητιακών μολύνσεων. Όταν γίνεται εμβολιασμός από τον οινοποιό, ο αρχικός πληθυσμός μπορεί να φτάσει περίπου τα 5×10^6 κύτταρα/ml. Μόλις τα κύτταρα προσαρμοστούν στις περιβαλλοντικές συνθήκες (περίοδος προσαρμογής), αρχίζουν να αναπτύσσονται. Στα αρχικά στάδια της αλκοολικής ζύμωσης, οι ζύμες καταναλώνουν σάκχαρα και άλλα θρεπτικά του χυμού ώστε να αυξήσουν τον πληθυσμό τους. Η περίοδος αυτή μπορεί να επηρεαστεί από παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η συγκέντρωση αμμωνίας, και η παρουσία οξυγόνου. Κατά τη φάση ανάπτυξης πληθυσμός της ζύμης μπορεί να αυξηθεί έως και 10^8 κύτταρα/ml, και η φάση αυτή διαρκεί 3-6 ημέρες. Στη συνέχεια, η ανάπτυξη επιβραδύνεται καθώς υπάρχει έλλειψη θρεπτικών (ημι-στατική φάση), και ο πληθυσμός παραμένει σταθερός έως και 10 ημέρες. Η φάση θανάτου αρχίζει με σταδιακή μείωση του πληθυσμού έως ότου αυτός εξαφανιστεί, και οφείλεται σε έλλειψη θρεπτικών, και συσσώρευση τοξικών προϊόντων (Moreno-Arribas M. V., Polo M. C., 2009).

1.1.6.2 Μηλογαλακτική ζύμωση

Η μηλογαλακτική ζύμωση είναι μία διαδικασία ενζυμικής μετατροπής του L- μηλικού οξέος σε L- γαλακτικό οξύ, και συνήθως έπεται της αλκοολικής ζύμωσης. Πραγματοποιείται από βακτήρια του γαλακτικού οξέος, κυρίως από το είδος *Oenococcus oeni*, το οποίο είναι ανθεκτικό σε χαμηλό pH (<3,5), υψηλή συγκέντρωση αιθανόλης (>10% vol), και υψηλά επίπεδα διοξειδίου του θείου (50mg/l), δηλαδή συνθήκες που επικρατούν στο κρασί (Moreno-Arribas M. V., Polo M. C., 2009).

1.1.7 Συστατικά οίνου

Η πλειοψηφία των συστατικών του κρασιού αποτελείται από προϊόντα και υποπροϊόντα της μεταβολικής δραστηριότητας του ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae* κατά τη διαδικασία της ζύμωσης. Τα βασικά συστατικά του κρασιού είναι το νερό και η αιθανόλη. Ωστόσο, η γεύση του καθορίζεται από περίπου 20 διαφορετικές ουσίες, ενώ συνολικά περισσότερες από 700 αρωματικές ενώσεις έχουν απομονωθεί και ταυτοποιηθεί στο κρασί (Jackson R. S. 2008).

1.1.7.1 Νερό

Το νερό αποτελεί το κύριο στοιχείο της σύστασης των σταφυλιών αλλά και του κρασιού, και παίζει σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση των χαρακτηριστικών του κρασιού. Μόνο τα υδατοδιαλυτά συστατικά θα διαδραματίσουν ρόλο στο τελικό προϊόν.

1.1.7.2 Σάκχαρα

Τα σάκχαρα είναι μία κατηγορία υδατανθράκων, η οποία διακρίνεται από την παρουσία πολλαπλών υδροξυλικών ομάδων, καθώς και μίας ομάδας αλδεϋδης ή κετόνης. Απλά σάκχαρα μπορούν να συνδυαστούν δίνοντας πολυμερή. Τα κύρια σάκχαρα των σταφυλιών είναι η γλυκόζη και η φρουκτόζη, και απαντώνται σε ίσες ποσότητες στα ώριμα σταφύλια. Το περιεχόμενο σε σάκχαρα μπορεί να ποικίλει ανάλογα το είδος, την ποικιλία, και το βαθμό ωρίμανσης. Τα σάκχαρα είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη και το μεταβολισμό των ζυμομηκόντων κατά την αλκοολική ζύμωση, καθώς ο *Saccharomyces cerevisiae* αντλεί τη μεταβολική του ενέργεια από τη γλυκόζη και τη φρουκτόζη. Προϊόν του μεταβολισμού των σακχάρων είναι η αιθανόλη, αλλά μπορούν να προκύψουν και ανώτερες αλκοόλες, εστέρες λιπαρών οξέων, και αλδεϋδες (Jackson R. S. 2008).

1.1.7.3 Αλκοόλες

Η αιθανόλη είναι η σημαντικότερη αλκοόλη στο κρασί. Ποσότητες της μπορούν να παραχθούν κατά το μούλιασμα των σταφυλιών, αλλά η κύρια πηγή παραγωγή της είναι η αλκοολική ζύμωση. Υπό φυσιολογικές συνθήκες ζύμωσης μπορεί να παραχθεί σε ποσοστό 14-15%., ενώ υψηλότερα επίπεδα μπορούν να επιτευχθούν με την προσθήκη επιπλέον σακχάρων κατά τη ζύμωση. Η παραγωγή της επηρεάζεται από το περιεχόμενο σε σάκχαρα, τη θερμοκρασία ζύμωσης, και το στέλεχος της ζύμης. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης αυξάνεται η ποσότητά της, με αποτέλεσμα την αναστολή της ανάπτυξης μικροοργανισμών. Επιπλέον, μπορεί να αποτελέσει σημαντικό διαλύτη των μη πολικών αρωματικών ενώσεων.

1.1.7.4 Οξέα

Τα περισσότερα λευκά κρασιά έχουν pH μεταξύ 3,1 και 3,4, ενώ τα ερυθρά μεταξύ 3,3 και 3,6. Τα κύρια οξέα που υπάρχουν στο κρασί είναι ανόργανα οξέα, καρβονικά ή θειώδη, και υπάρχουν και σε μορφή διαλυμένων αερίων (CO₂ και SO₂ αντίστοιχα), τα οποία δεν επηρεάζουν το pH. Άλλα οξέα που συναντάμε στο κρασί αποτελούν προϊόντα της ζύμωσης. Αυτά μπορεί να είναι το ακετικό, το μαλικό, το λακτικό, το σουκινικό, και το ταρταρικό. Συγκεκριμένα, το ταρταρικό οξύ είναι χαρακτηριστικό της άμπελου *V. vinifera*, και η συγκέντρωσή του δεν φθίνει κατά την ωρίμανση του σταφυλιού.

1.1.7.5 Φαινόλες και φαινολικά παράγωγα

Οι φαινόλες είναι μία μεγάλη ομάδα ουσιών με μεγάλη σημασία για τα χαρακτηριστικά του ερυθρού οίνου. Είναι ενώσεις βενζολικού δακτυλίου, με μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες συνδεδεμένες απευθείας πάνω στη δομή του δακτυλίου. Αν και φέρουν υδροξυλομάδες, οι φαινόλες δεν εμφανίζουν ιδιότητες παρόμοιες με τις αλειφατικές αλκοόλες. Οι κύριες φαινολικές ενώσεις στο κρασί είναι διφαινυλπροπανοειδή (φλαβονοειδή) είτε φαινυλπροπανοειδή (μη φλαβονοειδή), με τα κύρια φλαβονοειδή να είναι φλαβονόλες, κατεχίνες, ανθοκυανίνες, και μικρές ποσότητες λευκοανθοκυανινών (ερυθρά κρασιά).

Τα φλαβονοειδή υπάρχουν σε ελεύθερη μορφή είτε ως πολυμερή, συνδεδεμένα με άλλα φλαβονοειδή, σάκχαρα, μη φλαβονοειδή, ή συνδυασμό τους. Τα πολυμερή τόσο των φλαβονοειδών, όσο και των μη φλαβονοειδών ονομάζονται ταννίνες. Ο ρόλος τους στα σταφύλια, καθώς και σε άλλα φυτά, πιστεύεται πως είναι προστατευτικός, καθώς είναι η πρώτη άμυνα έναντι μικροβιακών παθογόνων, παράσιτων, και φυτοφάγων. Οι φλαβονόλες απαντώνται στο φλοιό, και έχουν την ικανότητα να απορροφούν την υπεριώδη ακτινοβολία, προστατεύοντας έτσι τους εσωτερικούς ιστούς από βλάβη. Στο κρασί συνεισφέρουν στο χρωματισμό, όπως επίσης και οι ανθοκυανιδίνες. Τα φλαβονοειδή είναι χαρακτηριστικά των ερυθρών οίνων, καθώς απαρτίζουν πάνω από το 85% του φαινολικού τους περιεχομένου ($\geq 1000\text{mg/l}$), ενώ στα λευκά κρασιά απαρτίζουν περίπου το 20% των φαινολών ($\leq 50\text{mg/l}$), με το υπόλοιπο να αποτελείται από μη φλαβονοειδή.

Τα μη φλαβονοειδή είναι δομικά πιο απλές ενώσεις, με σκελετό που αποτελείται από 3-6 άτομα άνθρακα. Αν και η πρωταρχική τους πηγή είναι τα σταφύλια, μικρές ποσότητες μπορούν να εξαχθούν και από τα βαρέλια στα οποία πραγματοποιείται η παλαίωση. Τα κύρια μη φλαβονοειδή μόρια είναι παράγωγα του υδροξυκιναμικού και υδροξυβενζοϊκού οξέος, με τα παράγωγα του υδροξυκιναμικού να απαρτίζουν το μεγαλύτερο ποσοστό. Ωστόσο όταν τα κρασιά ωριμάζουν σε δρύινα βαρέλια μπορούν να έχουν αυξημένα επίπεδα παραγώγων υδροξυβενζοϊκού οξέος. Επιπλέον, ο μεταβολισμός των ζυμών μπορεί να αποτελέσει πηγή μη φλαβονοειδών φαινολών, κυρίως τυροσόλης.

Κατά τα αρχικά στάδια της ζύμωσης το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο του κρασιού είναι υψηλό. Οι ενώσεις που αποσπώνται πρώτες είναι παράγωγα υδροξυκιναμικών και υδροξυβενζοϊκών οξέων, και ακολουθούν φλαβονόλες των σταφυλιών και ανθοκυανίνες. Οι κατεχίνες και τα πολυμερή τους είναι οι τελευταίες ενώσεις που διαλύονται στον πολτό. Συνεπώς, παρατηρείται μείωση στο φαινολικό περιεχόμενο, καθώς αυτές οξειδώνονται και πολυμερίζονται, και επίσης σχηματίζουν δεσμούς με πρωτεΐνες και κυτταρικά υπολείμματα του ιζήματος. Η μείωση αυτή συνεχίζεται και κατά την ωρίμανση, μέχρι την παλαίωση σε δρύινα βαρέλια, όπου παρατηρείται παροδική αύξηση στο φαινολικό περιεχόμενο (Jackson R. S. 2008).

1.1.7.6 Βιταμίνες

Οι βιταμίνες βρίσκονται σε μικρές ποσότητες στο χυμό των σταφυλιών, και στο κρασί. Η συγκέντρωσή τους μειώνεται κατά τη διαδικασία της ζύμωσης και παλαίωσης, και η μοναδική βιταμίνη που φαίνεται να αυξάνεται σημαντικά κατά τη ζύμωση είναι το p-αμινοβενζοϊκό οξύ (PABA). Παρόλα αυτά, τα επίπεδα βιταμινών στο κρασί δε θεωρούνται ιδιαίτερα σημαντικά για τη διατροφή του ανθρώπου, και θεωρούνται επαρκή μόνο για τη μικροβιακή ανάπτυξη.

1.1.7.7 Διαλυμένα αέρια

Τα κυριότερα αέρια που βρίσκονται σε διαλυμένη μορφή στο κρασί είναι τα CO₂, O₂, και SO₂. Το CO₂ προέρχεται από το μεταβολισμό της ζύμης, και η μεγαλύτερη ποσότητά του διαφεύγει

κατά τη ζύμωση. Η ζύμωση πραγματοποιείται κάτω από αναερόβιες συνθήκες, ωστόσο το O₂ επιτρέπει στις ζύμες να συνθέσουν σημαντικά συστατικά. Επιπλέον, περιορίζει την αμαύρωση στο κρασί. Το SO₂ αποτελεί σημαντικό συστατικό του κρασιού, και υπάρχει σε ποσότητες 12-64 mg/l, ως αποτέλεσμα του μεταβολισμού των ζυμομηκύτων. Η ποσότητά του είναι ικανή να δράσει ως αντιμικροβιακός παράγοντας, καθώς συμβάλει στη σχάση των δισουλφιδικών δεσμών διάφορων ενζύμων και ρυθμιστικών πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα τη διαταραχή του κυτταρικού μεταβολισμού. Μπορεί επίσης να συνδεθεί με λιπίδια, προκαλώντας δυσλειτουργία των κυτταρικών μεμβρανών. Επιπλέον, μπορεί να συμβάλει στον περιορισμό της ανάπτυξης αδρανών ζυμών, καθώς αυτές εμφανίζουν ευαισθησία στα επίπεδα SO₂, με αποτέλεσμα την αναστολή τους. Το SO₂ εμφανίζει επίσης αντιοξειδωτικό χαρακτήρα, περιορίζοντας την οξείδωση των φαινολικών ενώσεων, και ανάγοντας το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε νερό.

Επιπλέον, μπορεί να προστεθεί ως υγροποιημένο αέριο από τους οινοποιούς. Στο εμφιαλωμένο κρασί, το περιεχόμενο σε SO₂ μπορεί να μειωθεί με την πάροδο του χρόνου, χάνοντας την προστατευτική ικανότητά του (Jackson R. S. 2008).

1.1.7.8 Αμινοξέα και βιογενείς αμίνες

Τα αμινοξέα, μαζί με τις πρωτεΐνες και τα πεπτίδια απαρτίζουν τα βασικά αζωτούχα συστατικά στο κρασί. Αποτελούν θρεπτικά για τις ζύμες κατά την αλκοολική ζύμωση, και μπορούν να μεταβολιστούν και από τα βακτήρια γαλακτικού οξέος. Περίπου 20 αμινοξέα σε ελεύθερη μορφή έχουν ανιχνευθεί στο μούστο, και αντιπροσωπεύουν το 28-30% του συνολικού του αζώτου. Οι βιογενείς αμίνες είναι ενώσεις μικρού μοριακού βάρους που προκύπτουν από αρωματικά αμινοξέα, και όλες έχουν θετικό φορτίο και έναν υδρόφοβο σκελετό. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις είναι απαραίτητες για τη φυσιολογική λειτουργία ζώων, φυτών και μικροοργανισμών (Moreno-Arribas M. V., Polo M. C., 2009).

1.1.7.9 Πεπτίδια

Αποτελούν ετερογενή ομάδα ενώσεων με διαφορετικά χαρακτηριστικά. Μπορούν να εμφανίσουν αντιυπερτασική ιδιότητα, και αποτελούν θρεπτικά στοιχεία για τις ζύμες της

αλκοολικής ζύμωσης. Πεπτίδια χαμηλού μοριακού βάρους εμφανίζουν αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, και αντιυπερτασικές λειτουργίες, ωστόσο εκτός από την αντιυπερτασική τους δράση, οι υπόλοιπες δεν είναι εκτενώς μελετημένες. Η αντιυπερτασική λειτουργία τους οφείλεται στην αναστολή του ενζύμου μετατροπής της αγγειοτενσίνης (ACE), το οποίο ευθύνεται για την αύξηση της αρτηριακής πίεσης μέσω της μετατροπής της αγγειοτενσίνης I, ενός ισχυρού αγγειοσυστολέα, σε αγγειοτενσίνη II, καθώς και μέσω της αποδόμησης της βραδυκινίνης, ενός αγγειοδιαστολέα. Σύμφωνα με Pozo-Bayón et al. (2005), τα πεπτίδια συνεισφέρουν σημαντικά σε αυτή τη δράση, και συγκεκριμένα, έχει διαπιστωθεί πως η αντιυπερτασική δράση των ερυθρών οίνων είναι μεγαλύτερη από των λευκών (Moreno-Arribas M. V., Polo M. C., 2009).

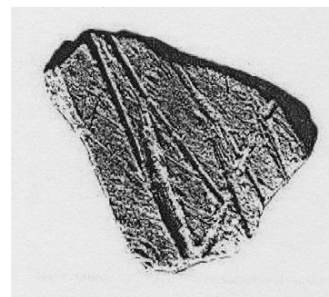
1.2. Ζύθος

1.2.1 Τα πρώτα ευρήματα

Η εξημέρωση του κριθαριού 10,000 χρόνια πριν, και η ανάπτυξη της αγροτικής παραγωγής συνέβαλαν στην παραγωγή και κατανάλωση ροφημάτων που έχουν υποστεί ζύμωση. Η διαδικασία της ζυθοποίησης αναπτύχθηκε από τους Σουμέριους το 6000 π.Χ., και εξελίχθηκε από τους αρχαίους Αιγυπτίους, όπως φαίνεται σε τοιχογραφίες 3300 ετών σε πυραμίδες της πόλης Λούξορ (Wendland J., 2014).

Η πρώτη αναφορά που γίνεται στη μύρα προέρχεται από το έπος του Γκιλγκαμές, περίπου 4,700 χρόνια πριν. Η ανάπτυξη της αυτοκρατορίας των Σουμέριων στην περιοχή της Μεσοποταμίας βασίστηκε στην καλλιέργεια των σιτηρών, από τα οποία παρασκευάζεται η μύρα. Οι αρχαιότερες ενδείξεις για άλεση σιτηρών χρονολογούνται περίπου 23,000 πριν, αν και προοριζόνταν για την παρασκευή αρτοσκευασμάτων, ενώ λίθινα δοχεία που βρέθηκαν στην ανατολική Τουρκία, στον Νεολιθικό αρχαιολογικό χώρο του Göbekli Tere και χρονολογούνται 11,600 χρόνια πριν, πιθανώς περιείχαν ένα είδος ροφήματος από σιτηρά (DeSalle R., Tattersall I., 2009).

Υπολείμματα οξαλικού ασβεστίου σε πήλινα δοχεία στον αρχαιολογικό τόπο Godin Tepe στο Βόρειο Ιράν πιστεύεται πως αποτελούν την αρχαιότερη ένδειξη μύρας κριθαριού (DeSalle R., Tattersall I. 2009). Το συγκεκριμένο εύρημα αποτελείται από θραύσμα ενός δοχείου που χρονολογείται μεταξύ 3500-2900 π.Χ., και περιείχε μία κιτρινωπή ουσία στην εσωτερική επιφάνεια. Ανάλυση των υπολειμμάτων του θραύσματος έδειξαν την παρουσία ιόντων οξαλικού (πιθανώς οξαλικού ασβεστίου) σε μεγάλες ποσότητες. Επιπλέον, στο ίδιο σημείο βρέθηκε απανθρακωμένο και κριθάρι (Nelson M., 2005).



Εικόνα 4. Θραύσμα από τον αρχαιολογικό τόπο Godin Tepe (3500-2900 π.Χ.) (Nature magazine)

Πήλινες πλάκες που φέρουν τον ύμνο στη Σουμέρια θεά της μύρας Νινκάσι, περιέχουν μία βασική συνταγή ενός τέτοιου ροφήματος, που περιλαμβάνει μούλιασμα του βυνοποιημένου σπόρου σε νερό, και προσθήκη μελιού. Ωστόσο, τα πρώτα ροφήματα μύρας δεν ήταν δυνατόν να διατηρηθούν για μεγάλο διάστημα, και καταναλώνονταν φρέσκα αμέσως μετά την παρασκευή τους. Η προσθήκη του λυκίσκου επέτρεψε τη διατήρηση και τη μεταφορά της μύρας, με συνέπεια την επέκτασή της (DeSalle R., Tattersall I. 2009).

Αν και οι αρχαιότερες ενδείξεις παραγωγής μύρας προέρχονται από την Ανατολή, πιθανολογείται πως οι διάφοροι λαοί ανακάλυψαν αυτόνομα την διαδικασία ζύμωσης των σιτηρών. Μία σημαντική συνταγή για την παραγωγή αιγυπτιακής μύρας από τον 4^ο π.Χ. αιώνα προβλέπει το μούλιασμα κριθαριού με στόχο την άνθισή του και την παρασκευή ρολού το οποίο θερμαίνεται σε νερό. Μετά τη ζύμωση, η μύρα σερβίρεται αφού περαστεί από φίλτρο. Η μύρα αυτή ονομάζεται “μούζα” και παράγεται ακόμη και σήμερα στην Αίγυπτο (Nelson M., 2005).

1.2.2 Ο ρόλος του ζύθου στην Ελλάδα

Σύμφωνα με ενδείξεις σε Γραμμική Α, είναι πιθανό ο Μινωικός λαός να παρασκεύαζε και καταλάωνε ένα ρόφημα από κριθάρι και άλλα συστατικά, ωστόσο τα ευρήματα δεν έχουν



Εικόνα 5. Αποθηκευτικό αγγείο (πίθος) με υπολείμματα οίνου και ζύθου, Μύρτος, Κρήτη, 2220 π.Χ.

αποκρυπτογραφηθεί πλήρως. Επίσης, αρχαιολογικά ευρήματα από το χωριό Μύρτος στην Κρήτη, που προέρχονται από πρώιμο Μινωικό οικισμό (2220 π.Χ.) περιλαμβάνουν δύο δοχεία αποθήκευσης που περιείχαν προϊόν κριθαριού, πιθανώς μύρα. Η υπόθεση αυτή ενισχύεται και από την ανακάλυψη ενός τρίποδου σκεύους μαγειρικής που χρονολογείται περίπου στα 1700 π.Χ.

στην περιοχή Αποδούλου στο Ρέθυμνο, και περιέχει ίχνη οξαλικού (Nelson M., 2005). Από ευρήματα φαίνεται πως οι Μίνωες, αλλά και ο Μυκηναϊκός λαός αναμίγνυαν τον οίνο με το ζύθο που παρασκεύαζαν, είτε διότι δεν υπήρχε διαχωρισμός

της μεθόδου παραγωγής για τα δύο ροφήματα, είτε διότι παρασκευάζονταν στα ίδια δοχεία. Και οι δύο λαοί παρασκεύαζαν τα προϊόντα ζύμωσης με ανάμιξη όλων των συστατικών, όπως σιτηρών, φρούτων, μελιού, αρωματικών φυτών κ.α. (Martlew H., Tzedakis Y., 1999).

Ευρήματα του αρχαιολόγου Arthur Evans, και συγκεκριμένα ευρήματα και απεικονίσεις κριθαριού στην επιφάνεια δοχείων, αποδεικνύουν πως οι Μίνωες κατανάλωναν ένα είδος ροφήματος από κριθάρι και κεχρί πολύ πριν το κρασί, πιθανώς επηρεασμένοι από τους Αιγυπτίους, ενώ μεταγενέστερα μινωικά δοχεία που ανακαλύφθηκαν στα Χανιά (1600-1200 π.Χ.) περιείχαν ένα μίγμα οίνου, μύρας κριθαριού, και υδρόμελου. Σύμφωνα με ιστορικές πηγές, ο ζύθος φαίνεται πως έπαιζε ρόλο σε θρησκευτικές τελετές ως προσφορά στη θεά της γονιμότητας και των σιτηρών Δήμητρα, ακόμα και κατά την κλασική περίοδο (Harrison J. E., 2021).

Ωστόσο, παρά τα σημαντικά ευρήματα που δείχνουν την παρασκευή και κατανάλωση μύρας στον ελλαδικό χώρο, φαίνεται πως επικρατούσε μία προκατάληψη σχετικά με την κατανάλωσή της, καθώς οι αρχαίοι Έλληνες συνέδεαν την κατανάλωση ζύθου με βάρβαρους λαούς, όπως τους κατοίκους της Θράκης και τους Πεόνες (Nelson M., 2005).

1.2.3 Συστατικά του ζύθου

Η μύρα είναι ένα ρόφημα αποτελούμενο παραδοσιακά από τέσσερα συστατικά: κριθάρι (*Hordeum vulgare*), λυκίσκο (*Humulus lupulus* L.), ζύμη, και νερό (Osorio-Paz I. et al., 2020), ενώ μπορεί να περιέχει και άλλα δημητριακά (σιτάρι, σίκαλη, όλυρα, σόργο) (Preedy V. R., 2011). Περιέχει μίγμα ουσιών όπως υδατάνθρακες, και διάφορα μεταλλικά ιόντα (Osorio-Paz I. et al., 2020). Η ζύμη που χρησιμοποιείται για την παραγωγή μύρας είναι η *Saccharomyces cerevisiae*, ενώ κάποιες φορές χρησιμοποιείται και το γένος *Brettanomyces* (Preedy V. R., 2011).

1.2.3.1 Κριθάρι- σιτηρά

Περίπου το 63% του κριθαριού αποτελείται από άμυλο, 6% κυτταρίνη, 8-13,5% πρωτεΐνη, 3% ιχνοστοιχεία, 3% λιπίδια, βιταμίνες (κυρίως του συμπλόκου B), πολυφαινόλες (Preedy V. R., 2011).

1.2.3.2 Λυκίσκος

Ο λυκίσκος (*Humulus lupulus* L.) είναι ένα φυτό που καλλιεργείται στις περισσότερες εύκρατες περιοχές. Οι θεραπευτικές ιδιότητες του λυκίσκου είναι γνωστές εδώ και αιώνες καθώς χρησιμοποιούνταν ως φάρμακο, ενώ σήμερα χρησιμοποιείται σχεδόν αποκλειστικά στη ζυθοποίηση για το άρωμά του, τη σταθερότητα που προσδίδει στον αφρό της μύρας, και τις αντιμικροβιακές ιδιότητές του. Οι διάφορες ποικιλίες λυκίσκου μπορούν να διαφοροποιηθούν εξαιτίας των δευτερευόντων μεταβολιτών τους, όπως ρητίνες, αιθέρια έλαια, πολυφαινόλες, τα οποία εντοπίζονται στους αδένες του φυτού. Η ποσότητα των πολυφαινολών μπορεί να διαφέρει, αποτελώντας το 3-6% του ξηρού βάρους. Οι παράγοντες που συνεισφέρουν σε αυτή τη διαφοροποίηση είναι η ποικιλία του λυκίσκου, η γεωγραφική περιοχή όπου καλλιεργείται, η διαδικασία συλλογής, και ο τρόπος ξήρανσης (Callemien D. et al., 2005).

Ο λυκίσκος προσδίδει τη χαρακτηριστική γεύση της μύρας, αλλά περιέχει επίσης και φαρμακολογικά δραστικές ουσίες, όπως υπνωτικές ουσίες. Τα συστατικά του χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: ρητίνες (10-20%) οι οποίες διευκολύνουν την πέψη, παράγοντες γεύσης (0,4-

2%), και πολυφαινόλες (4-14%), με αντιοξειδωτικές και αντικαρκινικές δράσεις. Η ποσότητα των πολυφαινολών εξαρτάται από την ποικιλία του λυκίσκου, την περιοχή όπου καλλιεργείται, και τις κλιματικές συνθήκες που επικρατούν (Preedy V. R., 2011).

1.2.3.3 Ζύμες

Οι ζύμες που χρησιμοποιούνται είναι κυρίως του γένους *Saccharomyces*, ωστόσο μερικά ζυθοποιεία χρησιμοποιούν και το γένος *Brettanomyces*. Αναλόγως τον τύπο μύρας, οι συνθήκες καλλιέργειας της ζύμης διαφέρουν, με τις ζύμες που δρουν στον πάτο της δεξαμενής να απαιτούν θερμοκρασίες 8-14° C, και αυτές που δρουν στην επιφάνεια της δεξαμενής να καλλιεργούνται σε θερμοκρασίες 15-26° C (Preedy V. R., 2011).

1.2.4 Στάδια παραγωγής

Η διαδικασία παραγωγής της μύρας περιλαμβάνει πολλά στάδια, αλλά διαχωρίζεται σε δύο κύριες κατηγορίες, τη βυνοποίηση (malting), και τη ζυθοποίηση (brewing) (Preedy V. R., 2011). Η παραγωγή μύρας πραγματοποιείται με διαδικασία συνεχούς ζύμωσης, σε πέντε δεξαμενές. Εκτός από τη ζύμη *Saccharomyces*, στη διαδικασία παραγωγής συμμετέχουν και άλλοι μικροοργανισμοί. Πηγή ενέργειας αποτελούν τα σάκχαρα που προέρχονται κυρίως από το κριθάρι (Aroh K., 2019).

Η διαδικασία παραγωγής ξεκινά με τη βυνοποίηση, κατά την οποία οι σπόροι κριθαριού βυθίζονται σε νερό ώστε να εκκολαφθούν. Στη συνέχεια, ψήνονται, αλέθονται, και αναμιγνύονται με νερό, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός πολτού, ο οποίος βράζεται. Στο στάδιο του βρασμού προστίθεται ο λυκίσκος. Ακολουθεί η διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης, με δύο είδη ζυμομυκήτων, ανάλογα τον τύπο της μύρας, το είδος *Saccharomyces cerevisiae* για τις μύρες τύπου ale, και το είδος *Saccharomyces uvarum* και *carlsbergensis* για τις μύρες τύπου lager (Osorio-Paz I. et al., 2020).

1.2.4.1 Βυνοποίηση

Βυνοποίηση ονομάζεται η διαδικασία τεχνητής βλάστησης μίας καλλιέργειας σιτηρών που προορίζεται για την παραγωγή ζύθου, σε αυτή την περίπτωση του κριθαριού. Για να γίνει αυτό απαιτείται οξυγόνο, υγρασία, και θερμοκρασίες μεταξύ 14-18° C. Η διαδικασία αυτή διαρκεί 6 ημέρες, και κατά τη διάρκειά της πραγματοποιούνται βιοχημικές διεργασίες στο εσωτερικό του σπόρου, όπως η παραγωγή υδρολυτικών ενζύμων για τη διάσπαση του κυτταρικού τοιχώματος, το οποίο χρησιμοποιείται ως πηγή ενέργειας από το έμβρυο, που ονομάζεται και πράσινη βύνη. Ακολουθεί η ξήρανση ή αλλιώς καβουρντίσμα της πράσινης βύνης, κατά την οποία αφαιρείται το νερό και παράγονται οι χαρακτηριστικές αποχρώσεις και τα αρώματα της μύρας. Η ξήρανση γίνεται σε θερμοκρασίες 80-100° C, και συνεχίζεται έως ότου το περιεχόμενο σε νερό φτάσει στο 3,5-4% για παραγωγή ανοιχτόχρωμων βυνών, και 1,5-2% για τις σκουρόχρωμες βύνες, μέσω του καβουρντίσματος. Οι διαφοροποιήσεις στην απόχρωση της βύνης, αλλά και στο άρωμα, προέρχονται τόσο από το διαφορετικό πρωτεϊνικό περιεχόμενο, όσο και από τις διαφορετικές θερμοκρασίες καβουρντίσματος. Θερμοκρασία μεγαλύτερη των 95° C δίνει σκουρόχρωμες βύνες και εντονότερο άρωμα, ενώ θερμοκρασία καβουρντίσματος περίπου 80° C δίνει ανοιχτόχρωμες βύνες.

Προτού η βύνη που παράχθηκε υποστεί αλκοολική ζύμωση, περνάει μέσα από έναν μύλο όπου αλέθεται, με στόχο την αύξηση της διαθέσιμης επιφάνειας. Ο βαθμός άλεσης μπορεί να ποικίλει, δίνοντας διαφορετικά αποτελέσματα στο τελικό προϊόν. Στη συνέχεια, η αλεσμένη βύνη αναμιγνύεται με νερό, διαχωρίζονται τα στερεά από τα υγρά συστατικά, και σχηματίζεται το ζυθογλεύκος, το οποίο βράζει σε δεξαμενές. Στόχος του βρασμού είναι η εξάτμιση του νερού και των ανεπιθύμητων ουσιών, ο σχηματισμός αρωματικών ουσιών (μελανοϊδίνες), η αδρανοποίηση ενζύμων, και η αποστείρωση (Preedy V. R., 2011).

1.2.4.2 Ζυθοποίηση

Κατά τη διάρκεια του βρασμού ξεκινά η ζυθοποίηση του ζυθογλεύκους, με την προσθήκη λυκίσκου. Η προσθήκη του γίνεται σε δύο δόσεις, στην αρχή και στο τέλος του βρασμού, αλλά ορισμένοι ζυθοποιοί προσθέτουν λυκίσκο και μετά την αλκοολική ζύμωση. Στη συνέχεια, και αφού το ζυθογλεύκος που περιέχει λυκίσκο κρυώσει, γίνεται εμβολιασμός με ζύμες του γένους

Saccharomyces συνήθως, σε συνήθη αναλογία 15-20.000.000 κύτταρα/ml. Για την παραγωγή δυνατής μύρας τύπου ale προτείνεται η προσθήκη 30.000.000 κυττάρων/ml. Η δεξαμενή ζύμωσης μπορεί να είναι είτε ανοιχτή είτε κλειστή, ωστόσο είναι απαραίτητο να αερίζεται και να αναδύεται. Με το πέρας αυτής της διαδικασίας, και αφού παραχθεί η μύρα, ακολουθεί η ωρίμανσή της, με αφαίρεση πτητικών ουσιών, και η αποθήκευσή της σε χαμηλή θερμοκρασία (0-2° C) με στόχο τον καθαρισμό και την αύξηση της σταθερότητάς της. Τελευταίο βήμα είναι η διαύγαση (φιλτράρισμα) της μύρας, μέσω ειδικών φίλτρων ή μέσω φυγοκέντρωσης, και η συσκευασία της (Preedy V. R., 2011).

1.2.5 Τύποι μύρας

Ανάλογα με τη θερμοκρασία ζυθοποίησης και το είδος ζύμης που χρησιμοποιείται, οι μύρες χωρίζονται σε 2 κατηγορίες: τύπου pilsner ή lager (8-14° C), και τύπου ale (15-26° C) (Preedy V. R., 2011). Επιπλέον, οι διαφορετικές αποχρώσεις του ζύθου είναι αποτέλεσμα του διαφορετικού βαθμού καβουρντίσματος, καθώς και συστατικών των αντιδράσεων Maillard (μελανοϊδίνες), των πολυφαινολών, αλλά και άλλων χρωστικών. Το χρώμα επηρεάζεται επίσης και από τις συνθήκες παραγωγής (θερμοκρασία βρασμού) και θεωρείται πως είναι ανάλογο του φαινολικού περιεχομένου της μύρας (Mann L. B., Folts J. D., 2004).

1.3 Στατιστικά στοιχεία – Ελλάδα

1.3.1 Οίνος

Στην Ελλάδα δραστηριοποιούνται σήμερα 1350 οινοποιεία (αύξηση περισσότερο από 100% σε μία δεκαετία), με τα 692 να παράγουν οίνους Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (ΠΟΠ) και Προστατευόμενης Γεωγραφικής Ένδειξης (ΠΓΕ). Στη χώρα παράγονται 7,500 ετικέτες οίνου, με τη βασική τους διαφορά την ποικιλία της αμπέλου (περίπου 280 αυτόχθονες ποικιλίες), την περιοχή προέλευσης, καθώς και τις μεθόδους παραγωγής.

Η συνολική έκταση που χρησιμοποιήθηκε για καλλιέργεια αμπέλου το 2019 στην Ελλάδα έφθασε τα 63,200 εκτάρια, δηλαδή 3,05% της συνολικής έκτασης αγροτικής έκτασης της χώρας, παρουσιάζοντας μείωση σε σχέση με το 2009 (70,000 εκτάρια). Οι οινοποιήσιμες

ποικιλίες αμπέλου αποτελούν το 1,71% της παραγωγής ενώ οι επιτραπέζιες το 1,34%. Τα ελληνικά οινοποιεία παράγαγαν 2,4 εκατομμύρια εκατόλιτρα οίνου το 2020, συνεισφέροντας έτσι στο 1,0% της παγκόσμιας παραγωγής. Συγκεκριμένα, οι οίνοι ΠΟΠ και ΠΓΕ αποτελούν το 22,7% της ολικής παραγωγής οίνου της χώρας, ενώ οι επιτραπέζιοι οίνοι αποτελούν το υπόλοιπο 67,8%. Η εγχώρια κατανάλωση άγγιξε τα 1,6 εκατομμύρια εκατόλιτρα, με τον κυρίαρχο τύπο οίνου να είναι ο λευκός, ενώ οι ερυθροί αποτελούν μόνο το 1/3 της συνολικής παραγωγής της χώρας (Anastasiadis F., Alebaki M., 2021). Σύμφωνα με το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης, το έτος 2019-2020 παράχθηκαν 780.103 εκατόλιτρα ερυθρού και ερυθρωπού οίνου, και 1.606.318 εκατόλιτρα λευκού οίνου (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης, 2020). Τέλος, οι εξαγωγές οίνου για το έτος 2019 αφορούσαν 79,5 εκατομμύρια ευρώ, και οι εισαγωγές 48,4 εκατομμύρια ευρώ (Anastasiadis F., Alebaki M., 2021).

1.3.2 Ζύθος

Σύμφωνα με στοιχεία της Ένωσης Ζυθοποιών Ευρώπης, στην Ελλάδα δραστηριοποιούνται 62 ενεργά ζυθοποιεία, ενώ τα συνολικά ζυθοποιεία στην Ευρώπη ανέρχονται σε 9.240 (στοιχεία για το έτος 2020). Η παραγωγή μύρας για το 2020 υπολογίζεται στα 3.377.000 εκατόλιτρα, ενώ αποτελείται επίσης και από ζύθο χωρίς αλκοόλ, μίγματα (Radler) μύρας, και μύρες με χαμηλό αλκοόλ. Το σύνολο της παραγωγής της Ευρώπης για την ίδια χρονιά υπολογίζεται 341.037.000 εκατόλιτρα. Επιπλέον, η παραγωγή ζύθου έχει συνεισφέρει 154.28 εκατομμύρια ευρώ στην ελληνική οικονομία το 2020. Από την παραγόμενη μύρα, 604.000 εκατόλιτρα μύρας αποτελούν τις εξαγωγές της χώρας για το έτος 2020, και συγκεκριμένα 377.000 εκατόλιτρα εξάχθηκαν σε χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης, και 227.000 σε χώρες εκτός Ευρωπαϊκής Ένωσης. Επιπλέον, εισήχθησαν 258.000 εκατόλιτρα ζύθου, 213.000 εκατόλιτρα από χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης, και 45.000 εκατόλιτρα από χώρες εκτός Ευρωπαϊκής Ένωσης (Ένωση ζυθοποιών Ευρώπης, 2018).

Σχετικά με την παραγωγή λυκίσκου, στην Ευρώπη εντοπίζονται 2.600 γεωγραφικές καλλιέργειες λυκίσκου, συνολικής έκτασης 26.500 εκταρίων, που αντιστοιχούν στο 60% της παγκόσμιας έκτασης καλλιέργειας λυκίσκου. Ο λυκίσκος καλλιεργείται σε 14 χώρες της

Ευρωπαϊκής Ένωσης, με τη Γερμανία να καταλαμβάνει τη μεγαλύτερη έκταση με 17.000 εκτάρια. Οι υπόλοιποι κύριοι παραγωγοί λυκίσκου είναι η Τσεχία, η Πολωνία, και η Σλοβενία, ενώ στην Ελλάδα δεν καλλιεργείται λυκίσκος. Η παραγόμενη ποσότητα λυκίσκου αποτελεί εξαγόμενο προϊόν, με κύριο αγοραστή τη Ρωσία, τις ΗΠΑ, και την Ιαπωνία. Η ετήσια παραγωγή λυκίσκου στην Ευρώπη είναι 50.000 τόνοι ετησίως, με την έκτασή του παγκοσμίως, αλλά ιδιαίτερα στην Ευρώπη να μειώνεται. Οι λόγοι της μείωσης αυτή είναι η αύξηση της απόδοσης σε πικρά οξέα, αλλά και η μείωση της χρήσης του στο ζύθο, καθώς τα πικρά οξέα προσδίδουν την χαρακτηριστική πικρή γεύση στη μύρα, και τα τελευταία χρόνια παρατηρείται αύξηση στην προτίμηση για λιγότερο πικρές μύρες (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2020).

1.4 Ελεύθερες ρίζες

Ο όρος ελεύθερη ρίζα χρησιμοποιείται για την περιγραφή ενός μορίου που μπορεί να υπάρξει αυτόνομο, και περιέχει ένα ή περισσότερα μονήρη ηλεκτρόνια στην εξωτερική του στοιβάδα (Li R. Et al., 2016). Οι ελεύθερες ρίζες έχουν μικρό χρόνο ημιζωής (χιλιοστά του δευτερολέπτου έως νανοδευτερόλεπτα), και μπορούν να προκύψουν από τη μεταφορά ενός ηλεκτρονίου με κατανάλωση ενέργειας (Cheeseman K. H., Slater T. F., 1993). Η απλούστερη ελεύθερη ρίζα που μπορεί να υπάρξει είναι το άτομο υδρογόνου με ένα μονήρες ηλεκτρόνιο. Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να αντιδράσουν μεταξύ τους, σχηματίζοντας ένα μη ριζικό προϊόν, το οποίο συνήθως είναι λιγότερο δραστικό από τις αρχικές ενώσεις. Ελεύθερες ρίζες και δραστικές μορφές οξυγόνου σχηματίζονται διαρκώς στον ανθρώπινο οργανισμό, είτε μέσω φυσιολογικών διεργασιών είτε από λάθη (Halliwell B., 2001).

1.4.2 Δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS)

Ο όρος δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) είναι ένας συλλογικός όρος, και χρησιμοποιείται για να περιγράψει μία ομάδα μορίων που περιέχουν οξυγόνο, τόσο ελεύθερες ρίζες, όπως το ανιόν υπεροξειδίου, η ρίζα υδροξυλίου, καθώς και μη ριζικά μόρια, όπως το υπεροξειδίο

υδρογόνου και το μοριακό οξυγόνο. Λόγω της υψηλής τους δραστηριότητας οι ROS μπορούν να προκαλέσουν βλάβες σε μεγαλομόρια όπως οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια, τα νουκλεϊκά οξέα, οδηγώντας σε ιστική βλάβη, αλλά και να προκαλέσουν τη δημιουργία δευτερευόντων ηλεκτρονιόφιλων μορίων (Li R. Et al., 2016). Η παρουσία ελεύθερου ηλεκτρονίου προσδίδει οξειδωτικές και αναγωγικές ιδιότητες στις ROS, καθώς μπορούν να προσλάβουν και να διαθέσουν τα ελεύθερα ηλεκτρόνια τους (Yannakorouli E., 2009).

Φυσιολογικά οι ROS έχουν δράση διαμεσολαβητή σε φλεγμονώδεις αντιδράσεις, και μπορούν να ενεργοποιήσουν την κυτταρική σηματοδότηση, ενισχύοντας έτσι την παραγωγή και απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυττοκινών (Li R. Et al., 2016).

1.4.2.1 Πηγές ROS

Οι ROS έχουν τόσο ενδογενείς όσο και εξωγενείς πηγές. Στις ενδογενείς περιλαμβάνονται η μιτοχονδριακή αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, και οι NAD(P)H οξειδάσες, ενώ οι εξωγενείς πηγές τους μπορούν να είναι η ακτινοβολία, ρυπαντές και περιβαλλοντικές ουσίες (Li R. et al., 2016). Επιπλέον, ξеноβιοτικές ενώσεις και φάρμακα μπορούν να οδηγήσουν στην παραγωγή ελεύθερων ριζών μέσω της αποτοξικοποίησής τους (Berg J. M., et al., 2002). Η διατροφή μπορεί να είναι επίσης σημαντική πηγή οξειδωτικών ενώσεων (Ames B. N., 1986; Kanner J., Labidot T., 2001; Lijinsky W., 1999).

Η διαρροή ηλεκτρονίων από την αναπνευστική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια, μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό ρίζας υπεροξειδίου (O_2^{\bullet}). Η έκθεση σε ιονίζουσα ακτινοβολία μπορεί να αποτελέσει πηγή παραγωγής OH^{\bullet} και H^{\bullet} εξαιτίας της θραύσης του δεσμού O-H στο νερό. Η ρίζα OH^{\bullet} είναι ιδιαίτερα δραστική και μπορεί να αντιδράσει με σχεδόν όλα τα μόρια των οργανισμών, προκαλώντας βλάβες τόσο στο σημείο σχηματισμού της όσο και σε μεγάλη απόσταση από αυτό. Η ρίζα (O_2^{\bullet}) παράγεται φυσιολογικά από φαγοκύτταρα ως μηχανισμός άμυνας και καταστροφής βακτηρίων. Επιπλέον, σε μικρές εξωκυττάρειες συγκεντρώσεις μπορεί να έχει ρόλο σηματοδοτικού μορίου για πολλούς κυτταρικούς τύπους, όπως ενδοθηλιακά κύτταρα, λεμφοκύτταρα και ινοβλάστες. Η

μεγαλύτερη ποσότητα $O_2^{\bullet -}$ *in vivo* μετατρέπεται σε υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) και οξυγόνο μέσω του ενζύμου της δισμουτάσης του υπεροξειδίου. Το H_2O_2 αποτελεί μη ριζικό ROS, και εξαιτίας της ομοιότητάς του με το νερό μπορεί να διαχυθεί εύκολα μεταξύ των κυττάρων. Δεν είναι ιδιαίτερα δραστικό, ωστόσο μπορεί να συνδεθεί με μεταλλικά ιόντα (σιδήρου ή χαλκού), σχηματίζοντας το πολύ δραστικό OH^{\bullet} . Μπορεί επίσης να σχηματιστεί από τη δράση οξειδασών του κυττάρου, όπως η οξειδάση της ξανθίνης. Το H_2O_2 έχει και ευεργετικές δράσεις, καθώς μπορεί να συμβάλλει στην παραγωγή θυροειδικών ορμονών, είτε να δράσει ως σηματοδοτικό μόριο (Halliwell B., 2001).

1.4.3 Οξειδωτικό στρες

Ο όρος οξειδωτικό στρες χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά από τον Helmut Sies το 1985, για να περιγράψει μία κατάσταση ανισορροπίας μεταξύ των επιπέδων ROS και της αντιοξειδωτικής άμυνας των κυττάρων, προς όφελος των ROS, και μπορεί να προκληθεί είτε από υπερπαραγωγή ROS, είτε από μειωμένη δράση ή ποσότητα αντιοξειδωτικών μορίων. Ήπια επίπεδα οξειδωτικού στρες μπορούν να προκαλέσουν βλάβη των μακρομορίων (λιπίδια, νουκλεϊκά οξέα, πρωτεΐνες) και δυσλειτουργία του κυττάρου, ενώ υπέρμετρο οξειδωτικό στρες μπορεί να οδηγήσει σε κυτταρικό θάνατο (απόπτωση, αυτοφαγία), και ευθύνεται για μεγάλο αριθμό παθοφυσιολογικών καταστάσεων. Ωστόσο, το οξειδωτικό στρες μπορεί να έχει και ευεργετικές επιδράσεις, καθώς μικρή, παροδική αύξησή του μπορεί να αποτελέσει σηματοδοτικό μηχανισμό για τα κύτταρα, οδηγώντας σε φυσιολογικές κυτταρικές αποκρίσεις (Li R. Et al., 2016). Το οξειδωτικό στρες εμπλέκεται επιπλέον στην έναρξη αλλά και στην εξέλιξη διάφορων παθολογιών, όπως η φλεγμονώδης αντίδραση, διάφορες μορφές καρκίνου (Hecht S. S., 1999), και η γήρανση (Ashok B. T, Ali R., 1999). Επιπλέον, ορισμένες ανεπιθύμητες ενέργειες φαρμάκων αποδίδονται στο οξειδωτικό στρες (Galati G. et al., 2002).

1.5 Αντιοξειδωτικά

Για την προστασία τους ενάντια στις βλάβες που προκαλούνται από τις ROS και το οξειδωτικό στρες, τα κύτταρα των αερόβιων οργανισμών έχουν αναπτύξει μηχανισμούς προστασίας.

Επιπλέον, μεγάλος αριθμός ουσιών που καταναλώνονται μέσω της διατροφής φέρουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες σε βιολογικά συστήματα. Ως αντιοξειδωτικό ορίζεται οποιαδήποτε ουσία που έχει την ικανότητα να παρεμποδίζει, να μειώσει, ή να επιδιορθώσει τις προκαλούμενες από ROS βλάβες, όταν υπάρχει σε συγκεντρώσεις χαμηλότερες σε σχέση με το υπόστρωμά της. Πολλές αναγωγικές ουσίες εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση σε βιολογικά συστήματα (Li R. et al., 2016). Οι αντιοξειδωτικές άμυνες περιλαμβάνουν τόσο ενδογενή όσο και εξωγενή μόρια (Halliwell B., 2001).

Η απομάκρυνση των ελεύθερων ριζών μπορεί να γίνει τόσο με ενζυμικές, όσο και με μη ενζυμικές αντιδράσεις. Τα βασικά αντιοξειδωτικά συστήματα ενάντια στις ROS είναι η δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD), η γλουταθειόνη (GSH), οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης (GPx), η καταλάση (CAT), καθώς και διατροφικά αντιοξειδωτικά (Fang Y. Z. Et al., 2002).

Τα αντιοξειδωτικά χωρίζονται σε τρεις μεγάλες κατηγορίες ανάλογα με το μηχανισμό δράσης τους, i) αντιοξειδωτικά που μπορούν να συλλέξουν απευθείας τις ROS, ii) αντιοξειδωτικά που παρεμποδίζουν το σχηματισμό ROS, iii) αντιοξειδωτικά που απομακρύνουν ή επιδιορθώνουν βλάβες προκαλούμενες από ROS (Li R. et al., 2016).

Τα φρούτα και τα λαχανικά αποτελούν σημαντική πηγή διατροφικών αντιοξειδωτικών, και περισσότερα από το 85% των ολικών αντιοξειδωτικών τους αποτελείται από υδρόφιλα μόρια. Από αυτά, σημαντικά μόρια είναι τα φλαβονοειδή, καθώς έχουν σημαντική αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινική, αντιμικροβιακή, και αντιοξειδωτική δράση (Tan B. L. et al., 2018). Ο προστατευτικός ρόλος των αντιοξειδωτικών in vivo φαίνεται πως δεν είναι να εξαλείψουν όλες τις ελεύθερες ρίζες, αλλά να περιορίσουν τα επίπεδά τους ώστε να εξουδετερωθούν από ενδογενή συστήματα (Gebicki J. M., Nauser T., 2021).

1.5.1 Ευεργετικές επιδράσεις κρασιού

Έχει αποδειχθεί πως η μέτρια κατανάλωση κρασιού μπορεί να έχει ευεργετικές επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία, καθώς μπορεί να προστατεύσει τον άνθρωπο από νευρολογικές παθήσεις,

καρκίνο, διαβήτη τύπου 2, και καρδιαγγειακές παθήσεις. Οι θετικές επιδράσεις του οφείλονται στην ύπαρξη πολυφαινολών με αντιοξειδωτική δράση (Gutiérrez-Escobar R. et al., 2021). Η ήπια κατανάλωση κρασιού έχει συνδεθεί με αυξημένα επίπεδα της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (HDL), αλλά και με μείωση της λιπιδικής υπεροξειδωσης. Επιπλέον, οι ανθοκυανίνες αποτελούν μόρια που μπορούν να αποτελέσουν θεραπευτικούς παράγοντες στην πρόληψη της χρόνιας φλεγμονής, αλλά και άλλων ασθενειών. Πολλές από τις καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες που εμφανίζει ο οίνος αποδίδονται στην ικανότητα αλληλεπίδρασης με τις δραστικές μορφές αζώτου (RNS), και τη δράση τους ως αντιοξειδωτικές ουσίες (Castaldo L., et al., 2019).

1.5.2 Ευεργετικές επιδράσεις μύρας

Η μύρα αποτελεί τη βασική πηγή πυριτίου της δυτικής διατροφής σε υδατοδιαλυτή μορφή. Η πρόσληψη πυριτίου σε ποσότητες 40mg/ημέρα μπορεί να ενισχύσει στην αύξηση της οστικής πυκνότητας, και διεγείρει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και του κολλαγόνου, συμβάλλοντας έτσι στην πρόληψη της οστεοπόρωσης (Osorio-Paz I., et al., 2020). Τα μεταλλικά ιόντα της μύρας παρουσιάζουν επίσης αντιοξειδωτική δράση, καθώς αποτελούν σημαντικό στοιχείο του ενεργού κέντρου διάφορων αντιοξειδωτικών ενζύμων, όπως η δισμουτάση του υπεροξειδίου.

Η μύρα διαθέτει 0,4-6,2g/l φυτικών ινών, και μπορεί έτσι να συνεισφέρει στην πρόληψη καρκίνου του εντέρου. Η χουμουλόνη έχει παρουσιάσει ανασταλτική δράση στην αγγειογένεση σε μελέτες *in vitro* και *in vivo*, αποτρέποντας έτσι την ανάπτυξη όγκων και τη μετάστασή τους. Επιπλέον, η ξανθοχουμόλη και άλλα φλαβονοειδή του λυκίσκου έχουν τη δυνατότητα να αναστείλουν την ενεργοποίηση προκαρκινογόνων ουσιών, αλλά και να αναστείλουν την αύξηση όγκων μέσω φλεγμονοδών σημάτων. Η αντιμεταλλαξιγόνος δράση των φαινολικών ενώσεων, και ιδιαίτερα των μελανοϊδινών, της μύρας οφείλεται στην ικανότητά τους να περισυλλέγουν ρίζες περοξυλίου (Sohravandi S. et al., 2012).

Η κατανάλωση αλκοολούχων ροφημάτων μπορεί να συνεισφέρει στη μείωση της θνησιμότητας λόγω στεφανιαίας αρτηριακής νόσου. Μελέτες έχουν δείξει πως η κατανάλωση μπύρας έχει τη δυνατότητα να ασκήσει αντιοξειδωτική δράση, προστατεύοντας από την εμφάνιση αθηροσκλήρωσης. Επιπλέον, μπύρες με υψηλό περιεχόμενο σε πρωτεΐνες και αμινοξέα μπορούν να μειώσουν τα επίπεδα της χαμηλής περιεκτικότητας χοληστερόλης σε ποντίκια (Sohravandi S. et al., 2012).

Η μπύρα έχει δείξει αντιμικροβιακή δράση σε gram θετικά βακτήρια, ωστόσο η δράση της αυτή δεν έχει μελετηθεί στον άνθρωπο. Επιπλέον, αποτελεί πηγή βιταμινών, και συνεπώς μπορεί να συνεισφέρει στην αντιμετώπιση ασθενειών που οφείλονται σε έλλειψη βιταμινών, όπως η νόσος μπέρι-μπέρι (Sohravandi S. et al., 2012).

1.6 Πολυφαινόλες

Οι πολυφαινόλες είναι μία ομάδα με πάνω από 8000 διαφορετικές ενώσεις, από τις οποίες περίπου 500 αποτελούν τμήμα της ανθρώπινης διατροφής, και προσλαμβάνονται μέσω φρούτων, λαχανικών, κόκκινου κρασιού, τσαγιού κ.α. (Gebicki J. M., Nauser T., 2021). Πολλές πολυφαινόλες μπορούν να διατηρήσουν βασικά στοιχεία της δομής τους μετά την πρόσληψη και το μεταβολισμό από θηλαστικά (Fraga C. G., 2007). Διαθέτουν μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες συνδεδεμένες σε έναν ή περισσότερους δακτυλίους βενζολίου. Απαντώνται σε πολλά φρούτα και λαχανικά, στα σταφύλια, και συνεπώς και στο κρασί. Ωστόσο, η ποικιλία της αμπέλου, οι μέθοδοι οινοποίησης, αλλά και οι ποικιλίες σιτηρών και λυκίσκου, καθώς και οι ζύμες που χρησιμοποιούνται κατά την οινοποίηση και ζυθοποίηση μπορούν να επηρεάσουν την ποσότητά τους στο τελικό προϊόν (Gutiérrez-Escobar R. Et al., 2021).

Οι πολυφαινόλες έχουν μελετηθεί εκτεταμένα καθώς εμφανίζουν αντιοξειδωτική, αντιγηραντική, αντιφλεγμονώδη, αντιδιαβητική, καρδιοπροστατευτική, νευροπροστατευτική, και αντιμικροβιακή δράση. Ωστόσο, οι επιδράσεις τους αυτές σχετίζονται άμεσα με την ποσότητα

στην οποία καταναλώνονται, καθώς και με τη βιοδιαθεσιμότητά τους στον οργανισμό. Οι ιδιότητές τους αυτές διαπιστώθηκαν μέσω μελετών, οι οποίες οδήγησαν στην έννοια του “Γαλλικού παραδόξου”. Η έννοια αυτή διατυπώθηκε από ομάδα Γάλλων επιδημιολόγων το 1980, όταν βρέθηκε μία θετική συσχέτιση μεταξύ διάφορων περιοχών και πληθυσμών, και του ρυθμού θνησιμότητας εξαιτίας καρδιαγγειακών νόσων. Η εξήγηση που δόθηκε ήταν πως η Μεσογειακή διατροφή, η οποία συνοδεύεται από την κατανάλωση ερυθρού οίνου, βελτίωνε την έκβαση καρδιαγγειακών νόσων, παρά τα αυξημένα επίπεδα λίπους που καταναλώνονταν (Gutiérrez-Escobar R. Et al., 2021).

1.6.1 Πολυφαινόλες οίνου

Διαφοροποιήσεις μεταξύ των διαφορετικών κρασιών και ποικιλιών οφείλονται στο γεγονός πως κατά τη διάρκεια της οινοποίησης, οι ερυθροί οίνοι εκτίθενται σε όλα τα τμήματα της αμπέλου, και συνεπώς το πολυφαινολικό τους περιεχόμενο (1-5g/l) είναι μεγαλύτερο από αυτό των λευκών (0,2-0,5g/l), οι οποίοι προκύπτουν μόνο από τον πολτό. Οι ερυθροί οίνοι εμφανίζουν ενδιάμεσες τιμές πολυφαινολών. Συνήθως οι φαινολικές ενώσεις βρίσκονται συνδεδεμένες με σάκχαρα μέσω β -γλυκοσιδικών δεσμών, είτε απευθείας συνδεδεμένα με κάποιον άνθρακα του αρωματικού δακτυλίου. Η γλυκόζη είναι το κυριότερο σάκχαρο στο φλοιό των σταφυλιών, και σε αυτή προσδένονται πολλές φαινολικές ενώσεις. Ένας άλλος παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει τη φύση των φαινολικών ενώσεων είναι η μηλογαλακτική ζύμωση.

Οι συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων στους διάφορους οίνους μπορούν να ποικίλουν, και πολλοί είναι οι παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδά τους. Τα αίτια για τις διαφοροποιήσεις αυτές μπορούν να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες: i) αμπελώνας, ii) διαδικασία οινοποίησης, iii) αποθήκευση οίνου (Gutiérrez-Escobar R. Et al., 2021).

i) Οι παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων και σχετίζονται με την άμπελο μπορούν να είναι γενετικοί, περιβαλλοντικοί ή κλιματικοί (terroir), καθώς και οι συνθήκες καλλιέργειας. Συγκεκριμένα, αν και η άμπελος *Vitis vinifera* έχει

αποδεδειγμένα υψηλές συγκεντρώσεις φαινολικών ενώσεων, αυτές μπορεί αν διαφέρουν ανάλογα με την ποικιλία. Ένας άλλος παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει τη συγκέντρωση των φαινολών είναι ο συνδυασμός κλίματος, εδάφους, και αμπέλου (το λεγόμενο *terroir*). Μελέτες έχουν δείξει υψηλότερες συγκεντρώσεις φαινολών σε ποικιλίες που αναπτύσσονται σε κλίματα με μακρύ χειμώνα και χαμηλές θερμοκρασίες. Επιπλέον, η διαθεσιμότητα του νερού είναι μία ακόμη καθοριστική παράμετρος, και συγκεκριμένα συνθήκες ανάπτυξης με χαμηλές θερμοκρασίες σε συνδυασμό με έλλειψη νερού μπορούν να ενισχύσουν την παραγωγή φαινολών, και συγκεκριμένα ανθοκυανινών. Τέλος, διαφοροποιήσεις μπορούν να υπάρξουν μεταξύ παραδοσιακής και οργανικής καλλιέργειας, με τα επίπεδα φαινολών οργανικής καλλιέργειας να είναι υψηλότερα. Μία εξήγηση είναι πιθανώς πως οι αμπελώνες της οργανικής καλλιέργειας υπόκεινται σε περισσότερες μυκητιακές μολύνσεις, με αποτέλεσμα την παραγωγή περισσότερων μεταβολιτών για την προστασία τους (Gutiérrez-Escobar R. Et al., 2021).

ii) Η προζυμωτική ανθρακική διαβροχή, στην οποία ο μούστος έρχεται σε επαφή με τους φλοιούς των σταφυλιών, υπό συνθήκες έλλειψης οξυγόνου, παίζει σημαντικό ρόλο στα επίπεδα φαινολών. Κατά τη διάρκειά της πραγματοποιείται μεταφορά φαινολικών ενώσεων από το φλοιό στο μούστο, που μπορεί να υποβοηθηθεί και από την ενζυμική δράση πηκτινασών που προστίθεται από τον οινοποιό. Έχει παρατηρηθεί πως κρασιά που παράγονται με αυτή τη διαδικασία έχουν υψηλότερα επίπεδα φαινολικών ενώσεων.

Επιπλέον, το επιλεγόμενο στέλεχος ζύμης επηρεάζει τα φαινολικά επίπεδα του τελικού προϊόντος, καθώς μπορεί να τροποποιήσει τις φαινολικές ενώσεις κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Οι ζύμες μπορούν να αλληλοεπιδράσουν με τις ανθοκυανίνες, καθώς και να τις απορροφήσουν στο κυτταρικό τους τοίχωμα. Έχει βρεθεί πως κρασιά με μίγμα στελεχών εμφανίζουν έως και 3 φορές υψηλότερα επίπεδα φαινολών σε σχέση με κρασιά που παράχθηκαν μόνο με *S. cerevisiae*.

Η προσθήκη ουσιών, όπως το διοξείδιο του θείου, κατά την οινοποίηση μπορεί να επηρεάσει τα φαινολικά επίπεδα. Έχει αποδειχθεί πως η χρήση του μπορεί να παρεμποδίσει την

οξειδωτική δράση των φαινολών, με αποτέλεσμα την απώλειά τους στο τελικό προϊόν. Επιπλέον, παράγοντες “fining” προστίθενται στο κρασί με στόχο την αύξηση της διαύγειάς του. Οι παράγοντες αυτοί, όπως η πολυβινυλοπυρρολιδόνη (PVPP), προσδένουν πρωτεΐνες, ταννίνες και άλλα φαινολικά συστατικά, με αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων τους. Τέλος, το φιλτράρισμα με μεμβρανικά φίλτρα μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της συγκέντρωσης των ταννίνων (κατά 4,8%), των ανθοκυανίνων (κατά 2,4%), αλλά και του συνολικού φαινολικού περιεχομένου κατά 10% .

iii) Κατά την ωρίμανση οι φαινολικές ενώσεις μπορούν να υποστούν μετατροπές. Συγκεκριμένα, οι ανθοκυανίνες μετατρέπονται σε πιο σταθερά πολυμερή, και οι φλαβανόλες μπορούν να συμπυκνωθούν. Επιπλέον, οι θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά των τελικών προϊόντων επηρεάζουν τα επίπεδα φαινολών, και υψηλές θερμοκρασίες σε συνδυασμό με χαμηλό pH επιταχύνουν την απώλεια ταννίνων με υψηλό μοριακό βάρος. Τέλος, η επαναχρησιμοποίηση των βαρελιών στα οποία πραγματοποιείται η ωρίμανση μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τα επίπεδα φαινολών (Gutiérrez-Escobar R. Et al., 2021).

1.6.2 Είδη φαινολικών ενώσεων - οίνος

1.6.2.1 Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή αποτελούνται από έναν σκελετό 15 ατόμων άνθρακα σε διάταξη δύο αρωματικών δακτυλίων, που συνδέονται από μία γέφυρα τριών ανθράκων (C6-C3-C6). Αυτός ο ανθρακικός σκελετός δημιουργεί την ποικιλία αυτής της ομάδας ενώσεων. Όλα τα φλαβονοειδή των σταφυλιών και του κρασιού έχουν μία υδροξυλομάδα στον C5, και C7 του δακτυλίου A. Η αντιοξειδωτική τους δράση οφείλεται στην ικανότητά τους να ανάγουν ελεύθερες ρίζες, και να προσδένουν μέταλλα όπως ο χαλκός και ο ψευδάργυρος, με αποτέλεσμα την αναστολή των αντιδράσεων που καταλύουν οι ελεύθερες ρίζες. Αποτελούνται από τις ανθοκυανίνες, τις φλαβανόλες, τις φλαβονόλες, τις φλαβανόνες, τις φλαβόνες, τις χαλκόνες, και τις ταννίνες (Gutiérrez-Escobar R. Et al., 2021).

Ανθοκυανίνες

Πρόκειται για υδατοδιαλυτές ενώσεις, οι οποίες ευθύνονται για το ερυθρό χρώμα των σταφυλιών και του κρασιού. Στον οίνο έχουν ανιχνευθεί πέντε ανθοκυανίνες: δελφινίνη, κυανιδίνη, πετουνιδίνη, πεονιδίνη, μαλβιδίνη. Η συγκέντρωσή τους στον ερυθρό οίνο είναι 90-400mg/l, και σε περιπτώσεις παλαιωμένου οίνου μπορεί να ξεπεράσει τα 700mg/l ενώ απουσιάζουν από τον λευκό οίνο. Μπορούν να αλληλεπιδράσουν με άλλα φαινολικά συστατικά του οίνου, με αποτέλεσμα τη σταθεροποίησή τους, αλλά και του χρώματος του οίνου.

Φλαβανόλες

Οι φλαβανόλες απαντώνται σε μονομερή (κατεχίνη και επικατεχίνη), και πολυμερή μορφή (προανθοκυανιδίνες). Βρίσκονται στο φλοιό και τον πυρήνα των σταφυλιών, και είναι υπεύθυνες για τη σταθεροποίηση του χρώματος και των αισθητηριακών χαρακτηριστικών του κρασιού. Η συγκέντρωσή τους σε νεαρούς λευκούς οίνους είναι 15-25mg/l, ενώ σε ερυθρούς 4-120mg/l (Gutiérrez-Escobar R. Et al., 2021).

Φλαβονόλες

Πρόκειται για κίτρινες χρωστικές που υπάρχουν στο φλοιό των σταφυλιών. Χαρακτηριστικό τους είναι ο διπλός δεσμός μεταξύ C2 και C3, και η υδροξυλομάδα στη θέση 1. Συνήθως υπάρχουν σε γλυκοσιδωμένη μορφή, συνδεδεμένες με γλυκόζη. Οι φλαβονόλες που απαντώνται στο κρασί είναι: μυρικετίνη, κουερσετίνη, λαρικιτρίνη, καμφερόλη, ισοχαμνετίνη, συρινγκετίνη. Βρίσκονται τόσο στα ερυθρά, όσο και στα λευκά κρασιά, ωστόσο στα λευκά η ποσότητά τους είναι μικρή με αποτέλεσμα να μην επηρεάζουν το χρώμα. Η μέγιστη συγκέντρωσή τους στα ερυθρά κρασιά είναι 60mg/l.

Συμπυκνωμένες ταννίνες

Οι ενώσεις αυτές προκύπτουν από τη συμπύκνωση των φλαβανολών. Η πιο άφθονη συμπυκνωμένη ταννίνη στο κρασί είναι η επικατεχίνη, και μετέπειτα η κατεχίνη. Υπάρχουν

επίσης και με τη μορφή προανθοκυανιδίων, κυρίως στο φλοιό και τους πυρήνες των σταφυλιών, και η συγκέντρωσή τους μπορεί να αυξηθεί κατά την ωρίμανση του κρασιού. Τα επίπεδά τους είναι 1,2-3,3 g/l (Gutiérrez-Escobar R. Et al., 2021).

Φλαβανόνες

Οι φλαβανόνες έχουν μία κορεσμένη ανθρακική αλυσίδα μεταξύ των ατόμων άνθρακα. Ο κύριος εκπρόσωπος αυτής της κατηγορίας φαινολών στο κρασί είναι η ναρινγενίνη, με συγκέντρωση 25mg/l στους ερυθρούς οίνους και 7,7mg/l στους λευκούς.

Φλαβόνες

Οι ενώσεις αυτές χαρακτηρίζονται από ένα διπλό δεσμό μεταξύ των ατόμων άνθρακα, και από την απουσία υδροξυλομάδας στην αλυσίδα. Οι ισοφλαβόνες είναι ισομερή των φλαβονών, και τα επίπεδά τους είναι από 0,2 έως 1 mg/l.

Χαλκόνες

Οι χαλκόνες είναι υποκατηγορία των φλαβονοειδών, οι οποίες περιέχουν δύο αρωματικά συστήματα συνδεδεμένα με ένα ακόρεστο σύστημα. Τα παράγωγά τους είναι σημαντικοί πρόδρομοι φλαβονοειδών που απαντώνται στο κρασί.

Υδρολύμενες ταννίνες

Πρόκειται για μόρια μεγάλου μοριακού βάρους, αποτελούμενα από εστέρες του γαλλικού (γαλλοταννίνες) και του ελλαγικού οξέος (ελλαγιταννίνες), συνδεδεμένα με γλυκόζη ή άλλα σάκχαρα. Είναι πιο ευαίσθητα στη γλυκόλυση από τις συμυκνωμένες ταννίνες, καθώς και στις μεταβολές του pH. Οι ταννίνες αυτές δε βρίσκονται στην άμπελο *Vitis vinifera*, παρά μόνο στα σταφύλια του υποείδους “άμπελος η στρογγυλόφυλλος”, καθώς και σε κρασιά που παλαιώνουν σε βαρέλια. Η τελική συγκέντρωσή τους μπορεί συνεπώς να ποικίλλει, από 0,4-50mg/l (Gutiérrez-Escobar R. Et al., 2021).

1.6.2.2 Μη φλαβονοειδή

Υδροξυβενζοϊκά οξέα

Οι ενώσεις αυτές έχουν μία δομή C6-C1 προερχόμενη από το βενζοϊκό οξύ. Τα πιο άφθονα είναι τα: *p*- υδροξυβενζοϊκό, γαλλικό, βανιλλικό, γεντισικό, συρινγικό, σαλικυλικό, πρωτοκατεχικό. Το περιεχόμενό τους στους ερυθρούς οίνους μπορεί να είναι από μη ανιχνεύσιμο, έως και 218mg/l. Το σημαντικότερο φαινολικό οξύ των ερυθρών οίνων θεωρείται το γαλλικό, και αποτελεί πρόδρομο πολλών υδρολυομένων ταννινών. Η συγκέντρωσή του στους ερυθρούς οίνους είναι περίπου 70mg/l, ενώ στους λευκούς η συγκέντρωσή του φτάνει τα 10mg/l.

Υδροξυκιναμικά οξέα

Τα οξέα αυτά έχουν μία δομή C6-C3, και όλα προέρχονται από το κινναμικό οξύ. Τα κυριότερα είναι το καφεϊκό, το κουμαρικό, το σιναπικό, και το φερούλικό οξύ, και εμφανίζονται σε σύζευξη με εστέρες ή διεστέρες του ταρταρικού οξέος. Αποτελούν την τρίτη πιο άφθονη ομάδα φαινολών στα σταφύλια, και τη βασικότερη στον μούστο και το λευκό κρασί. Μπορούν να οξειδωθούν εύκολα και ευθύνονται για τη μεταβολή του χρώματος στο λευκό κρασί. Στους ερυθρούς οίνους βρίσκονται σε ποσότητες περίπου 100mg/l, ενώ στους λευκούς σε ποσότητες 30mg/l (Gutiérrez-Escobar R. Et al., 2021).

Στιλβένια

Τα στιλβένια είναι βιοδραστικές ενώσεις αποτελούμενες από δύο αρωματικούς δακτυλίους ενωμένους με διπλό δεσμό (C6-C2-C6). Τα σταφύλια και τα παράγωγά τους (χυμός, κρασί) αποτελούν την κύρια πηγή στιλβενίων της ανθρώπινης διατροφής. Πολλοί εκπρόσωποί τους έχουν εντοπιστεί στην άμπελο *Vitis vinifera*, με κυριότερο τη ρεσβερατρόλη. Η συγκέντρωσή τους στο κρασί είναι αρχικά χαμηλή (0-5mg/l), αλλά με την έκθεση σε βιοτικό ή αβιοτικό στρες αυξάνεται έως και 100mg/l, και συγκεκριμένα η ρεσβερατρόλη και η γλυκοσυλιωμένης της μορφή, μπορούν να φθάσουν συγκεντρώσεις 155μg/l στο λευκό κρασί, και 1,55mg/l στο ερυθρό.

Τυροσόλη

Η τυροσόλη αποτελεί ένα φυσικό αντιοξειδωτικό που απαντάται κυρίως στο ελαιόλαδο, ωστόσο έχει ανιχνευθεί και σε λευκούς και ερυθρούς οίνους σε ποσότητες 45mg/l και 20-60mg/l αντίστοιχα.

Υδροξυτυροσόλη

Πρόκειται για μια φαινυλαιθυλική αλκοόλη, η οποία ευθύνεται για τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες στο ελαιόλαδο, ενώ αποτελεί και συστατικό του κρασιού, το οποίο παράγεται κατά την αλκοολική ζύμωση, σε ποσότητες 1,98-3,89mg/l στον ερυθρό οίνο (Gutiérrez-Escobar R. Et al., 2021).

1.6.3 Είδη φαινολικών ενώσεων – ζύθος

Η μύρα διαθέτει υψηλή διατροφική αξία, καθώς 350ml μύρας περιέχουν περίπου 8g υδατανθράκων, καλύπτοντας έτσι το 2,4% της ημερήσιας πρόσληψης. Επιπλέον, περιέχει μέταλλα όπως ασβέστιο, σίδηρος, ψευδάργυρος, χαλκός, σελήνιο, πυρίτιο. Από τα εκατοντάδες χαρακτηριστικά συστατικά που έχουν ταυτοποιηθεί στη μύρα, περισσότερα από 50 αποτελούνται από φαινολικές ενώσεις. Το 75-85% των φαινολικών ενώσεων της μύρας προέρχεται από τη βύνη και το 15-25% από το λυκίσκο, με τις βασικές ενώσεις να είναι τα φλαβονοειδή, τα φαινολικά οξέα, κατεχίνες, πρενυλιωμένες χαλκόνες, και προανθοκυανιδίνες. Επίσης, ο λυκίσκος περιέχει ενώσεις που μετατρέπονται σε πικρά οξέα (χουμουλόνες και λουπουλόνες) κατά τη διάρκεια της ζυθοποίησης (Osorio-Paz I., et al., 2020). Από τα δραστικότερα συστατικά της μύρας είναι η τυροσόλη, τα υδροξυκιναμικά οξέα, όπως το φερούλικό και το καφεϊκό, τα φλαβονοειδή, όπως η κατεχίνη και επικατεχίνη, και προανθοκυανιδίνες. Επιπλέον, περιέχει τα φλαβονοειδή φορμονονετίνη, γενιστεΐνη, και καμφερόλη, υδροξυβενζοϊκά οξέα, και χαλκονοειδή όπως η ξανθοχουμόλη (Osorio-Paz I., et al., 2020). Οι προανθοκυανιδίνες εμφανίζουν χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα, ωστόσο μπορούν να αξιοποιηθούν από τη μικροχλωρίδα του εντέρου.

Η κατεργασία του κριθαριού, και ο σχηματισμός της βύνης μπορούν να επηρεάσουν τις συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων, με το σχηματισμό του πολτού να αυξάνει τις συγκεντρώσεις του υδροξυκιναμικού οξέος και των παραγώγων του. Επίσης, ανάλογα με την ποικιλία του λυκίσκου και τη γεωγραφική περιοχή που καλλιεργείται, το πολυφαινολικό περιεχόμενο μπορεί να κυμαίνεται κατά 3-6% (Preedy V. R., 2011).

Ξανθοχουμόλη - Ισοξανθοχουμόλη

Η ξανθοχουμόλη αποτελεί το πιο μελετημένο πρενυλιωμένο φλαβονοειδές της μύρας, και παράγεται από το λυκίσκο κατά τη διαδικασία ζυθοποίησης. Η συγκέντρωση της είναι περίπου 200μg/l, και το 20-30% μετατρέπεται σε ισοξανθοχουμόλη, η οποία αποτελεί το βασικό φλαβονοειδές της μύρας. Οι συγκεντρώσεις της ισοξανθοχουμόλης στη μύρα είναι 0,6-3,4mg/l, και μελέτες *in vitro* και *in vivo* έχουν δείξει πως έχει αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, και αντικαρκινικές ιδιότητες, καθώς μπορεί να αναστείλει το κυτόχρωμα CYP2C8 της οικογένειας P450, που συνδέεται με την ανάπτυξη όγκων (Osorio-Paz I., et al., 2020).

Φαινολικά οξέα

Πρόκειται για μη-φλαβονοειδή συστατικά που προέρχονται κυρίως από το κριθάρι και τη βύνη. Βρίσκονται σε συγκέντρωση περίπου 25μg/ml, με τη μύρα τύπου μποκ να έχει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση φαινολικών οξέων (29,1μg/ml). Τα σημαντικότερα φαινολικά οξέα της κοινής μύρας είναι το φερουλικό (14 μg/ml) και το γαλλικό (6 μg/ml), καθώς και το σιναπικό, βανιλλικό, καφεϊκό, ρ-κουμαρικό, και συρινγικό (σε συγκεντρώσεις μεταξύ 0,5-4,2 μg/l). Τα φαινολικά οξέα απορροφώνται εύκολα από το γαστρεντερικό σύστημα του ανθρώπου, και διαχέονται μέσω της κυκλοφορίας, όπου υπάρχουν σε δεσμευμένη και ελεύθερη μορφή.

Πικρά οξέα (χουμουλόνες και λουπουλόνες)

Τα πικρά οξέα είναι προϊόντα της ζυθοποίησης, που προέρχονται από το λυκίσκο, και συνεισφέρουν στη χαρακτηριστική πικρή γεύση της μύρας. Απαντώνται σε δύο μορφές: α-οξέα (χουμουλόνες) και β-οξέα (λουπουλόνες). Σε συγκεντρώσεις έως 4mg/l, οι χουμουλόνες συνεισφέρουν στη σταθεροποίηση του αφρού και στη διατήρηση της μύρας. Οι λουπουλόνες

υπάρχουν στη μύρα σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις (0,012-0,14 mg/l), και είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες στην οξείδωση, οδηγώντας στο σχηματισμό υδρόφοβων συστατικών. Μία σημαντική ιδιότητα των πικρών οξέων είναι η ενεργοποίηση του υποδοχέα γ του παράγοντα πολλαπλασιασμού των υπεροξειδιοσωμάτων (PPAR- γ), αλλά και του αποπτωτικού υποδοχέα FasL, επάγοντας έτσι την απόπτωση καρκινικών κυττάρων (Osorio-Paz I., et al., 2020).

1.6.4 Επιδράσεις φαινολών στην υγεία

Η αντιοξειδωτική δράση των φαινολικών ενώσεων αποδίδεται στο υδρογόνο των φαινολικών ομάδων, το οποίο μπορεί να προσφερθεί σε μία ρίζα, με αποτέλεσμα το σχηματισμό σταθερότερης δομής, μέσω συντονισμού. Επιπλέον, κάποιες πολυφαινόλες έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν μεταλλικά ιόντα, παρεμποδίζοντας έτσι το σχηματισμό ελεύθερων ριζών (Fraga C. G., 2007).

Η αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών του οίνου προστατεύει από οξείδωση την λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (LDL). Επιπλέον, έχει μελετηθεί η δράση τους ως αναστολείς του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της μετανάστευσης, καθώς και η επίδρασή τους στην αγγειογένεση. Έχει επίσης παρατηρηθεί πως συγκεκριμένες πολυφαινόλες μπορούν να μιμηθούν τα αποτελέσματα του θερμιδικού περιορισμού, με αποτέλεσμα την επιμήκυνση της διάρκειας ζωής κάποιων οργανισμών, ασκώντας έτσι αντι-γηραντική δράση (Iijima K. et al., 2002; Stoclet J. C. et al., 2004; Vita J. A., 2005).

Ωστόσο, οι ευεργετικές αυτές επιδράσεις εξαρτώνται σημαντικά από τη βιοδιαθεσιμότητά τους, η οποία διαφέρει ανάλογα με τη διατροφική πηγή, και τα είδη που αυτή περιέχει. Μελέτες έχουν δείξει πως η συγκέντρωση των φαινολών στο πλάσμα είναι 0-4 μ mol/l, με τις ισοφλαβόνες και το γαλλικό οξύ να απορροφώνται καλύτερα από τις ανθοκυανίνες (Manach C. et al, 2005).

1.7 Σκοπός

Ο ελληνικός οίνος αποτελεί προϊόν με διεθνή αναγνωρισιμότητα, και οι γηγενείς ποικιλίες αμπέλου αποτελούν είδη με την ικανότητα να αναδειχθούν σε παγκοσμίως γνωστές οινοποιητικές ποικιλίες με χαρακτηριστικά γνωρίσματα και οφέλη, ωστόσο ο ελληνικός ζύθος δεν αποτελεί εξίσου μελετημένο και γνωστό προϊόν. Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας ελληνικών ποικιλιών οίνου και ζύθου με *in vitro* τεχνικές, και η σύγκριση των διάφορων ποικιλιών και τύπων, αλλά και της δράσης του οίνου με αυτή του ζύθου, με στόχο την αξιολόγησή τους ως διατροφικές πηγές αντιοξειδωτικών μορίων, ώστε να αποτελέσουν προϊόντα με αναγνωρισμένα οφέλη στην ανθρώπινη υγεία που μπορούν να συμβάλουν σημαντικά στην ελληνική οικονομία.

2. Πειραματικό

Υλικά και μέθοδοι

2.1 Χημικά Αντιδραστήρια

Διάλυμα Folin & Ciocalteu's phenol (Sigma- Aldrich), Na_2CO_3 (Sodium carbonate anhydrous) (Riedel-de Haën), Copper (II) chloride dihydrate (CuCl_2) (Sigma-Aldrich), Ammonium acetate (Honeywell), Neocuproine (Nc) (Aldrich), αιθανόλη (Ethanol denaturated with MEK, IPA and Bitrex®) 98% (Honeywell), αγαρόζη (agarose SERVA), διάλυμα βρωμιούχου αιθιδίου (EtBr), διάλυμα TBE 5x [Tris (hydroxymethyl)-aminomethane (Tris) (Serva), Boric acid (Scharlau), EDTA (Ethylenediamine tetraacetic acid (Serva)], διάλυμα TBE 1x, πλασμιδιακό DNA (pBluescript SK+, Fermentas, Waltham, MA, USA), Loading buffer [Bromophenol blue (Research organics), Glycerine (Pancreac)], ρίζα AAPH [2,2'-Azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride] (Aldrich), διάλυμα φωσφορικών αλάτων (Phosphate Buffered Saline) (0.01 M, pH 7.4) (gibco), απιονισμένο νερό, αιθανόλη (Ethanol denaturated with MEK, IPA and Bitrex®) 96% (Honeywell).

2.2 Προετοιμασία διαλυμάτων

Παρασκευάστηκε διάλυμα Na_2CO_3 διαλύοντας 2,5g Na_2CO_3 σε 10ml απιονισμένο νερό. Το διάλυμα αναδεύτηκε υπό θέρμανση. Διάλυμα CuCl_2 (10^{-2} M) παρασκευάστηκε διαλύοντας 0,4262 g CuCl_2 σε 250ml απιονισμένο νερό. Διάλυμα Ammonium acetate pH=7.0 παρασκευάστηκε διαλύοντας 19,27g NH_4Ac σε 250ml απιονισμένο νερό. Παρασκευάστηκε διάλυμα Neocuproine (Nc) (7.5×10^{-3} M) διαλύοντας 0,039g Nc σε 25ml 96% αιθανόλης. Παρασκευάστηκε πηκτή αγαρόζης 0,8% ζυγίζοντας 1,2g αγαρόζης, και διαλύοντάς τα σε 150ml διαλύματος TBE 1x υπό θέρμανση, και προσθήκη 12,5μl EtBr που περιέχει 100mg EtBr σε 10ml dH_2O , μόλις η πηκτή κρυώσει. Το διάλυμα Loading buffer παρασκευάστηκε με ανάμιξη 25mg Bromophenol Blue και 30% γλυκερόλη. Διάλυμα ρίζας AAPH παρασκευάστηκε διαλύοντας 15,5mg σε διαφορετική ποσότητα PBS, ανάλογα με την απομόνωση του πλασμιδίου.

2.3 Εξεταζόμενα δείγματα

Τα εξεταζόμενα δείγματα -24 μύρες και 24 κρασιά- χωρίστηκαν σε aliquotes, τα οποία διατηρήθηκαν στο ψυγείο μέχρι τη μέτρηση, και μετρήθηκαν αμέσως μετά το άνοιγμα.

2.4 Πειραματική διαδικασία

2.4.1 Προσδιορισμός του συνολικού πολυφαινολικού περιεχόμενου μέσω του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu

Η μέθοδος βασίζεται στην οξειδαναγωγική αντίδραση που πραγματοποιείται παρουσία του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu. Το αντιδραστήριο αυτό είναι διάλυμα ιόντων που σχηματίζονται από φωσφομολυβδαινικά και φωσφοβολφραμικά ετεροπολυμερή οξέα, και οξειδώνει τα φαινολικά ιόντα, ανάγοντας ταυτόχρονα τα ετεροπολυμερή οξέα. Το προϊόν που σχηματίζεται έχει χαρακτηριστικό μπλε χρώμα και απορροφά σε μήκος κύματος 765 nm.

Σε πλαστικούς σωλήνες erpendorf των 2ml προστέθηκαν 1000μl απιονισμένου νερού, 100μl διαλύματος Folin-Ciocalteu, και 20μl δείγματος. Για κάθε μέτρηση παρασκευάστηκαν επίσης αρνητικά δείγματα ελέγχου και τυφλό, που περιείχαν 100μl διαλύματος Folin-Ciocalteu, και 1100μl απιονισμένου νερού, και 1020μl απιονισμένου νερού αντίστοιχα. Ακολούθησε επώαση για 3min σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι, και προσθήκη 280μl διαλύματος Na_2CO_3 , και 600μl απιονισμένου νερού σε όλα τα δείγματα. Οι μετρήσεις έγιναν εις τριπλούν. Ακολούθησε ανάδευση με vortex, και επώαση για 1h στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου. Τέλος, πραγματοποιήθηκε μέτρηση της οπτικής απορρόφησης στα 765nm. Το συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων προσδιορίζεται ως mg GAE (Gallic Acid Equivalents)/g εκχυλίσματος, με τη χρήση πρότυπης καμπύλης γαλλικού οξέος (Παράρτημα, Καμπύλη 1).

2.4.2 Προσδιορισμός της αναγωγικής ικανότητας έναντι του χαλκού (μέθοδος CUPRAC)

Ο προσδιορισμός της αναγωγικής ικανότητας των εξεταζόμενων δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με τη δοκιμασία αναγωγικής ικανότητας έναντι στο χαλκό (CUPRAC). Πρόκειται για μία απλή

δοκιμασία αντιοξειδωτικής ικανότητας που χρησιμοποιείται σε πλήθος πολυφαινόλων, βιταμινών, συνθετικών αντιοξειδωτικών. Η δοκιμασία αυτή μετρά αντιοξειδωτική ικανότητα τόσο υδρόφιλων όσο και υδρόφοβων μορίων. Η μέθοδος βασίζεται στην αναγωγή του δισθενούς χαλκού Cu^{2+} σε μονοσθενή Cu^{1+} από τις μη ενζυμικές αντιοξειδωτικές ενώσεις του εξεταζόμενου δείγματος, παρουσία χηλικής ένωσης. Παρουσία αντιοξειδωτικής ένωσης, το μπλε σύμπλοκο αντιδραστηρίων ανάγεται σε πορτοκαλί, το οποίο απορροφά ακτινοβολία με μήκος κύματος 450nm.

Σε πλαστικούς σωλήνες erpendorf 1,5ml προστέθηκαν 250μl διαλύματος CuCl_2 , 250μl διαλύματος NH_4Ac , και 250μl διαλύματος Nc στα δείγματα ελέγχου και στα θετικά δείγματα. Έπειτα προστέθηκαν 250μl NH_4Ac σε όλα τα δείγματα, και 50μl δείγματος διαφορετικών αραιώσεων στα θετικά δείγματα, και 527μl στα αρνητικά. Τέλος, προστέθηκαν 525μl απιονισμένο νερό στο τυφλό δείγμα, 275μl στα δείγματα ελέγχου, και 225μl στα θετικά δείγματα. Τα δείγματα παρασκευάστηκαν εις τριπλούν. Ακολούθησε ανάδευση με vortex και επώαση στο σκοτάδι για 30min, σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθησε μέτρηση της οπτικής απορρόφησης των δειγμάτων στα 450nm.

Τα αποτελέσματα της δοκιμασίας εκφράζονται ως αναγωγική ικανότητα του εξεταζόμενου δείγματος, δηλαδή ως $\text{AU } 0,5 = \text{απορρόφηση ουσίας} - \text{απορρόφηση δείγματος ελέγχου}$, όπου AU: absorbance unit.

2.4.3 Επαγόμενη από ρίζες Περοξυλίου ($\text{ROO}\cdot$) πρόκληση μονόκλωνων θραυσμάτων σε πλασμιδιακό DNA

Το πλασμιδιακό DNA απαντάται σε τρεις διαμορφώσεις, ανάλογα με το βαθμό υπερελίκωσης. Η υπερελικωμένη διαμόρφωση αποτελεί την πιο συμπακνωμένη μορφή του, ακολουθεί η ανοιχτή κυκλική, στην οποία μπορεί να μεταβεί όταν υποστεί μονόκλωνες θραύσεις από παράγοντες όπως είναι οι ελεύθερες ρίζες, και η γραμμική διαμόρφωση, που δημιουργείται όταν το DNA φέρει δίκλωνες θραύσεις. Όσο πιο συσπειρωμένο είναι το πλασμιδιακό DNA,

τόσο ταχύτερα κινείται σε πηκτή αγαρόζης, διότι διαπερνά πιο εύκολα τους πόρους της. Συνεπώς, η υπερελικωμένη διαμόρφωση θα κινείται ταχύτερα, ακολουθούμενη από τη γραμμική, και τέλος την ανοιχτή κυκλική.

Η μέθοδος βασίζεται στην αξιολόγηση της προστατευτικής αντιοξειδωτικής, δράσης του εξεταζόμενου δείγματος ενάντια στην επαγωγή μονόκλωνων θραύσεων του πλασμιδιακού DNA από τη ρίζα περοξυλίου (ROO•).

Παρασκευάστηκε πηκτή αγαρόζης 0,8%, στην οποία προστέθηκαν 12,5μl βρωμιούχου αιθιδίου. Ακολούθησε ήπια ανάδευση του μίγματος, και προσθήκη σε φόρμες ηλεκτροφόρησης, μέχρι να σταθεροποιηθεί. Σε πλαστικούς σωλήνες erpendorf 0,5ml προστέθηκαν 8μl PBS στον αρνητικό μάρτυρα, 4μl στο θετικό μάρτυρα, 1μl στα εξεταζόμενα δείγματα, και 5μl στο δείγμα μέγιστης συγκέντρωσης. Κατόπιν, προστέθηκαν 2μl πλασμιδιακού DNA σε όλα τα δείγματα, 4μl ρίζας AAPH στα θετικά δείγματα ελέγχου και στα θετικά δείγματα, και 3μl εξεταζόμενου δείγματος διαφορετικών αραιώσεων. Ο τελικός όγκος της αντίδρασης ήταν τα 10μl. Ακολούθησε ανάδευση με spin, vortex, spin, και επώαση στους 37° C για 45min. Μετά την επώαση προστέθηκαν 3μl loading buffer σε όλα τα δείγματα, ακολούθησε ανάδευση με spin, vortex, spin, και ηλεκτροφόρηση για 1h, στα 70V σε πηκτή αγαρόζης 0,8% στα 70V για περίπου 1 ώρα. Τέλος, ελήφθη φωτογραφία της πηκτής με λαμπτήρα UV [MultiImage Light Cabinet (Alpha Innotech, San Leandro, CA, USA)], ποσοτικοποίησή της με τη χρήση του προγράμματος ImageJ, και ανάλυση των αποτελεσμάτων. Για τον υπολογισμό της προστατευτικής δράσης των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση: % Αναστολή = $[(S - S_0) / (S_{\text{control}} - S_0)] \times 100$, όπου S το ποσοστό του πλασμιδιακού DNA σε υπερελικωμένη μορφή στα δείγματα, S₀ το ποσοστό του πλασμιδιακού DNA σε υπερελικωμένη μορφή στο θετικό μάρτυρα, και S₀ το ποσοστό του πλασμιδιακού DNA σε υπερελικωμένη μορφή στον αρνητικό μάρτυρα. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως IC50, δηλαδή ως η συγκέντρωση του δείγματος που προκαλεί 50% αναστολή των μονόκλωνων θραύσεων.

2.5 Στατιστική ανάλυση

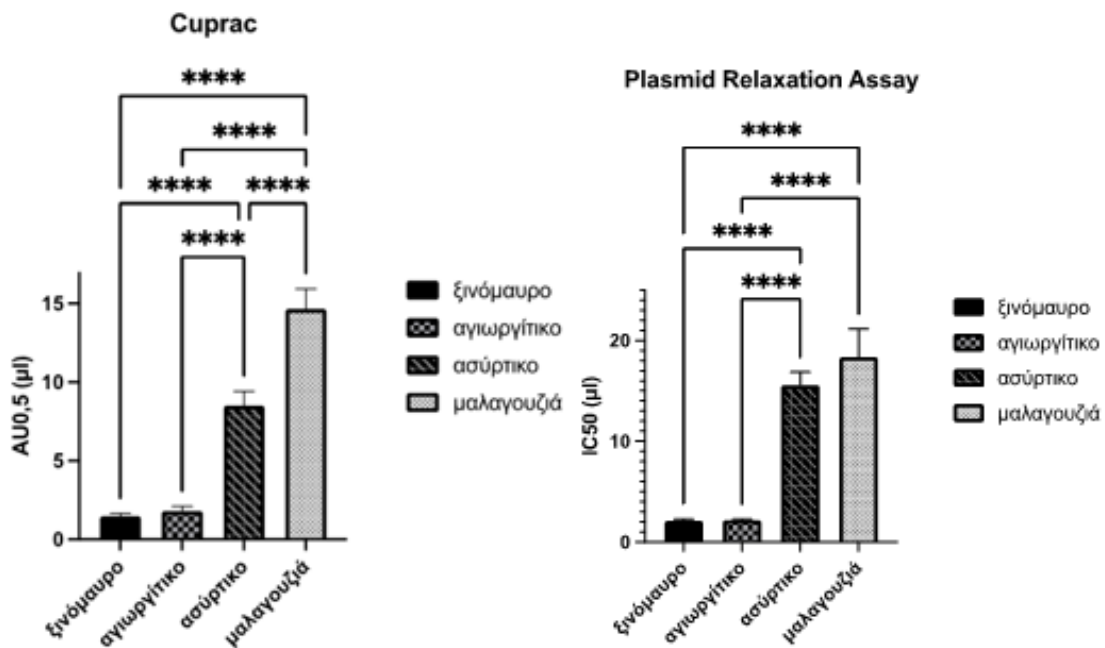
Για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε τεστ Mann-Whitney για τον παραμετρικό έλεγχο της διαφοράς δύο μέσων τιμών μεταξύ συσχετιζόμενων δειγμάτων. Επίσης, πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης ενός παράγοντα (one-way ANOVA) για έλεγχο της σημαντικότητας των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων. Τέλος, πραγματοποιήθηκε συσχέτιση όλων των *in vitro* μεθόδων με τη μέθοδο Folin Ciocalteu, και υπολογίστηκε ο συντελεστής συσχέτισης. Το υπολογιστικό πακέτο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το Graphpad prism 9, και τα δεδομένα παρουσιάζονται ως $\text{mean} \pm \text{SD}$, με διαφορές $p < 0,05$ να θεωρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές.

3. Αποτελέσματα

3.1 Σύγκριση των ποικιλιών οίνου

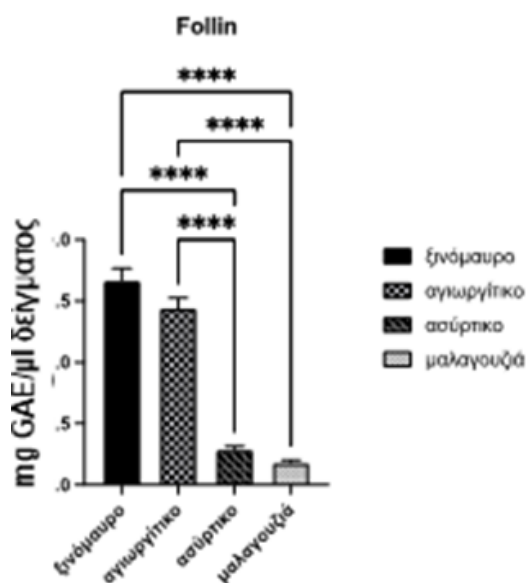
Πραγματοποιήθηκε μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των ερυθρών και λευκών ποικιλιών οίνου, αλλά και μεταξύ των ίδιων των λευκών και ερυθρών ποικιλιών, μέσω των *in vitro* δοκιμασιών Αναγωγική ικανότητα έναντι του χαλκού (CUPRAC), και Επαγόμενης από ρίζες Περοξυλίου (ROO•) πρόκλησης μονόκλωνων θραυσμάτων σε πλασμιδιακό DNA. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως AU0,5 για τη μέθοδο CUPRAC, δηλαδή η συγκέντρωση της ουσίας που δίνει μέτρηση οπτικής απορρόφησης 0,5, και IC50 για την μέθοδο πρόκλησης μονόκλωνων θραυσμάτων, δηλαδή η συγκέντρωση της ουσίας που απαιτείται για την εξουδετέρωση της ρίζας στο 50%. Και στις δύο περιπτώσεις, όσο μικρότερη είναι η τιμή AU0,5 και IC50, τόσο ισχυρότερη η αντιοξειδωτική ικανότητα της εξεταζόμενης ουσίας.

Στη μέθοδο CUPRAC παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των δύο λευκών ποικιλιών (Μαλαγουζιά, Ασύρτικο), με το Ασύρτικο να παρουσιάζει χαμηλότερη τιμή AU0,5. Στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν επίσης και μεταξύ των ερυθρών ποικιλιών (Ξινόμαυρο, Αγιωργίτικο) σε σύγκριση με κάθε λευκή ποικιλία, ενώ οι ερυθρές ποικιλίες δεν παρουσίασαν στατιστική σημαντικότητα μεταξύ τους (Γράφημα 1). Στη μέθοδο επαγωγής μονόκλωνων θραύσεων σε πλασμιδιακό DNA (plasmid relaxation assay) παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ερυθρών και λευκών ποικιλιών, με τις ερυθρές ποικιλίες να έχουν τις χαμηλότερες τιμές IC50, αλλά δεν παρατηρήθηκε διαφορά μεταξύ των λευκών ποικιλιών, και μεταξύ των ερυθρών (Γράφημα 2). Επιπλέον, οι ερυθρές ποικιλίες οίνου εμφάνισαν υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο από τις λευκές, ενώ δεν υπήρξε διαφορά μεταξύ των λευκών ποικιλιών, και μεταξύ των ερυθρών, όταν μετρήθηκαν με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu (Γράφημα 3), όπως προέκυψαν από την πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος (Παράρτημα, Καμπύλη 1).



Γράφημα 1. Σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας ποικιλιών οίνου, με τη μέθοδο CUPRAC. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως $\text{mean} \pm \text{SEM}$.

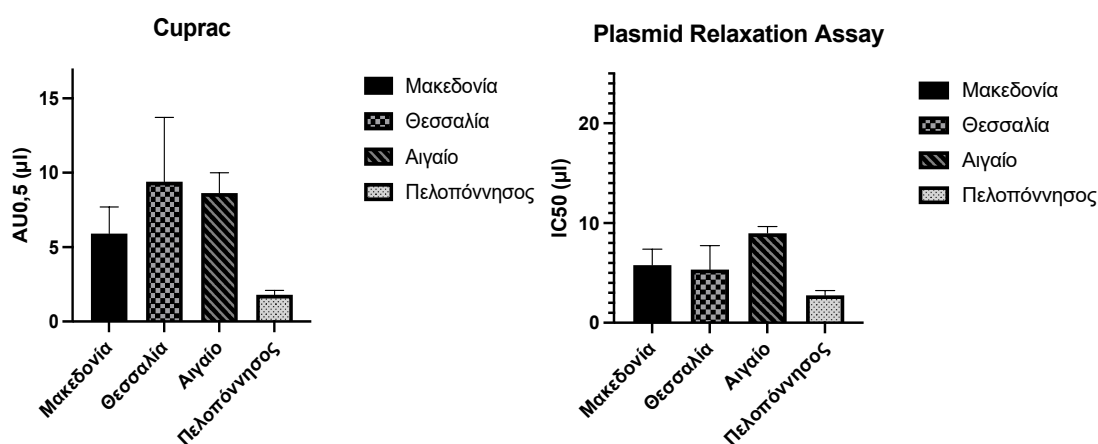
Γράφημα 2. Σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας ποικιλιών οίνου, με τη μέθοδο επαγωγής πλασμιδιακής θραύσης. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως $\text{mean} \pm \text{SEM}$.



Γράφημα 3. Σύγκριση του πολυφαινολικού περιεχοµένου των ποικιλιών οίνου, με τη μέθοδο Folin- Ciocalteu. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως $\text{mean} \pm \text{SEM}$.

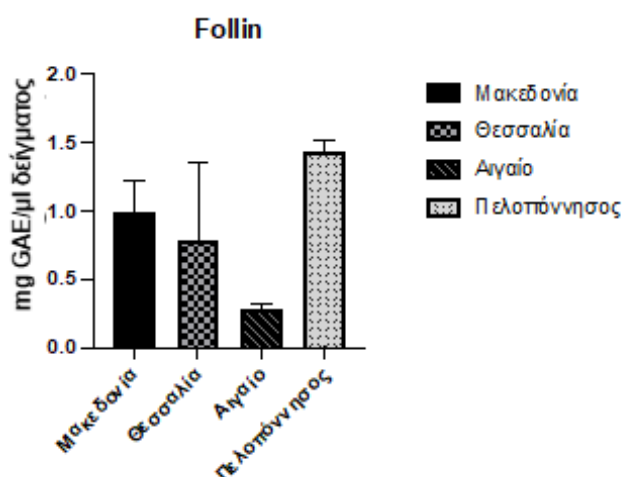
3.2 Σύγκριση των ποικιλιών οίνου ανά περιοχή

Σε σύγκριση που πραγματοποιήθηκε μεταξύ των οινοπαραγωγικών περιοχών Μακεδονία, Θεσσαλία, Αιγαίο, και Πελοπόννησος δε παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των οίνων από κάθε περιοχή στις δύο τεχνικές (Γράφημα 4, Γράφημα 5). Επιπλέον, δε παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο πολυφαινολικό περιεχόμενο των οίνων από κάθε γεωγραφικό διαμέρισμα (Γράφημα 6).



Γράφημα 4. Σύγκριση των οινοπαραγωγικών περιοχών με αποτελέσματα της μεθόδου CUPRAC. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM.

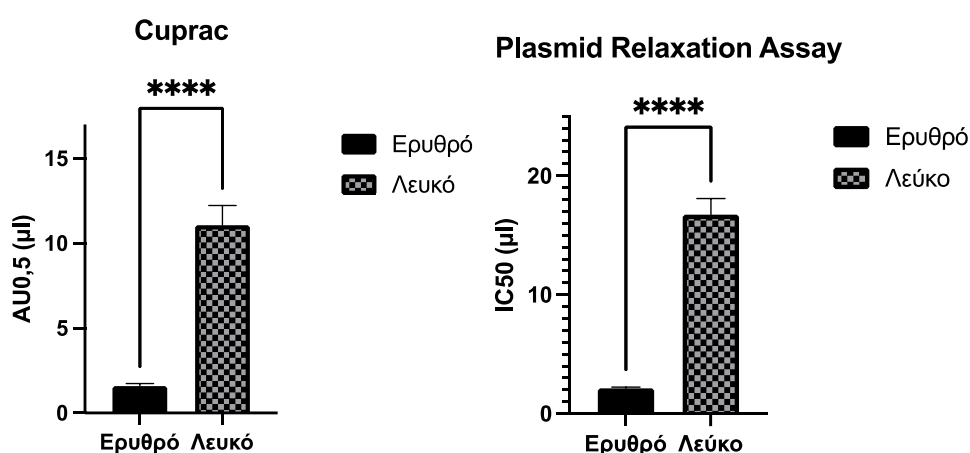
Γράφημα 5. Σύγκριση των οινοπαραγωγικών περιοχών με αποτελέσματα της μεθόδου επαγωγής μονόκλωνων θραύσεων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM.



Γράφημα 6. Σύγκριση του πολυφαινολικού περιεχομένου οίνων των οινοπαραγωγικών διαμερισμάτων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM.

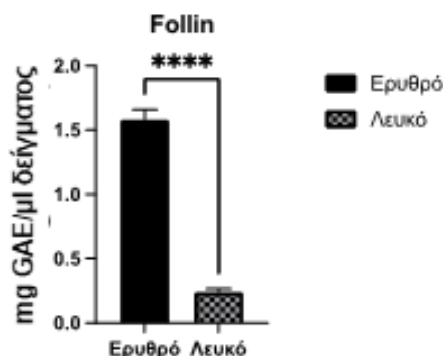
3.3 Σύγκριση των ποικιλιών οίνου με βάση το χρώμα

Πραγματοποιήθηκε σύγκριση των δειγμάτων οίνου με βάση το χρώμα, και παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ερυθρών και λευκών οίνων και για τις δύο τεχνικές, με τους ερυθρούς οίνους να έχουν χαμηλότερη τιμή AU_{0,5} και IC₅₀ (Γράφημα 7, Γράφημα 8). Επιπλέον, υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά στο πολυφαινολικό περιεχόμενο ερυθρών και λευκών οίνων, με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, με τους ερυθρούς να έχουν υψηλότερη τιμή συνολικών πολυφαινολών (Γράφημα 9).



Γράφημα 7. Σύγκριση ποικιλιών οίνου με βάση το χρώμα, με τη μέθοδο CUPRAC. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM.

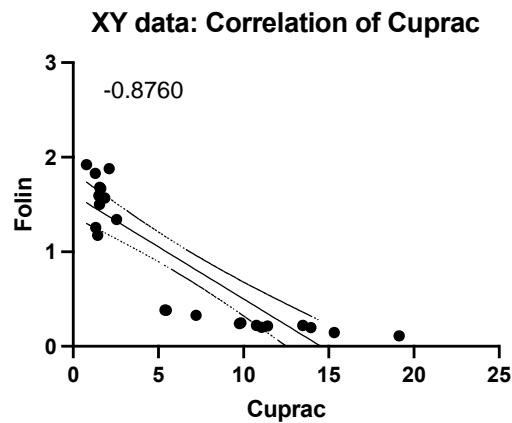
Γράφημα 8. Σύγκριση ποικιλιών οίνου με βάση το χρώμα, με τη μέθοδο επαγωγής μονόκλωνων θραύσεων. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM.



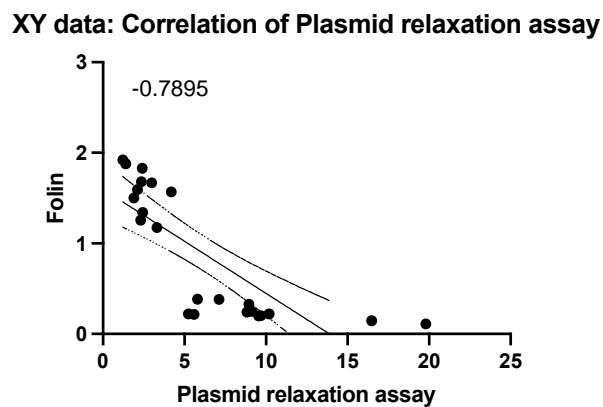
Γράφημα 9. Σύγκριση του πολυφαινολικού περιεχομένου οίνων με βάση το χρώμα. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM.

3.4 Συσχέτιση του πολυφαινολικού περιεχομένου ποικιλιών οίνου με κάθε in vitro μέθοδο

Πραγματοποιήθηκε συσχέτιση του πολυφαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο CUPRAC, και βρέθηκε αρνητική συσχέτιση, με συντελεστή $-0,8760$ (Γράφημα 10). Στη μέθοδο επαγωγής μονόκλωνων θραύσεων βρέθηκε επίσης αρνητική συσχέτιση με συντελεστή $-0,7895$ (Γράφημα 11).



Γράφημα 10. Συσχέτιση του πολυφαινολικού περιεχομένου οίνου με τη μέθοδο CUPRAC.



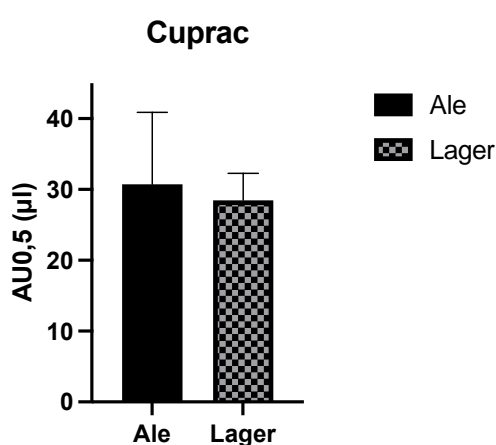
Γράφημα 11. Συσχέτιση του πολυφαινολικού περιεχομένου οίνου με τη μέθοδο επαγωγής μονόκλωνων θραύσεων πλασμιδιακού DNA.

Πίνακας 1. Υπολογισμένες τιμές πολυφαινολών, AU0,5, IC50 in vitro μεθόδων (Folin-Ciocalteu, CUPRAC, Plasmid relaxation assay) ποικιλιών οίνου.

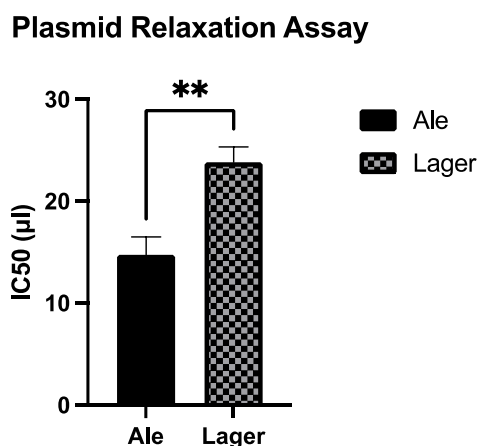
	Δείγμα οίνου	Folin mg GAE/μl κρασιού	CUPRAC AU0,5 (μl)	Plasmid IC50 (μl)
Μαλαγουζιά	Δείγμα 13	0,222	13,479	5,237
	Δείγμα 14	0,199	13,955	9,554
	Δείγμα 19	0,113	19,130	19,803
	Δείγμα 18	0,216	11,409	5,595
	Δείγμα 8	0,146	15,332	16,483
Ασύρτικο	Δείγμα 2	0,222	10,761	10,194
	Δείγμα 22	0,249	9,842	9,129
	Δείγμα 9	0,201	11,064	9,685
	Δείγμα 10	0,383	5,397	5,804
	Δείγμα 20	0,381	5,465	7,118
	Δείγμα 7	0,240	9,751	8,823
	Δείγμα 1	0,330	7,221	8,954
Αγιωργίτικο	Δείγμα 16	1,341	2,555	2,440
	Δείγμα 21	1,257	1,326	2,317
	Δείγμα 12	1,593	1,505	2,119
	Δείγμα 11	1,569	1,858	4,194
Εινόμαυρο	Δείγμα 17	1,922	0,783	1,211
	Δείγμα 3	1,173	1,435	3,310
	Δείγμα 4	1,670	1,614	2,987
	Δείγμα 23	1,878	2,114	1,401
	Δείγμα 24	1,501	1,547	1,892
	Δείγμα 6	1,828	1,305	2,406
	Δείγμα 5	1,682	1,566	2,351

3.5 Σύγκριση τύπων ζύθου

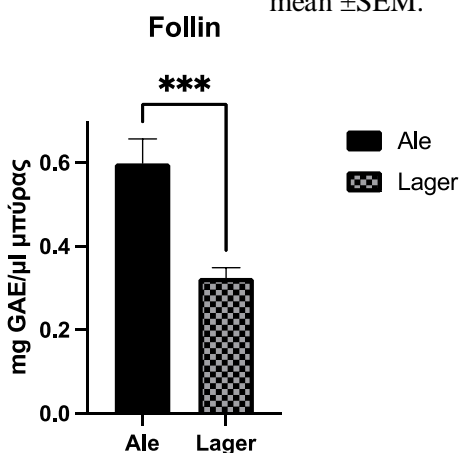
Πραγματοποιήθηκε σύγκριση των τύπων μύρας (ale, lager), και βρέθηκε πως δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο τύπων στη μέθοδο CUPRAC (Γράφημα 12), ενώ παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά για τη μέθοδο επαγωγής μονόκλωνων θραύσεων στο πλασμιδιακό DNA (Γράφημα 13), με τις μύρες τύπου ale να παρουσιάζουν χαμηλότερη τιμή IC50. Τέλος, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο πολυφαινολικό περιεχόμενο των δύο τύπων μύρας, με τις μύρες τύπου ale να εμφανίζουν υψηλότερες τιμές στη μέθοδο Folin-Ciocalteu (Γράφημα 14).



Γράφημα 12. Σύγκριση τύπου ζύθου με τη μέθοδο CUPRAC. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM.



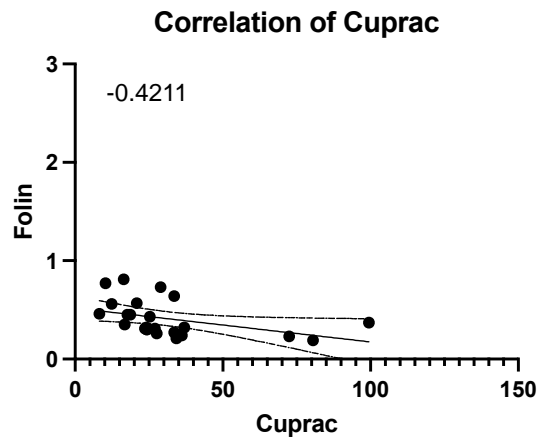
Γράφημα 13. Σύγκριση τύπου ζύθου με τη μέθοδο επαγωγής μονόκλωνων θραύσεων. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM.



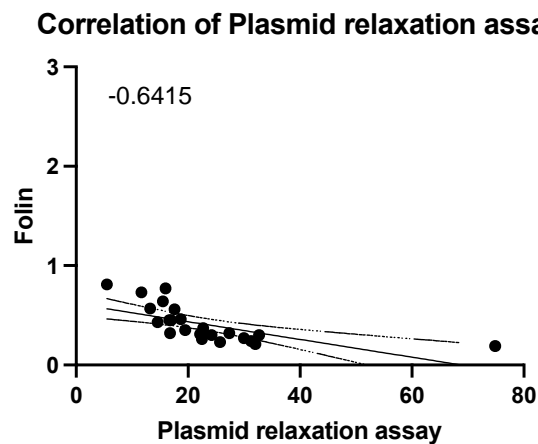
Γράφημα 11. Σύγκριση του πολυφαινολικού περιεχομένου των δύο τύπων ζύθου. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM.

3.6 Συσχέτιση του πολυφαινολικού περιεχομένου τύπων ζύθου με κάθε in vitro μέθοδο

Πραγματοποιήθηκε συσχέτιση του πολυφαινολικού περιεχομένου των τύπων μύρας με τη μέθοδο CUPRAC, και βρέθηκε αρνητική συσχέτιση, με συντελεστή $-0,4211$ (Γράφημα 12). Στη μέθοδο επαγωγής μονόκλωνων θραύσεων βρέθηκε επίσης αρνητική συσχέτιση με συντελεστή $-0,6415$ (Γράφημα 13).



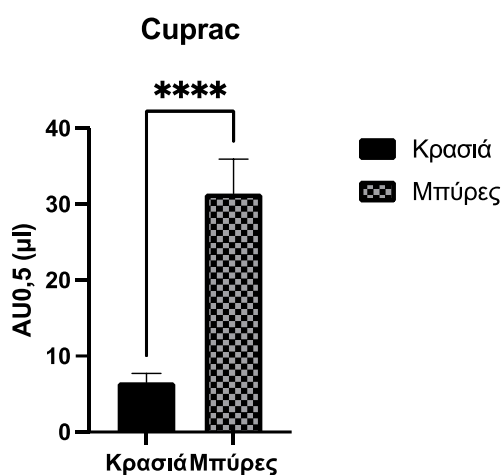
Γράφημα 12. Συσχέτιση του πολυφαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο CUPRAC.



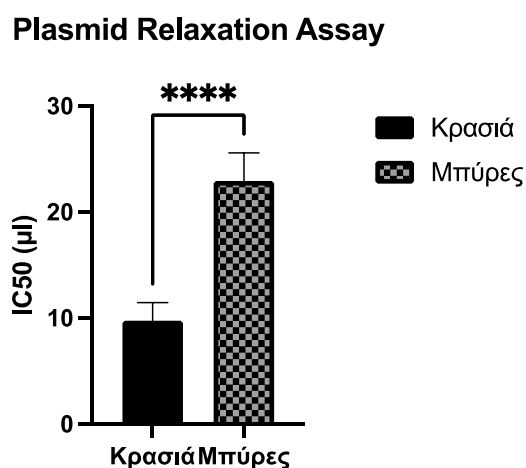
Γράφημα 13. Συσχέτιση του πολυφαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο CUPRAC.

3.7 Σύγκριση δειγμάτων οίνου και ζύθου

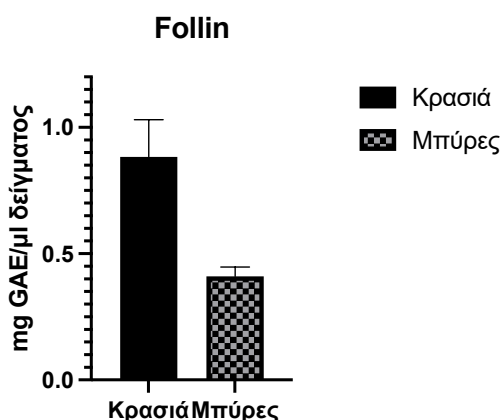
Πραγματοποιήθηκε σύγκριση των συνολικών δειγμάτων οίνου με τα συνολικά δείγματα ζύθου για κάθε μέθοδο, και βρέθηκε πως υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων στη μέθοδο CUPRAC (Γράφημα 14), και στη μέθοδο επαγωγής μονόκλωνων θραύσεων σε πλασμιδιακό DNA (Γράφημα 15), με τα δείγματα οίνου να εμφανίζουν χαμηλότερες τιμές AU_{0,5} και IC₅₀ αντίστοιχα, ενώ δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά του πολυφαινολικού περιεχομένου μεταξύ του οίνου και της μύρας με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu (Γράφημα 16).



Γράφημα 14. Σύγκριση οίνου και ζύθου με τη μέθοδο CUPRAC. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM.



Γράφημα 15. Σύγκριση οίνου και ζύθου με τη μέθοδο επαγωγής μονόκλωνων θραύσεων σε πλασμιδιακό DNA. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM.



Γράφημα 16. Σύγκριση του πολυφαινολικού περιεχομένου οίνου και ζύθου.

Πίνακας 2. Μετρούμενες τιμές πολυφαινολών, AU0,5, IC50 in vitro μεθόδων (Folin-Ciocalteu, CUPRAC, επαγόμενων πλασμιδιακών θραύσεων) τύπων μύρας

	Δείγμα μύρας	Folin mg GAE/μl ζύθου	CUPRAC AU0,5 (μl)	Plasmid IC50 (μl)
ale	Δείγμα 9	0,770	15,960	10,295
	Δείγμα 1	0,729	11,645	28,926
	Δείγμα 7	0,645	15,513	33,514
	Δείγμα 5	0,568	13,238	20,888
	Δείγμα 6	0,452	16,626	17,725
	Δείγμα 11	0,451	16,976	18,686
	Δείγμα 3	0,814	5,497	16,436
	Δείγμα 21	0,366	22,709	99,485
lager	Δείγμα 13	0,258	22,455	27,634
	Δείγμα 10	0,308	22,517	27,024
	Δείγμα 8	0,318	16,763	24,130
	Δείγμα 12	0,275	29,984	33,576
	Δείγμα 2	0,426	14,549	25,315
	Δείγμα 4	0,234	25,693	72,438
	Δείγμα 14	0,561	17,594	12,361
	Δείγμα 15	0,350	19,497	16,786
	Δείγμα 24	0,462	18,709	8,227
	Δείγμα 16	0,311	22,137	23,586
	Δείγμα 23	0,185	74,845	80,577
	Δείγμα 17	0,318	27,349	36,995
	Δείγμα 18	0,303	24,224	24,331
	Δείγμα 20	0,300	32,709	24,251
Δείγμα 19	0,236	31,250	36,106	
Δείγμα 22	0,210	32,014	34,318	

4. Συζήτηση

4.1 Σύγκριση ποικιλιών οίνου

Στην παρούσα *in vitro* μελέτη εκτιμήθηκε η ικανότητα διάφορων ελληνικών ποικιλιών οίνου και ζύθου στην εξουδετέρωση ελεύθερων ριζών, καθώς και η σύγκριση των ερυθρών και λευκών ποικιλιών, και τύπων μπύρας μεταξύ τους.

Σύγκριση των αποτελεσμάτων έδειξε πως οι ερυθροί οίνοι έχουν υψηλότερη ισχύ αναγωγής του δισθενούς χαλκού με τη μέθοδο CUPRAC, αλλά παρέχουν και υψηλότερη προστασία από τις μονόκλωνες θραύσεις του πλασμιδιακού DNA. Επιπλέον, μετρήθηκαν υψηλότερα επίπεδα ολικών πολυφαινόλων στους ερυθρούς οίνους σε σχέση με τους λευκούς, γεγονός που εξηγεί την αυξημένη δράση τους, καθώς σύμφωνα με τη βιβλιογραφία οι πολυφαινόλες του οίνου αποτελούν ενώσεις με σημαντική αντιοξειδωτική δράση εξαιτίας της ικανότητας πρόσδεσης μεταλλικών ιόντων που συμμετέχουν στο σχηματισμό ROS.

Οι διαφορετικές *in vitro* δοκιμασίες έδειξαν επίσης και διαφοροποιήσεις μεταξύ των ποικιλιών, με το Ξινόμαυρο να εμφανίζει την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα μεταξύ των ερυθρών οίνων, και το Ασύρτικο να εμφανίζει την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα μεταξύ των λευκών οίνων. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τα υψηλά επίπεδα πολυφαινόλων που μετρήθηκαν στις συγκεκριμένες ποικιλίες με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.

Στα πλαίσια της εργασίας έγινε επίσης εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τις *in vitro* δοκιμασίες DPPH, ABTS, Reducing power, και Superoxide, και παρατηρήθηκαν επίσης στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ ερυθρών και λευκών ποικιλιών, αλλά και μεταξύ των ίδιων ποικιλιών κρασιού (Παράρτημα, Γραφήματα 17-20). Σε κάθε *in vitro* μέθοδο παρατηρήθηκε ισχυρότερη ικανότητα εξουδετέρωσης ελεύθερων ριζών από τις ερυθρές ποικιλίες (Γραφήματα 25-28), ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις υπήρξε διαφοροποίηση και μεταξύ των λευκών ποικιλιών. Καθώς κάθε μέθοδος χρησιμοποιείται για εκτίμηση της δράσης διαφορετικών συστατικών του εξεταζόμενου δείγματος, αλλά περιλαμβάνει και διαφορετικά αντιδραστήρια, είναι αναμενόμενο να υπάρχουν διαφοροποιήσεις μεταξύ των μεθόδων για τα ίδια δείγματα, καθώς τα συστατικά τους αντιδρούν με διαφορετικές ουσίες κάθε φορά. Ωστόσο,

η χρήση όλων των *in vitro* τεχνικών δίνει μία πιο σφαιρική εκτίμηση για την αντιοξειδωτική δράση κάθε δείγματος.

Η σύγκριση των δειγμάτων με βάση τη γεωγραφική περιοχή, για όλες τις μεθόδους (Παράρτημα, Γραφήματα 21-24), δεν έδειξε κάποια στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων οίνου, συνεπώς οι εδαφικές συνθήκες που επικρατούν σε κάθε περιοχή δε συνέβαλλαν στη διαφοροποίηση των ποικιλιών. Επίσης, πολλές ποικιλίες καλλιεργούνται ευρέως και δεν εντοπίζονται σε μόνο ένα γεωγραφικό διαμέρισμα.

Επιπλέον, οι διάφορες ποικιλίες ερυθρών και λευκών οίνων παρουσιάζουν διαφορές στη σύσταση και την ποσότητα των πολυφαινολών τους, τα οποία καθορίζονται από τη διαδικασία παραγωγής. Το στάδιο που καθορίζει σε μεγάλο βαθμό το πολυφαινολικό περιεχόμενο του οίνου είναι αυτό της διαύγασης, η οποία συμβάλει στην εξαγωγή φαινολικών ενώσεων από το χυμό και το φλοιό. Οι ερυθροί οίνοι θεωρούνται εκχυλίσματα όλης της αμπέλου, ενώ οι λευκοί θεωρούνται προϊόντα του χυμού (Waterhouse A. L., 2002), διότι οι ερυθροί οίνοι έρχονται σε επαφή με όλα τα συστατικά της αμπέλου κατά τη διαδικασία παραγωγής, και για μεγάλο χρονικό διάστημα, και συνεπώς εμφανίζουν πιο έντονο χρώμα και αυξημένες ποσότητες πολυφαινολών σε σύγκριση με τους λευκούς οίνους, στους οποίους η διαδικασία αυτή διαρκεί ελάχιστα (Radonjić, S. et al., 2020).

Ένας άλλος παράγοντας που πιθανώς συνεισφέρει στις διαφοροποιήσεις που παρατηρήθηκαν ανάμεσα στις διαφορετικές ποικιλίες είναι η ωρίμανση σε βαρέλι, διαδικασία που πραγματοποιείται συνήθως σε ερυθρούς οίνους, και κατά τη διάρκειά της μπορεί να παρατηρηθεί αύξηση του πολυφαινολικού περιεχομένου του κρασιού, διότι τα δρύινα βαρέλια μπορούν να απελευθερώσουν ταννίνες στον οίνο. Ωστόσο κατά την ωρίμανση μπορούν να σχηματιστούν και σύμπλοκα ανθοκυανινών με άλλα συστατικά όπως οι φλαβανόλες, με αποτέλεσμα τον πολυμερισμό τους και την καθίζησή τους στα βαρέλια. (Radonjić, S. et al., 2020).

Η αντιοξειδωτική ικανότητα του λευκού οίνου δεν είναι τόσο εκτεταμένα μελετημένη όσο αυτή του ερυθρού, ωστόσο έρευνες έχουν δείξει πως έχει μπορεί να δράσει ως αντιοξειδωτική ουσία *in vivo*, συμβάλλοντας στον καρδιοπροστατευτικό ρόλο του οίνου (Cui J., et al., 2002). Μελέτες έχουν δείξει πως η αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών φαίνεται πως είναι συνεργιστική και δεν αποδίδεται σε μεμονωμένα συστατικά του κρασιού, όπως για παράδειγμα η ρεσβερατρόλη (Arranz S., et al., 2012).

Μελέτες αναφέρουν επίσης πως οι ουσίες που προσλαμβάνονται μέσω της διατροφής δεν έχουν πάντα αντιοξειδωτικό ρόλο αλλά συχνά εμφανίζουν και προ-οξειδωτική δράση, αναλόγως με τα γειτονικά τους μόρια, συμβάλλοντας έτσι στο σχηματισμό ελεύθερων ριζών. Ο προ-οξειδωτικός τους αυτός ρόλος μπορεί ωστόσο να είναι ωφέλιμος, καθώς μπορεί να συμβάλει στην ενίσχυση των ενδογενών αντιοξειδωτικών μηχανισμών άμυνας του κυττάρου (Carocho M., Ferreira I. C., 2013).

4.2 Σύγκριση τύπου ζύθου

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, παρατηρήθηκε ισχυρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα στις σκουρόχρωμες μπύρες τύπου ale σε σχέση με τις ανοιχτόχρωμες μπύρες τύπου lager, αλλά και ισχυρότερη προστατευτική δράση από μονόκλωνες θραύσεις στο πλασμιδιακό DNA. Επιπλέον, βρέθηκε πως υπάρχει αρνητική συσχέτιση του πολυφαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων και της αντιοξειδωτικής τους ικανότητας (Παράρτημα, Γραφήματα 37-40), γεγονός που εξηγεί τα αποτελέσματα αυτά. Οι διαφορές αυτές οφείλονται στις διαφορετικές συγκεντρώσεις πολυφαινολών κάθε τύπου, που προκύπτουν τόσο εξαιτίας της διαφορετικής ποικιλίας λυκίσκου, αλλά και της διαδικασίας παραγωγής στους δύο τύπους ζύθου.

Σύγκριση των *in vitro* μεθόδων (Παράρτημα, Γραφήματα 33-36) έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά της αντιοξειδωτικής ικανότητας μεταξύ των δειγμάτων μπύρας τύπου ale και lager, και οι διαφορές που παρατηρούνται στις υπολογισμένες τιμές IC₅₀, AU_{0,5} οφείλονται στο γεγονός πως σε κάθε μέθοδο τα συστατικά της μπύρας αντιδρούν με διαφορετικά αντιδραστήρια.

Οι φαινολικές ενώσεις του ζύθου συνεισφέρουν στο χρώμα και στη γεύση του. Έχει παρατηρηθεί πως κάποιες πολυφαινόλες της μπίρας παρουσιάζουν αντιοξειδωτική ικανότητα η οποία σχετίζεται με τον αριθμό των πολυφαινολών που αυτή περιέχει. Μελέτες έχουν δείξει επίσης πως η κατανάλωση ζύθου χωρίς αλκοόλ μπορεί να βελτιώσει βιοδείκτες που σχετίζονται με τη φλεγμονή, γεγονός που υποδεικνύει πως η αντιοξειδωτική δράση της μπίρας οφείλεται στα πολυφαινολικά συστατικά της. Η ξανθοχουμόλη και οι μελανοΐδινες είναι σύμφωνα με μελέτες οι πολυφαινολικές ουσίες στις οποίες αποδίδεται αυτή η αντιοξειδωτική δράση, και συγκεκριμένα στην ικανότητά τους να προσδένουν μεταλλικά ιόντα, απαραίτητα για το σχηματισμό ROS (Rivero D., et al., 2005).

4.3 Σύγκριση οίνου και ζύθου

Σε όλες τις *in vitro* τεχνικές παρατηρήθηκε υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα του οίνου έναντι του ζύθου, ανεξαρτήτως ποικιλίας, αλλά και υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι πρώτες ύλες από τις οποίες παράγονται τα δύο ροφήματα διαφέρουν, συνεπώς αναμένεται και διαφοροποίηση στα φαινολικά συστατικά του τελικού προϊόντος (Lugasi A, 2003). Σύγκριση του οίνου με το ζύθο για τις υπόλοιπες *in vitro* τεχνικές (Παράρτημα, Γραφήματα 41-44) επιβεβαιώνει τα αποτελέσματα αυτά.

Η μπίρα περιέχει χαμηλότερο φαινολικό περιεχόμενο σε σχέση με τους ερυθρούς οίνους, ωστόσο μελέτες έχουν δείξει συχνά μπορεί να περιέχει περισσότερες πολυφαινόλες από τους λευκούς. Η διαφοροποίηση αυτή αποδίδεται στις διαφορετικές ομάδες αντιοξειδωτικών πολυφαινολικών ενώσεων που περιέχονται στα σιτηρά και το λυκίσκο σε σχέση με τα σταφύλια. Επιπλέον, τα πολυφαινολικά συστατικά της μπίρας, σύμφωνα με μελέτες, μπορούν να εμφανίσουν ισχυρότερη ικανότητα πρόσδεσης μεταβατικών μετάλλων σε σχέση με το λευκό οίνο, αναστέλλοντας έτσι αντιδράσεις που εμπλέκονται στο οξειδωτικό στρες (Lugasi A, 2003).

Τα στάδια παραγωγής οίνου και ζύθου διαφέρουν και πολλές είναι οι παράμετροι που μπορούν να επηρεάσουν τη σύσταση του τελικού προϊόντος. Και για τα δύο ροφήματα ωστόσο σημαντική είναι η επίδραση γενετικών διαφορών των αρχικών υλικών, καθώς και οι περιβαλλοντικές συνθήκες που κυριαρχούν κατά την ανάπτυξη της αμπέλου και των σιτηρών και του λυκίσκου.

Η μύρα περιέχει διαφορετικές ομάδες πολυφαινόλων από το κρασί, αλλά και ενώσεις όπως θειόλες, SO₂ το οποίο προέρχεται από αντιδράσεις Maillard, α-οξέα από το λυκίσκο, οι οποίες εμφανίζουν επίσης αντιοξειδωτική δράση. Έχει βρεθεί πως οι θειόλες συμμετέχουν σε αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς που συμβάλουν στην καθυστέρηση του σχηματισμού ελεύθερων ριζών, ενώ τα α-οξέα (χουμουλόνες) του λυκίσκου έχουν επιδείξει υψηλή ικανότητα απομάκρυνσης ελεύθερων ριζών. Επιπλέον, κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης το πολυφαινολικό περιεχόμενο του κρασιού και της μύρας μπορεί να μεταβληθεί, και συγκεκριμένα να υπάρξει αύξηση στις πολυφαινόλες του κρασιού και μείωση στις πολυφαινόλες της μύρας (Radonjić, S. et al., 2020).

4.4 Γενικά συμπεράσματα και μελλοντικοί στόχοι

Οι αντιοξειδωτικές ουσίες είναι ιδιαίτερα σημαντικές για την προστασία των κυττάρων, και κατά συνέπεια των οργανισμών, από τις βλαπτικές επιδράσεις των ελεύθερων ριζών με αποτέλεσμα το αυξημένο ενδιαφέρον για την πρόσληψή τους μέσω της διατροφής. Τα φυτά παράγουν φυσιολογικά πλήθος πολυφαινόλων ως δευτερεύοντες μεταβολίτες, οι οποίοι έχουν δράση αντιοξειδωτικών μορίων ικανών να περισυλλέξουν ελεύθερες ρίζες. Οι πολυφαινόλες αυτές μπορούν να επιδείξουν αντιοξειδωτική ικανότητα και σε βιολογικά συστήματα όπως στον άνθρωπο, όταν προσληφθούν μέσω της διατροφής.

Η κυρίαρχη άποψη γύρω από τις διατροφικές πολυφαινόλες είναι πως υψηλότερη συγκέντρωση πολυφαινόλων συνεπάγεται πάντα και υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Η βιβλιογραφία γύρω από τις ευεργετικές επιδράσεις της κατανάλωσης οίνου είναι εκτεταμένη,

καθώς φαίνεται πως η ήπια κατανάλωση κυρίως ερυθρού οίνου (1-2 ποτήρια/ημέρα) συμβάλει στην πρόληψη καρδιαγγειακών ασθενειών, αλλά και στην αντιμετώπιση παθολογικών καταστάσεων που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες. Πλέον ενδιαφέρον έχει αποκτήσει και η εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας της μύρας, ως πηγής αντιοξειδωτικών μορίων, όταν καταναλώνεται σε μέτριες ποσότητες (1 ποτό των 330ml/ημέρα) (Gorinstein S., et al., 2000).

Παρά τις *in vitro* ευεργετικές επιδράσεις τους, λίγες πολυφαινόλες έχουν στην πραγματικότητα βιολογική δράση (Gorinstein S., et al., 2000). Εξαιτίας του μεγάλου μοριακού τους μεγέθους οι πολυφαινόλες δεν είναι εύκολα απορροφήσιμες από το γαστρεντερικό επιθήλιο και απαιτούν περαιτέρω μεταβολισμό σε μικρότερα μόρια (Carocho M., Ferreira I. C., 2013). Για το λόγο αυτό απαιτείται η διεξαγωγή *in vivo* πειραμάτων σε πειραματόζωα αλλά και ανθρώπους, με στόχο την κατανόηση των μηχανισμών δράσης των συστατικών που περιέχονται στον οίνο και στο ζύθο, αλλά και τον προσδιορισμό των βιοδραστικών συγκεντρώσεών τους. Επιπλέον, τα οφέλη που παρατηρούνται με την ήπια κατανάλωση οίνου και ζύθου σχετίζονται συχνά με τη Μεσογειακή διατροφή, και την κατανάλωση άφθονων φρούτων, λαχανικών, σιτηρών, με αποτέλεσμα τη συνεργιστική δράση των πολυφαινολών του οίνου και του ζύθου με αυτές που προέρχονται από τα τρόφιμα (Radonjić, S. et al., 2020). Τα παραπάνω *in vitro* αποτελέσματα αποτελούν μία αρχική ένδειξη για την αντιοξειδωτική ικανότητα των ελληνικών οίνων και ζύθου, γεγονός που μπορεί μελλοντικά να οδηγήσει στην κατάταξή τους σε βιολειτουργικά τρόφιμα, ενισχύοντας έτσι την αγοραστική τους δύναμη και τη συνεισφορά τους στην ελληνική οικονομία.

5. Βιβλιογραφία

Ames, B. N. (1986). Food constituents as a source of mutagens, carcinogens, and anticarcinogens.

Anastasiadis, F., & Alebaki, M. (2021). Mapping the Greek Wine Supply Chain: A Proposed Research Framework. *Foods*, 10(11), 2859.

Aroh, K. Beer Production. Available at SSRN 3458983.

Arranz, S., Chiva-Blanch, G., Valderas-Martínez, P., Medina-Remón, A., Lamuela-Raventós, R. M., & Estruch, R. (2012). Wine, beer, alcohol and polyphenols on cardiovascular disease and cancer. *Nutrients*, 4(7), 759-781.

Ashok, B. T., & Ali, R. (1999). The aging paradox: free radical theory of aging. *Experimental gerontology*, 34(3), 293-303.

Berg, J. M., Tymoczko, J. L., & Stryer, L. (2002). *Biochemistry: International Version*.

Callemien, D., Jerkovic, V., Rozenberg, R., & Collin, S. (2005). Hop as an interesting source of resveratrol for brewers: optimization of the extraction and quantitative study by liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(2), 424-429.

Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology*, 51, 15-25

Castaldo, L., Narváez, A., Izzo, L., Graziani, G., Gaspari, A., Di Minno, G., & Ritieni, A. (2019). Red wine consumption and cardiovascular health. *Molecules*, 24(19), 3626.

Cheeseman, K. H., & Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British medical bulletin*, 49(3), 481-493.

- Cui, J., Tosaki, A., Bertelli, A. A., Bertelli, A., Maulik, N., & Das, D. K. (2002). Cardioprotection with white wine. *Drugs under experimental and clinical research*, 28(1), 1-10.
- Darcque, P. (2013). Dikili Tash, un village néolithique dans le Nord de la Grèce. *Comptes rendus des séances de l'Académie des Inscriptions et Belles-Lettres*, 157(1), 51-73
- DeSalle, R., & Tattersall, I. (2019). *A natural history of beer*. Yale University Press
- Fang, Y. Z., Yang, S., & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879.
- Fraga, C. G. (2007). Plant polyphenols: how to translate their in vitro antioxidant actions to in vivo conditions. *IUBMB life*, 59(4-5), 308-315.
- Galati, G., Tafazoli, S., Sabzevari, O., Chan, T. S., & O'Brien, P. J. (2002). Idiosyncratic NSAID drug induced oxidative stress. *Chemico-biological interactions*, 142(1-2), 25-41.
- Gebicki, J. M., & Nauser, T. (2021). Fast Antioxidant Reaction of Polyphenols and Their Metabolites. *Antioxidants*, 10(8), 1297.
- Gorinstein, S., Caspi, A., Zemser, M., & Trakhtenberg, S. (2000). Comparative contents of some phenolics in beer, red and white wines. *Nutrition Research*, 20(1), 131-139
- Gutiérrez-Escobar, R., Aliaño-González, M. J., & Cantos-Villar, E. (2021). Wine polyphenol content and its influence on wine quality and properties: A review. *Molecules*, 26(3), 718.
- Halliwell, B. (2001). Free radicals and other reactive species in disease. *e LS*.
- Harrison, J. E. (2021). *Prolegomena to the study of Greek religion (Vol. 43)*. Princeton University Press.
- Hecht, S. S. (1999). Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 91(14), 1194-1210.

- Iijima, K., Yoshizumi, M., & Ouchi, Y. (2002). Effect of red wine polyphenols on vascular smooth muscle cell function—molecular mechanism of the ‘French paradox’. *Mechanisms of ageing and development*, 123(8), 1033-1039.
- Jackson, R. S. (2008). *Wine science: principles and applications*. Academic press.
- Kanner, J., & Lapidot, T. (2001). The stomach as a bioreactor: dietary lipid peroxidation in the gastric fluid and the effects of plant-derived antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11), 1388-1395.
- Lazarakis, K. (2005). *The wines of Greece*. Hachette UK
- Li, R., Jia, Z., & Trush, M. A. (2016). Defining ROS in biology and medicine. *Reactive oxygen species* (Apex, NC), 1(1), 9.
- Lijinsky, W. (1999). N-Nitroso compounds in the diet. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 443(1-2), 129-138.
- Lugasi, A. (2003). Polyphenol content and antioxidant properties of beer. *Acta Alimentaria*, 32(2), 181-192.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 230S-242S.
- Mann, L. B., & Folts, J. D. (2004). Effects of ethanol and other constituents of alcoholic beverages on coronary heart disease: a review. *Pathophysiology*, 10(2), 105-112
- Mann, L. B., & Folts, J. D. (2004). Effects of ethanol and other constituents of alcoholic beverages on coronary heart disease: a review. *Pathophysiology*, 10(2), 105-112.
- Martlew, H., & Tzedakis, Y. (1999). *Minoans and mycenaean flavours of their time*. Greek Ministry of Culture, National Archaeological Museum, Athens.

- McGovern, P. E., Fleming, S. J., & Katz, S. H. (Eds.). (2003). *The origins and ancient history of wine: food and nutrition in history and anthropology*. Routledge
- Moreno-Arribas, M. V., & Polo, M. C. (Eds.). (2009). *Wine chemistry and biochemistry* (Vol. 735). New York, NY, USA:: Springer.
- Nelson, M. (2005). *The barbarian's beverage: a history of beer in ancient Europe*. Routledge.
- Osorio-Paz, I., Brunauer, R., & Alavez, S. (2020). Beer and its non-alcoholic compounds in health and disease. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(20), 3492-3505.
- Pozo-Bayón, M. Á., Alcaíde, J. M., Polo, M. C., & Pueyo, E. (2007). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory compounds in white and red wines. *Food Chemistry*, 100(1), 43-47.
- Preedy, V. R. (Ed.). (2011). *Beer in health and disease prevention*. Academic Press
- Preedy, V. R. (Ed.). (2014). *Processing and impact on antioxidants in beverages*. Elsevier.
- Radonjić, S., Maraš, V., Raičević, J., & Košmerl, T. (2020). Wine or Beer? Comparison, Changes and Improvement of Polyphenolic Compounds during Technological Phases. *Molecules*, 25(21), 4960.
- Rivero, D., Pérez-Magariño, S., González-Sanjosé, M. L., Valls-Belles, V., Codoñer, P., & Muñiz, P. (2005). Inhibition of induced DNA oxidative damage by beers: Correlation with the content of polyphenols and melanoidins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(9), 3637-3642.
- Sohrabvandi, S., Mortazavian, A. M., & Rezaei, K. (2012). Health-related aspects of beer: a review. *International Journal of Food Properties*, 15(2), 350-373.
- Stoclet, J. C., Chataigneau, T., Ndiaye, M., Oak, M. H., El Bedoui, J., Chataigneau, M., & Schini-Kerth, V. B. (2004). Vascular protection by dietary polyphenols. *European journal of pharmacology*, 500(1-3), 299-313.

Tan, B. L., Norhaizan, M. E., & Liew, W. P. P. (2018). Nutrients and oxidative stress: friend or foe?. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018.

Valamoti, S. M., Mangafa, M., Koukouli-Chrysanthaki, C., & Malamidou, D. (2007). Grape-pressings from northern Greece: the earliest wine in the Aegean?. *Antiquity*, 81(311), 54-61

Vita, J. A. (2005). Polyphenols and cardiovascular disease: effects on endothelial and platelet function. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 292S-297S.

Waterhouse, A. L. (2002). Wine phenolics. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 957(1), 21-36.

Wendland, J. (2014). Lager yeast comes of age. *Eukaryotic Cell*, 13(10), 1256-1265.

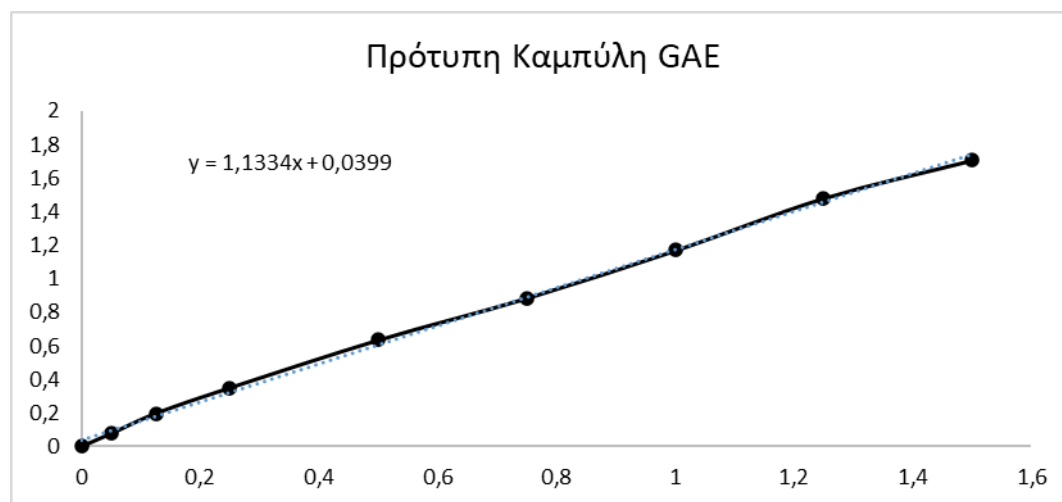
Υπερσύνδεσμοι:

http://minagric.gr/images/stories/docs/agrotis/Ampeli/statistika_oinoparagogis2016_2020.pdf

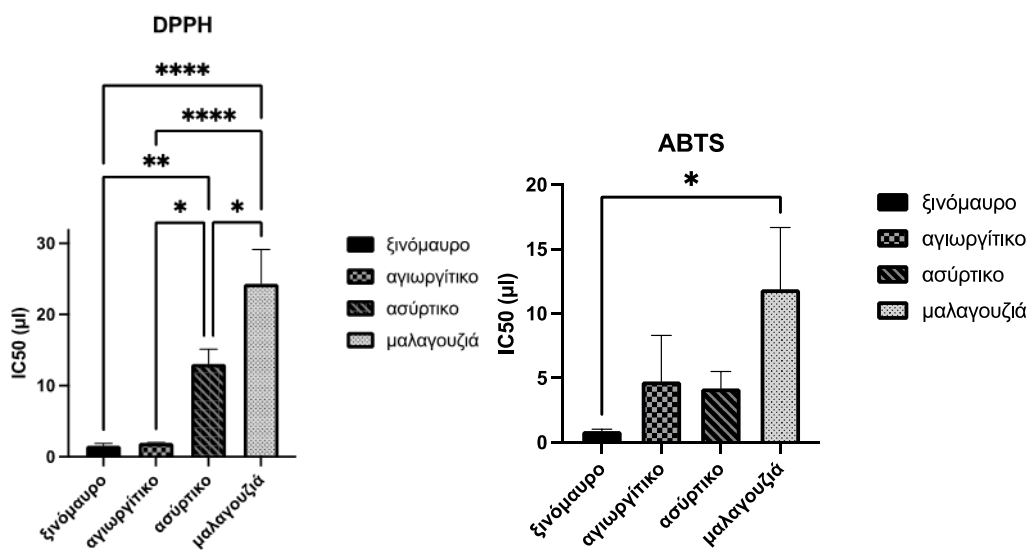
<https://brewersofeurope.org/uploads/mycms-files/documents/publications/2018/EU-beer-statistics-2018-web.pdf>

https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/plants-and-plant-products/plant-products/hops_el

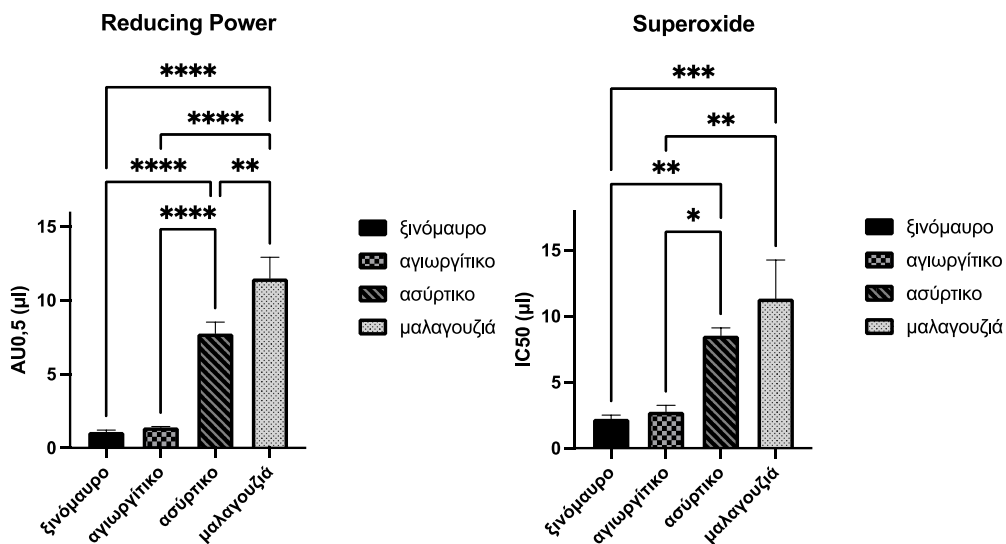
6. Παράρτημα



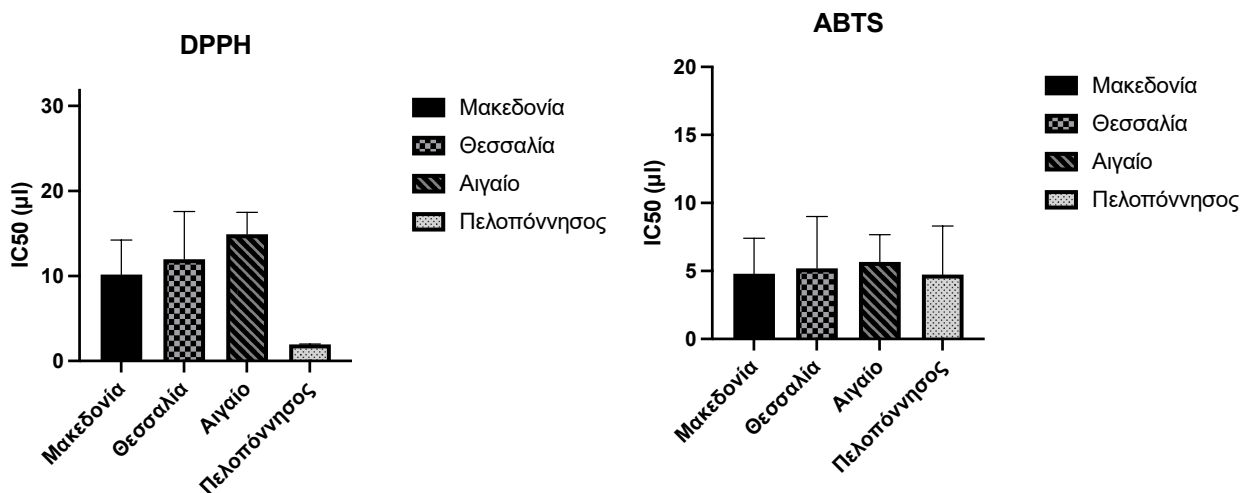
Καμπύλη 1. Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος



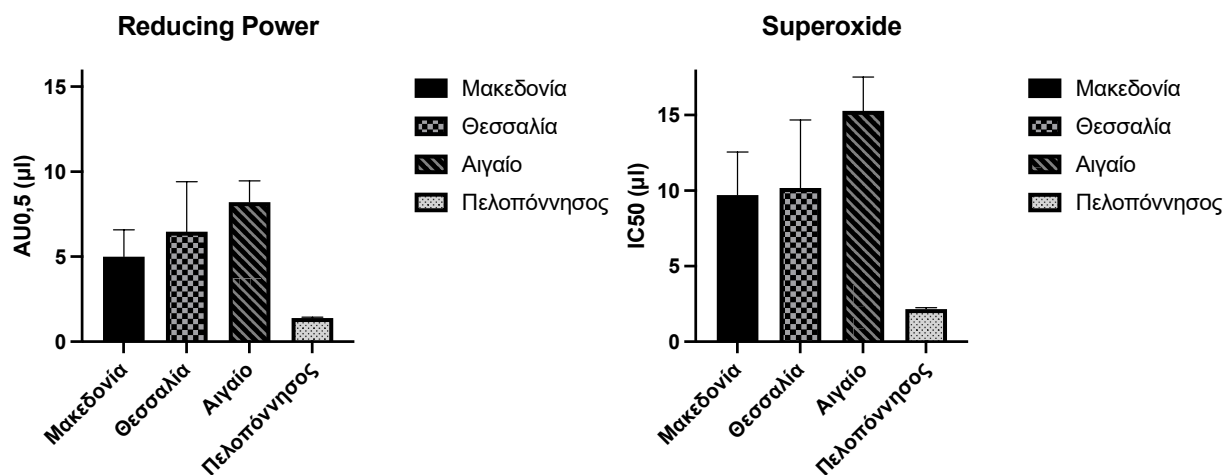
Γράφημα 17, Γράφημα 18. Σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας ποικιλιών οίνου με τις μεθόδους DPPH, ABTS. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως $\text{mean} \pm \text{SEM}$.



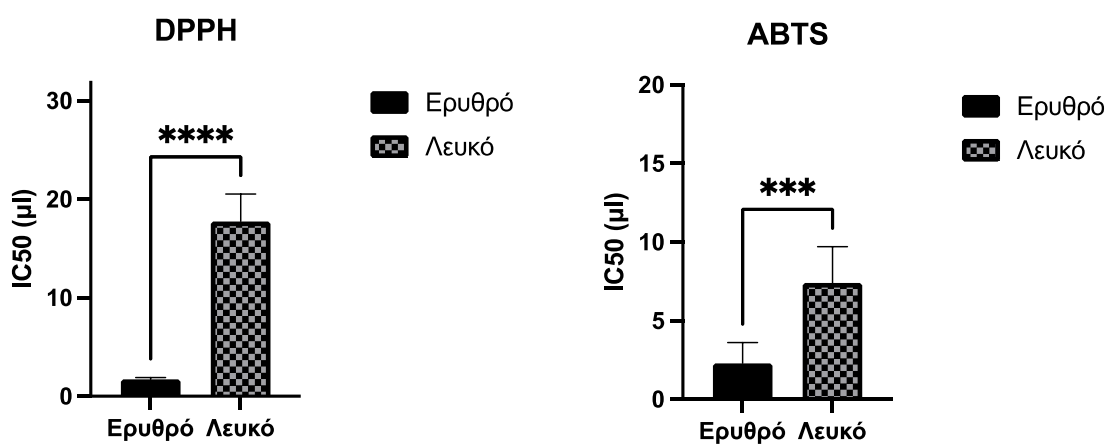
Γράφημα 19, Γράφημα 20. Σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας ποικιλιών οίνου με τις μεθόδους Reducing power, Superoxide. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM.



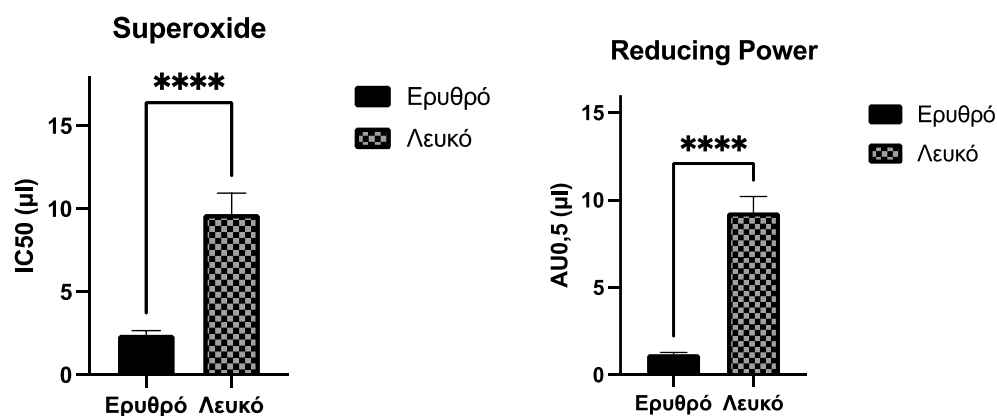
Γράφημα 21, Γράφημα 22. Σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας οίνου με τις μεθόδους DPPH, ABTS, με βάση την γεωγραφική περιοχή.



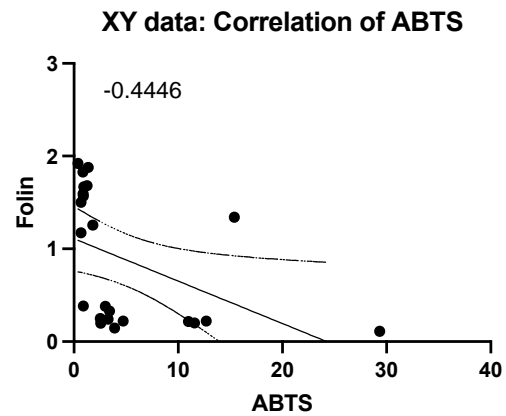
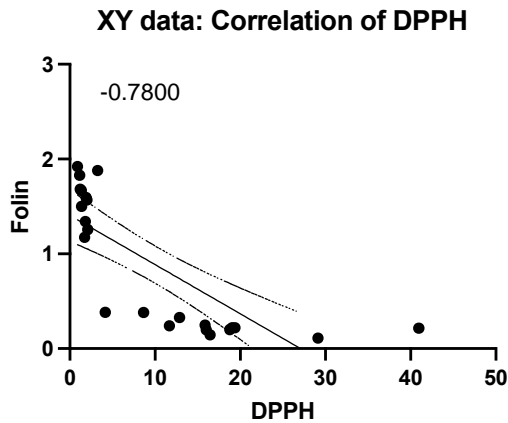
Γράφημα 23, Γράφημα 24. Σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας οίνου με τις μεθόδους Reducing power, Superoxide με βάση την γεωγραφική περιοχή.



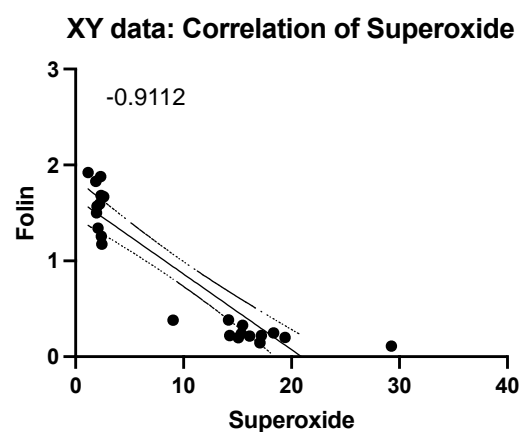
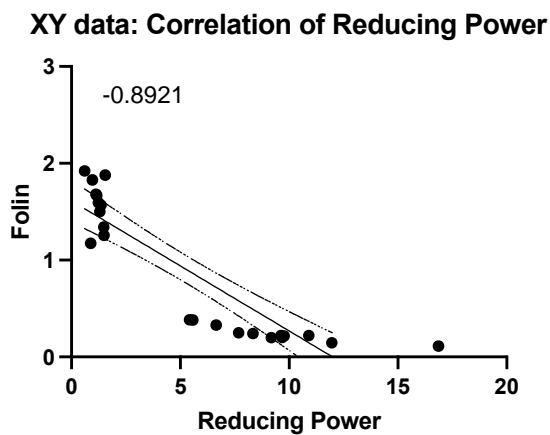
Γράφημα 25, Γράφημα 26. Σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας οίνου με τις μεθόδους DPPH, ABTS με βάση το χρώμα. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM.



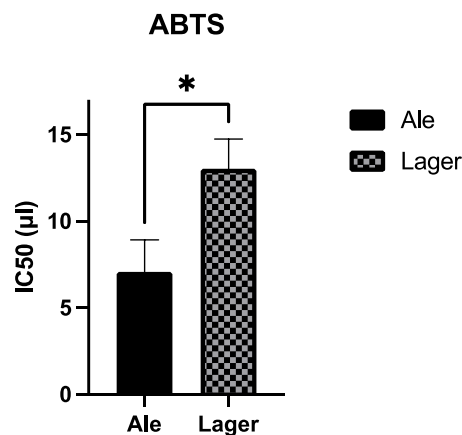
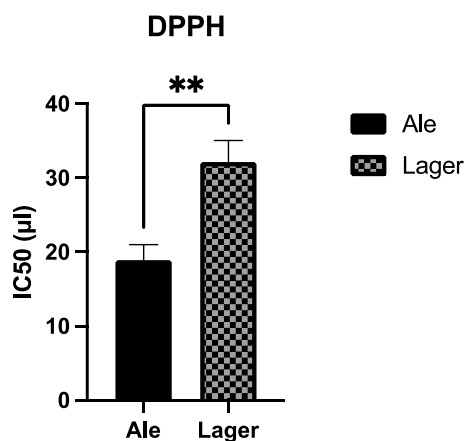
Γράφημα 27, Γράφημα 28. Σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας οίνου με τις μεθόδους Superoxide, Reducing power με βάση το χρώμα. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM.



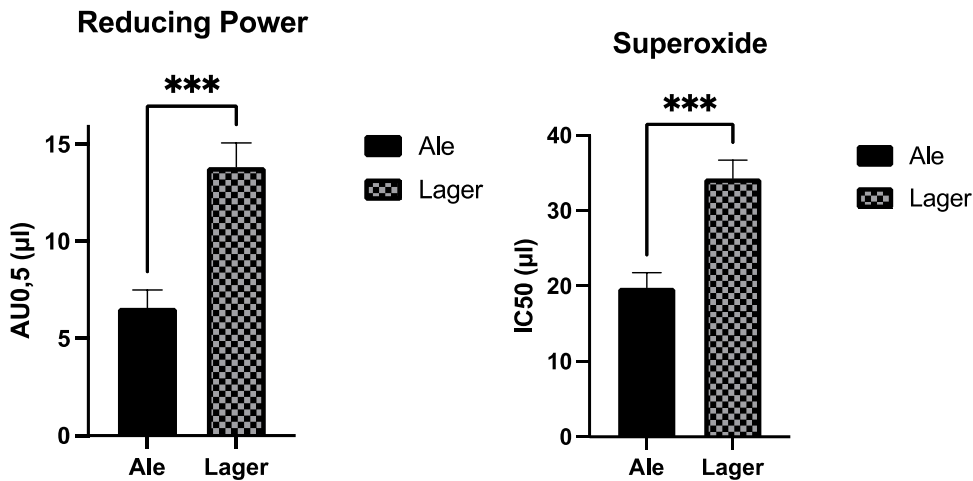
Γράφημα 29, Γράφημα 30. Συσχέτιση των μεθόδων DPPH, ABTS με το πολυφαινολικό περιεχόμενο της μεθόδου Folin-Ciocalteu για τις ποικιλίες οίνου.



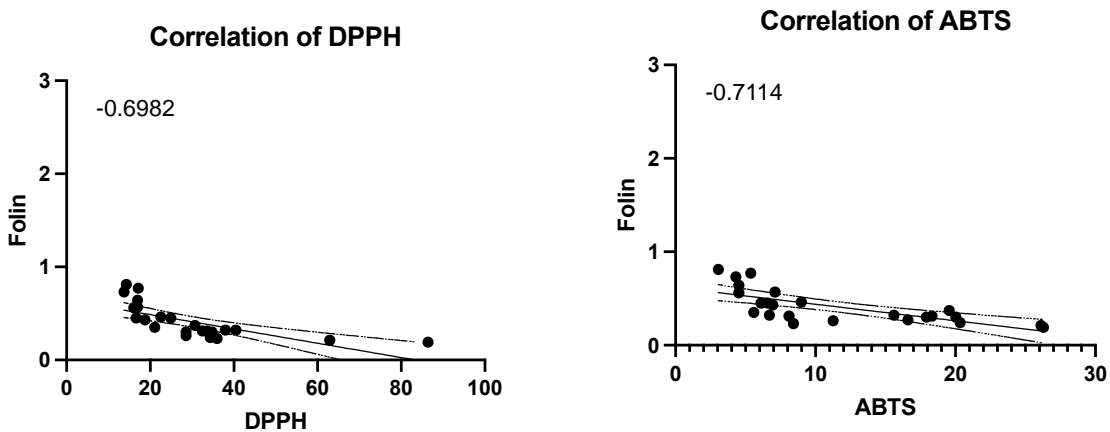
Γράφημα 31, Γράφημα 32. Συσχέτιση των μεθόδων Reducing power, Superoxide με το πολυφαινολικό περιεχόμενο της μεθόδου Folin-Ciocalteu για τις ποικιλίες οίνου.



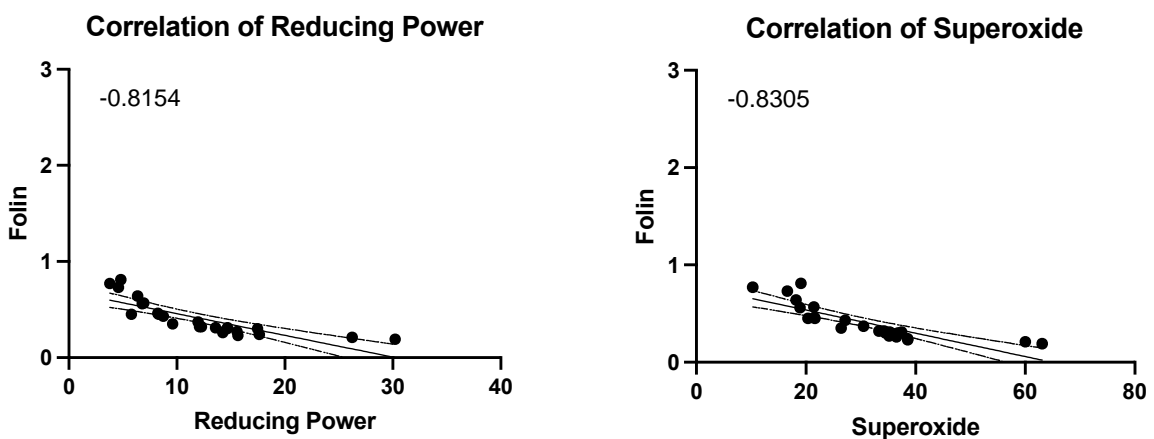
Γράφημα 33, Γράφημα 34. Σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας ζύθου με τις μεθόδους DPPH, ABTS. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM.



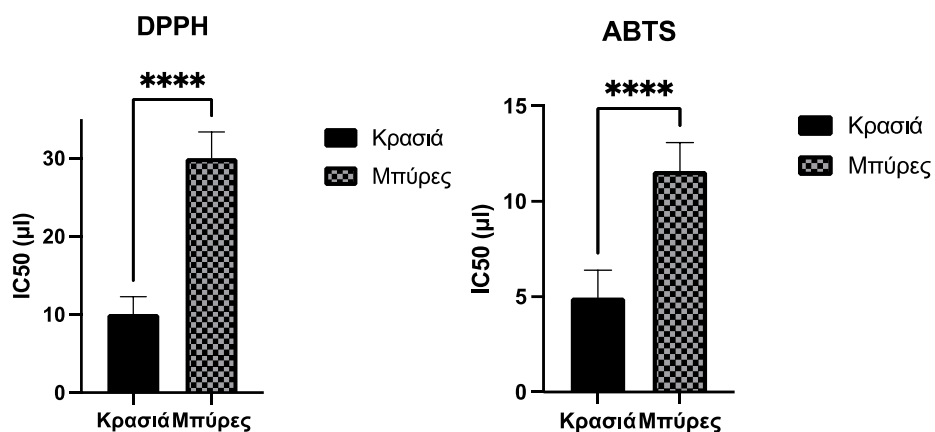
Γράφημα 35, Γράφημα 36. Σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας ζύθου με τις μεθόδους Reducing power, Superoxide. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως $\text{mean} \pm \text{SEM}$.



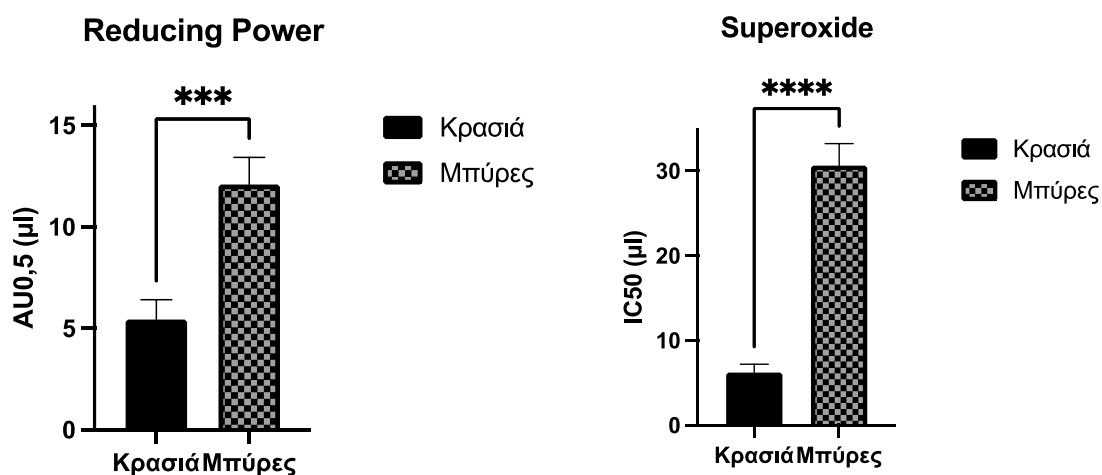
Γράφημα 37, Γράφημα 38. Συσχέτιση των μεθόδων DPPH, ABTS με το πολυφαινολικό περιεχόμενο του ζύθου από τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.



Γράφημα 39, Γράφημα 40. Συσχέτιση των μεθόδων Reducing power, Superoxide με το πολυφαινολικό περιεχόμενο του ζύθου από τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.



Γράφημα 41, Γράφημα 42. Σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας οίνου και ζύθου με τις μεθόδους DPPH, ABTS. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM.



Γράφημα 43, Γράφημα 44. Σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας οίνου και ζύθου με τις μεθόδους Reducing power, Superoxide. * Στατιστική σημαντικότητα $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mean \pm SEM.