



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Ανάλυση του αντιοξειδωτικού προφίλ ελληνικών οίνων και ζύθου με συνδυασμό μοριακών τεχνικών (Reducing Power, Superoxide Radical, Folin-Ciocalteu)»

Σαΐτη Μαργκώ του Αριστοτέλη

Λάρισα, 2022



UNIVERSITY OF THESSALY
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY AND
BIOTECHNOLOGY

UNDERGRADUATE DISSERTATION

**«An analysis of the antioxidant profile of Greek wines and beer by
combining molecular techniques
(Reducing Power, Superoxide Radical, Folin-Ciocalteu)»**

Margaux Aristotle Saitis

Larissa, 2022

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Κουρέτας Δημήτριος (επιβλέπων): Καθηγητής Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών – Τοξικολογίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Στάγκος Δημήτριος: Επίκουρος Καθηγητής Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών – Τοξικολογίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

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

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και σηματοδοτεί το πέρας των προπτυχιακών σπουδών μου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Κουρέτα Δημήτριο που ανέλαβε να είναι υπεύθυνος της εργασίας μου και μου έδωσε την ευκαιρία να συνεργαστώ με τον ίδιο και την επιστημονική ομάδα του υπό την διαρκή επίβλεψη και καθοδήγησή του.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους Επίκουρους Καθηγητές κ. Στάγκο Δημήτριο και κ. Βεσκούκη Αριστεΐδη που δέχτηκαν να συμμετάσχουν στην τριμελή συμβουλευτική επιτροπή.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Υποψήφιο Διδάκτορα Τέκο Φώτιο για την πολύτιμη βοήθεια, κατανόηση και ενδιαφέρον που μου προσέφερε σε όλη την πειραματική και συγγραφική διαδικασία, καθώς και όλα τα μέλη του εργαστηρίου για τη φιλική διάθεση και προθυμία να με βοηθήσουν όποτε αυτό χρειάστηκε.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	7
ABSTRACT	8
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1.1 Ιστορική αναδρομή οίνου	9
1.1.1 Μεσοποταμία.....	9
1.1.2 Αίγυπτος	10
1.1.3 Ελλάδα.....	12
1.2 Ποικιλίες σταφυλιού.....	14
1.2.1 Ασύρτικο.....	14
1.2.2 Μαλαγουζιά	14
1.2.3 Αγιωργίτικο.....	15
1.2.4 Ξινόμαυρο	15
1.3 Σύσταση οίνου	16
1.4 Διαδικασία οινοποίησης	19
1.4.1 Παραγωγή λευκού οίνου.....	19
1.4.2.Παραγωγή ερυθρού οίνου	24
1.4.2.1 Καρβονική διαβροχή.....	26
1.5 Ιστορική αναδρομή ζύθου.....	27
1.5.1 Μεσοποταμία.....	27
1.5.2 Αίγυπτος	28
1.5.3 Ελλάδα.....	29
1.6 Τύποι ζύθου	31
1.7 Σύσταση ζύθου	31
1.8 Διαδικασία ζυθοποίησης.....	33
1.9 Ελεύθερες ρίζες – Δραστικές μορφές οξυγόνου	36
1.10 Οξειδωτικό στρες.....	37
1.11 Αντιοξειδωτικά μόρια – Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί	37
1.12 Πολυφαινόλες.....	39
1.12.1 Φαινολικές ενώσεις οίνου	40
1.12.1.1 Φλαβονοειδή	41

1.12.1.2 Μη φλαβονοειδή	43
1.12.2 Φαινολικές ενώσεις ζύθου	45
2. ΣΚΟΠΟΣ	48
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	49
3.1 Χημικά αντιδραστήρια.....	49
3.2 Υπό εξέταση δείγματα.....	49
3.3 Προσδιορισμός συνολικού πολυφαινολικού περιεχομένου μέσω του αντιδραστηρίου Folin – Ciocalteu	50
3.4 Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω αλληλεπίδρασης με τη ρίζα σουπεροξειδίου $O_2^{\bullet-}$ (Superoxide Radical Scavenging Activity)	52
3.5 Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω αναγωγής του τρισθενούς σιδήρου σε δισθενή (Ferric Reducing Antioxidant Power Assay)	54
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	57
4.1 Μέτρηση συνολικού πολυφαινολικού περιεχομένου σε δείγματα οίνου μέσω της μεθόδου Folin – Ciocalteu	58
4.2 Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας σε δείγματα οίνου μέσω αλληλεπίδρασης με τη ρίζα $O_2^{\bullet-}$	58
4.3 Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας σε δείγματα οίνου μέσω αναγωγής του Fe^{3+} σε Fe^{2+}	59
4.4 Σύγκριση των δειγμάτων οίνου με βάση το χρώμα.....	60
4.5 Σύγκριση των δειγμάτων οίνου με βάση την ποικιλία αμπέλου	60
4.6 Σύγκριση των δειγμάτων οίνου με βάση την περιοχή παραγωγής	61
4.7 Μέτρηση συνολικού πολυφαινολικού περιεχομένου σε δείγματα ζύθου μέσω της μεθόδου Folin – Ciocalteu	63
4.8 Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας σε δείγματα ζύθου μέσω αλληλεπίδρασης με τη ρίζα $O_2^{\bullet-}$	64
4.9 Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας σε δείγματα ζύθου μέσω αναγωγής του Fe^{3+} σε Fe^{2+}	64
4.10 Σύγκριση των δειγμάτων ζύθου με βάση τον τύπο ale και lager.....	65
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	67
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ	71
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	74

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο οίνος και ο ζύθος αποτελούν από την αρχαιότητα δύο πολύ διαδεδομένα και ευρείας κατανάλωσης ροφήματα με το καθένα να φέρει τη δική του ανεξάρτητη ιστορία και κουλτούρα στις ανθρώπινες κοινωνίες. Το έντονο ενδιαφέρον που συγκεντρώνουν από την επιστημονική κοινότητα σήμερα οφείλεται στο πλήθος των βιοδραστικών ενώσεων που περιέχουν και συγκεκριμένα των πολυφαινόλων, οι οποίες τους προσδίδουν ωφέλιμα για την υγεία γνωρίσματα όπως αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές και αντικαρκινικές ιδιότητες. Στην παρούσα μελέτη εξετάζεται η αντιοξειδωτική ικανότητα 23 δειγμάτων οίνου και 24 δειγμάτων ζύθου ελληνικής παραγωγής μέσω της εφαρμογής των *in vitro* μεθόδων Folin-Ciocalteu, Superoxide radical scavenging activity και Ferric reducing antioxidant power. Οι ελληνικές ποικιλίες οίνου που εξετάστηκαν είναι το Ασύρτικο και η Μαλαγουζιά από τις λευκές ποικιλίες, και το Αγιωργίτικο και το Ξινόμαυρο από τις ερυθρές ποικιλίες, ενώ εξετάστηκαν, επίσης, και οι δύο κύριες κατηγορίες ζύθου, ο τύπος ale και ο τύπος lager. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των μετρήσεων, βρέθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ ερυθρών και λευκών ποικιλιών οίνου, με τους ερυθρούς οίνους να εμφανίζουν υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική ισχύ σε σχέση με τους λευκούς. Μεταξύ των ερυθρών οίνων ξεχώρισε η ποικιλία του Ξινόμαυρου, ενώ από τις λευκές ποικιλίες το Ασύρτικο εμφάνισε μεγαλύτερη δραστηριότητα από τη Μαλαγουζιά. Στατιστικώς σημαντική διαφορά εντοπίστηκε και μεταξύ των τύπων ζύθου, με τις μπύρες τύπου ale να σημειώνουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες και ικανότητα εξουδετέρωσης ελευθέρων ριζών από τις μπύρες τύπου lager. Σε κάθε μέθοδο που εφαρμόστηκε, η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων οίνου ανεξαρτήτως ποικιλίας υπερέφερε από τις μετρήσεις των δειγμάτων ζύθου, λόγω της πιο πλούσιας σύστασης των πρώτων σε πολυφαινόλες. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, και τα δύο αυτά ροφήματα μπορούν να αποτελέσουν διατροφικές πηγές αντιοξειδωτικών ουσιών και να παρέχουν προστασία έναντι οξειδωτικών βλαβών από ελεύθερες δραστικές ρίζες.

ABSTRACT

Since antiquity, wine and beer have been two very widespread beverages, with each bringing its own independent history and culture to societies. The intense interest they have from the scientific community today is due to the multitude of bioactive compounds they contain, in particular, polyphenols, which give them health benefits such as antioxidant, antimicrobial and anti-cancer properties. The present study examines the antioxidant capacity of 23 samples of Greek wine and 24 samples of Greek beer through the application of in vitro assays (Folin-Ciocalteu assay, Superoxide radical scavenging activity assay and Ferric reducing antioxidant assay). The Greek wine varieties examined are Assyrtiko and Malagouzia from the white varieties, and Agiorgitiko and Xinomavro from the red varieties, while both the main categories of beer, the ale type and the lager type were also examined. According to the results of the measurements, a statistically significant difference was found between red and white wine varieties, with the red wines showing higher polyphenolic content and antioxidant capacity than the whites. Among the red wines, the variety of Xinomavro stood out, while between the white varieties Assyrtiko showed higher activity than Malagouzia. A statistically significant difference was also found between the types of beer, with ale beers marking a higher content of polyphenols and the capacity to eliminate free radicals from lager beers. In each method applied, the antioxidant capacity of the samples of wine, regardless of their variety, was superior to the measurements found in beers, due to the richer composition of the former in polyphenols. According to the results of this study, both beverages can be nutritional sources of antioxidants and provide protection against oxidative damage from free radicals.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ιστορική αναδρομή οίνου

Κατά τη μετάβαση από το κυνήγι στην σκόπιμη γεωργία, η καλλιέργεια δημητριακών προηγήθηκε της καλλιέργειας σταφυλιών και γενικά της κηπουρικής. Ωστόσο, η οινοπαραγωγή φαίνεται να εμφανίζεται πρώτη πριν τη ζυθοποιία, καθώς η τελευταία απαιτούσε πιο σύνθετα βήματα για να πραγματοποιηθεί. Αντίθετα, για την παραγωγή κρασιού αρκούσε μόνο τα σταφύλια να έχουν σπασμένους τους φλοιούς τους για να απελευθερωθεί ο χυμός τους και οι ζυμομύκητες ως φυσικό στοιχείο των φλοιών μετέτρεπαν άμεσα τα σάκχαρα του χυμού σε αλκοόλη. Επιπλέον, η υψηλότερη περιεκτικότητα των σταφυλιών σε σάκχαρα οδηγούσε σε υψηλότερο επίπεδο αλκοόλης στο κρασί και άρα, σε πιο εκτεταμένη διατήρησή του σε σύγκριση με την μπίρα. Τόσο, λοιπόν, η ευκολότερη παραγωγή όσο και η πιο αξιόπιστη αποθήκευση κατέστησαν το κρασί προτιμότερο από την μπίρα στις πρώιμες ανθρώπινες κοινωνίες και πιο πολύτιμο που προοριζόταν για ιερείς, ηγεμόνες και ειδικές περιστάσεις [28].

1.1.1 Μεσοποταμία



Εικόνα 1. Δοχείο κρασιού από την περιοχή Godin Tepe. Πηγή. [16]

Τα πρώτα στοιχεία για την παραγωγή και χρήση οίνου βρέθηκαν στην αρχαία τοποθεσία του Godin Tepe στο κεντροδυτικό Ιράν σε δοχεία με υπολείμματα τρυγικού οξέος και των αλάτων του, τα οποία χρονολογούνται στην 4^η χιλιετία π.Χ. Τοπικές μορφολογικές και διακοσμητικές παραδόσεις αγγειοπλαστικής προσαρμόστηκαν για να παράγουν ένα μοναδικό τύπο δοχείου ειδικά κατάλληλο για την αποθήκευση κρασιού και τη διατήρηση της σύστασής του.

Στη Βαβυλωνία δεν έχουν βρεθεί στοιχεία για παραγωγή κρασιού. Έως την 1^η χιλιετία π.Χ. απουσίαζε σχεδόν πλήρως από τα οικονομικά αρχεία του κράτους, γεγονός που υποδηλώνει ότι ήταν πράγματι ένα σπάνιο εμπόρευμα και πολύ ακριβό. Κατά τη διάρκεια των αιώνων αυξήθηκε σταδιακά η κατανάλωσή του, όμως

εξακολουθούσε να αποτελεί προνόμιο των θεών και των πλουσίων ή η χρήση του αφορούσε φαρμακευτικούς σκοπούς.

Πρώιμες πλάκες των Σουμερίων επιβεβαιώνουν ότι η εξημέρωση της αμπέλου είναι τουλάχιστον τόσο παλιά όσο η 4^η χιλιετία π.Χ. Ωστόσο, η αμπελοκαλλιέργεια δεν

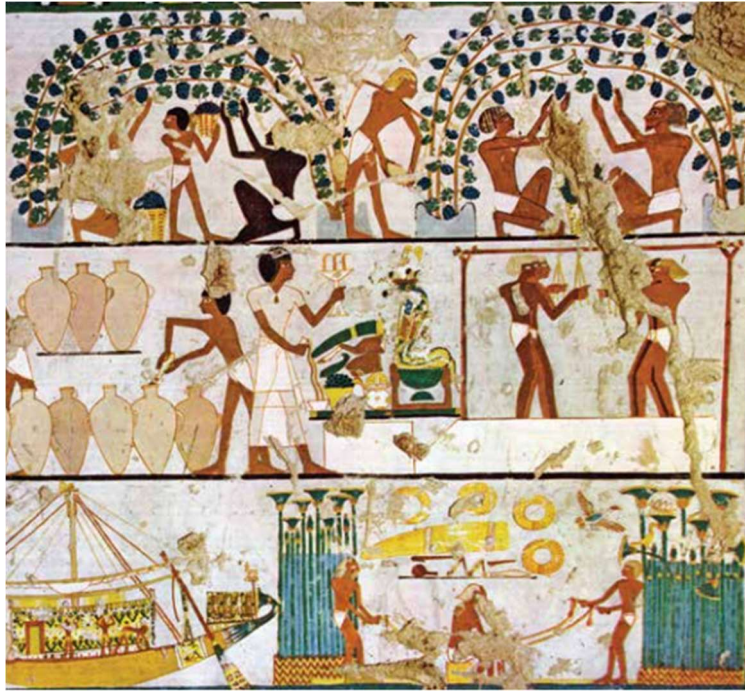
είναι συνώνυμη με την κουλτούρα του κρασιού, επειδή οι Σουμέριοι και όλοι οι διάδοχοι τους στη Νότια Μεσοποταμία συνέχισαν να καλλιεργούν σταφύλια, αλλά έπιναν μύρα και το κρασί συνέχισε να είναι τόσο σπάνιο όσο και ακριβό. Τα πρώτα αξιόπιστα στοιχεία για μια αναπτυγμένη κουλτούρα κρασιού στη βορειοδυτική Μεσοποταμία εμφανίζεται γύρω στο 1800 π.Χ. σε σύνδεση με τους Αμορίτες, έναν αρχαίο σημαντικό νομαδικό λαό προερχόμενο από την έρημο της Συρίας, καθιστώντας πιθανό ότι η Συρία ήταν το μεγαλύτερο κέντρο για τη διάδοση του πολιτισμού του κρασιού στη Μεσοποταμία.

Κατά την 1^η χιλιετία π.Χ. στην περίοδο της Ασσυριακής Αυτοκρατορίας παρατηρείται μια καλά αναπτυγμένη κουλτούρα κρασιού όχι μόνο στη Συρία, αλλά σε όλο το μήκος των συνόρων μεταξύ της Τουρκίας στο Βορρά και της Συρίας και του Ιράκ στο Νότο. Και για πρώτη φορά Ασσυριακές πηγές αναφέρουν το κρασί σε σύνδεση με το Ουραρτού, καθιστώντας σαφές ότι η Αρμενία έχει επιτέλους γίνει η χώρα παραγωγής κρασιού που την έκανε γνωστή στη μεταγενέστερη αρχαιότητα [28].

1.1.2 Αίγυπτος

Το αμπέλι δεν ανήκει στη γηγενή χλωρίδα της Αιγύπτου και έχει προταθεί ότι μπορεί να εισήχθη από τη Δυτική Ασία κατά τη διάρκεια των Προδυναστικών χρόνων. Τα πρώτα στοιχεία για την παραγωγή κρασιού χρονολογούνται από την αρχή της 1^{ης} Δυναστείας περίπου το 3000 π.Χ. Κρασιά διαφορετικής ποιότητας από διαφορετικές πηγές καταναλώνονταν από τις υψηλότερες τάξεις της κοινωνίας και συμπεριλαμβάνονταν μεταξύ των αναγκών για μια καλή μεταθανάτια ζωή.

Μεταγενέστερα κατά την περίοδο του Παλαιού (2575 – 2130 π.Χ.) και του Μέσου Βασιλείου (1938 – 1630 π.Χ.), πληροφορίες για τα αρχαία αιγυπτιακά κρασιά βρέθηκαν από τοιχογραφίες σε τάφους. Ωστόσο, τα πιο ολοκληρωμένα και σαφή στοιχεία προέρχονται από την περίοδο του Νέου Βασιλείου (1539 – 1075 π.Χ.). Οι τοιχογραφίες σε τάφους που ανακαλύφθηκαν στην Νεκρόπολη των Θηβών απεικονίζουν σχεδόν κάθε πτυχή της οινοποίησης με μια σειρά από σκηνές από τη φροντίδα της αμπελοκαλλιέργειας, στη συγκομιδή των σταφυλιών, το σπάσιμό τους σε δεξαμενές, το πρεσάρισμα του μούστου σε σακιά, την εμφιάλωση και αποθήκευση του κρασιού, ακόμη και τη μεταφορά, το σερβίρισμα και κατανάλωσή του. Δεν υπάρχουν αποδείξεις για αραίωση του κρασιού κατά την Φαραωνική Περίοδο, αλλά υπάρχουν αναφορές σε «αναμειγμένα κρασιά» [28].



Εικόνα 2. Σκηνή οινοποίησης από τον τάφο του πρίγκιπα Khaemweset. Πηγή [10]

Τα κρασιά από το Νέο Βασίλειο είναι πιο γνωστά σήμερα από τις ετικέτες που τοποθετούσαν τότε πάνω στα δοχεία αποθήκευσης. Ο τυπικός αμφορέας της εποχής είχε δύο λαβές και η βάση του ήταν στρογγυλεμένη ή μυτερή που μπορούσε να



Εικόνα 3. Αιγυπτιακά δοχεία κρασιού. Πηγή. [28]

σταθεί στην άμμο, σε μια κεραμική βάση σε σχήμα δαχτυλιδιού ή σε μια ξύλινη δομή. Δεδομένου ότι τέτοια δοχεία δεν σχεδιάστηκαν για να στέκονται όρθια από μόνα τους, το σχήμα θα μπορούσε να σχετίζεται με την πλευρική αποθήκευση των κρασιών και την ορατή εμφάνιση της ετικέτας τους. Οι επιγραφές σε αυτά τα δοχεία περιέχουν πληροφορίες όπως τη χρονιά της συγκομιδής που υποδεικνύεται από το βασιλικό έτος του βασιλιά, την τοποθεσία του αμπελώνα, τον ιδιοκτήτη του αμπελώνα και τον οινοποιό.

Συνταγές που έχουν διασωθεί από ιατρικά κείμενα δείχνουν ότι, μαζί με την μύρα και το νερό, το κρασί ήταν ένα από τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα φάρμακα ικανό να αντιμετωπίσει ασθένειες και παθήσεις όπως το άσθμα, τον ίκτερο και την απώλεια όρεξης [28].

1.1.3 Ελλάδα

Στα τέλη της Παλαιολιθικής Περιόδου περίπου το 11000 π.Χ. εντοπίστηκαν τα πρώτα ευρήματα σταφυλιών στην Ελλάδα στο σπήλαιο Φράγχθι στην Αργολίδα, που πιθανόν αποτελούσαν συμπλήρωμα της διατροφής των κυνηγών/συλλεκτών της εποχής. Η πρώιμη αξιοποίησή τους συνεχίστηκε με την εγκατάσταση της γεωργίας λίγο πριν από το 6000 π.Χ. και οδήγησε στην καλλιέργεια της αμπέλου ως μία από τις πρώτες καλλιέργειες φρούτων. Τα πρώτα σαφή στοιχεία για παρουσία αμπέλων και παραγωγή κρασιού στο χώρο του Αιγαίου προέρχονται από τον πρώιμο μινωικό οικισμό του Μύρτου στη νότια ακτή της Κρήτης, όπου μέσα σε πίθους βρέθηκαν υπολείμματα από απανθρακωμένους πυρήνες, μίσχους και φλοιούς σταφυλιών. Η οινοποίηση αποτέλεσε την πιο σημαντική εξέλιξη για τους αρχαίους ελληνικούς πολιτισμούς, καθώς η παραγωγή αυτού του πολυτελούς αγαθού, το οποίο απένειμαν στον θεό Διόνυσο, οδήγησε στην ανάπτυξη της ευημερίας. Σε πλάκες Γραμμικής Α και Β που έχουν διασωθεί καταγράφεται πόσο πολύτιμο γεωργικό προϊόν αποτελούσε τόσο για τα μινωικά όσο και για τα μυκηναϊκά παλάτια και με ποιους διαφορετικούς τρόπους το αξιοποιούσαν όπως για παρασκευή αρωμάτων ή για προσφορά στους θεούς. Ωστόσο, φαίνεται ότι δεν συμμετείχαν άμεσα στην παραγωγή του, αλλά το προμηθεύονταν από τοπικούς γεωργούς [28].



Εικόνα 4. Σκηνή παραγωγής οίνου από Σάτυρους, έργο του 6^{ου} αιώνα π.Χ. από τον Έλληνα αγγειοπλάστη Άμασι. Πηγή. [27]

Κατά την Κλασική περίοδο, το κρασί αποτελούσε το κατ' εξοχήν ρόφημα της αριστοκρατίας πάντα παρόν σε συμπόσια, γιορτές, ιεροτελεστίες και σε σημαντικές εμπορικές συναλλαγές, ενώ η διαθεσιμότητά του στα κατώτερα κοινωνικά στρώματα ήταν περιορισμένη. Κατά τη μεταφορά του βρισκόταν αποθηκευμένο σε ασκούς από δέρμα κατσίκας και έπειτα, μεταφερόταν σε κρατήρες για την ανάμιξή του με νερό. Στην αρχαιότητα θεωρούταν βάρβαρο να πίνει κανείς κρασί μη αραιωμένο εκτός από τους θεούς, οι οποίοι δεν επηρεάζονταν από τις επιπτώσεις της μέθης. Επίσης, το κρασί χρησιμοποιούταν για την απολύμανση του νερού που λόγω των πολλών μικροβίων δεν ήταν ασφαλές για κατανάλωση.

Κατά την Ελληνορωμαϊκή περίοδο οι αμφορείς αποτελούσαν το κύριο μέσο μεταφοράς και αποθήκευσης οίνου στην περιοχή της Μεσογείου. Ο τεράστιος αριθμός τους που έχει ανασκαφεί επιβεβαιώνει την έντονη εμπορική δραστηριότητα σε διεθνές επίπεδο. Ο όρος αμφορέας χρησιμοποιούταν από τους Μυκηναϊκούς χρόνους στην Ελλάδα και χαρακτηρίζει ένα δοχείο με στενό λαιμό, δύο λαβές και μυτερή βάση. Οι Έλληνες ανέπτυξαν το δικό τους τύπο αμφορέα μετά τους Αιγυπτίους, ο οποίος διέθετε ψηλότερο λαιμό και ψηλότερες λαβές από το ανατολικό μοντέλο. Διαφορετικές πόλεις – κράτη στον ελληνικό κόσμο παρήγαγαν τα δικά τους ξεχωριστά σχήματα για να γίνονται διακριτά στις αγορές [28].



Εικόνα 5. Αμφορείς από (αριστερά προς δεξιά) Ρόδο, Κνίδο, Χίο και Ρώμη. Πηγή. [27]

Ως ζεστή ουσία, το κρασί αποδείχθηκε ότι είχε πολλές θεραπευτικές ιδιότητες και χρησιμοποιούταν ευρέως από τους κλασικούς ιατρούς για την αντιμετώπιση διαφόρων παθήσεων. Ιδιαίτερη προσοχή δινόταν στα χαρακτηριστικά του όπως το χρώμα, η μυρωδιά και ο χρόνος ωρίμανσης, γιατί επηρέαζαν τη θεραπευτική του αξία. Κρασιά με ευχάριστη μυρωδιά θεωρούνταν ισχυρότερα για την ταχύτερη αποκατάσταση της σωματικής δύναμης και ήταν κατάλληλα για τους ηλικιωμένους, ενώ γενικά τα κρασιά μέσης ωρίμανσης μεταξύ τεσσάρων και δώδεκα μηνών χαρακτηρίζονταν ιδανικά για ιατρική χρήση. Ο Ιπποκράτης υποστήριζε ότι κάθε πληγή έπρεπε να φροντίζεται αποκλειστικά με κρασί και κατέγραψε εκτενώς τους τρόπους με τους οποίους κρασιά από διαφορετικές ποικιλίες σταφυλιών μπορούσαν να βοηθήσουν στην πέψη. Ωστόσο, για τη διατήρηση της βέλτιστης υγείας τόσο του σώματος όσο και του νου η κατανάλωση του κρασιού έπρεπε να γίνεται πάντα με σύνεση και μέτρο [34].

1.2 Ποικιλίες σταφυλιού

1.2.1 Ασύρτικο

Το Ασύρτικο με καταγωγή από τη Σαντορίνη θεωρείται ως η καλύτερη ελληνική λευκή ποικιλία σταφυλιών σήμερα και μάλιστα μία από τις σπουδαιότερες στη λεκάνη της Μεσογείου. Χαρακτηρίζεται από pH χαμηλότερο του τρία και μια συνολική οξύτητα άνω των 6,5 γραμμαρίων ανά λίτρο λόγω του τρυγικού οξέος που αποτελεί σύνηθες στοιχείο των κρασιών του νησιού. Καλλιεργείται σε μερικούς από τους πιο καυτούς, ηλιόλουστους, ξηρούς αμπελώνες στη γη, όμως η αξιοσημείωτη ικανότητα προσαρμογής του σε διαφορετικά εδάφη και κλίματα αναγνωρίστηκε γρήγορα από οινοπαραγωγούς σε ολόκληρη τη χώρα με σημαντική την παρουσία του στην Μακεδονία (ΠΟΠ Πλαγιές Μελίτωνα, Χαλκιδική). Το αμπέλι του Ασύρτικου είναι ανθεκτικό στις περισσότερες ασθένειες και όταν δεν καταπονείται, μπορεί να παράγει περισσότερα από 60 εκατόλιτρα ανά εκτάριο. Είναι εξαιρετικά ανθεκτικό στη ξηρασία και το σκληρό φλοιώμά του το προστατεύει από τους έντονους ανέμους του Αιγαίου κατά τους θερινούς μήνες. Δίνει κυρίως λευκά ξηρά κρασιά που παλαιώνουν για τουλάχιστον πέντε χρόνια, μερικά από τα οποία ωριμάζουν σε βαρέλι. Στις διάφορες περιοχές της Ελλάδας οι ποικιλίες Ασύρτικου δεν εμφανίζουν τον ίδιο οрукτώδη χαρακτήρα με αυτόν της Σαντορίνης, αλλά έχουν μεγαλύτερη ένταση αρωμάτων και υψηλότερα επίπεδα φρούτων [22,48].

1.2.2 Μαλαγουζιά

Η Μαλαγουζιά αποτελεί μια ιδιαίτερη ποικιλία αμπέλου που έως τα μέσα του 1970 ήταν σχετικά άγνωστη στο ευρύ κοινό. Προέρχεται από την περιοχή της Αιτωλοακαρνανίας και σήμερα υπάρχουν περισσότερες από εκατό ποικιλίες σε όλη την Ελλάδα. Χαρακτηρίζεται από ένα έντονο και ιδιοσυγκρασιακό αρωματικό χαρακτήρα από ώριμα ροδάκινα και βερίκοκα σε συνδυασμό με νύξεις φρέσκιας πράσινης πιπεριάς και η παλαίωση σε δρύινα βαρέλια την αναδεικνύει εξαιρετικά. Το αμπέλι δεν είναι ανθεκτικό στην ξηρασία και μία ή δύο περίοδοι στάγδην άρδευσης μπορεί να βοηθήσει στην προώθηση της ωρίμανσης του. Τα σταφύλια που συλλέγονται σε διαφορετικά επίπεδα ωρίμανσης έχουν δείξει αισθητές διαφορές στο αρωματικό δυναμικό με τα βέλτιστα αρώματα να επιτυγχάνονται όταν τα σταφύλια μαζεύονται με ποσοστό πιθανής αλκοόλης μεταξύ 12,5 και 13,5%. Εάν η Μαλαγουζιά ωριμάσει σε εκτενές βαθμό, το επίπεδο των τερπενίων αυξάνεται ταχέως, ενώ εάν ωριμάσει σε περιορισμένο βαθμό οι αρωματικές ιδιότητες της είναι σχετικά φτωχές [22,48].

1.2.3 Αγιωργίτικο

Το Αγιωργίτικο είναι μία από τις σημαντικότερες ερυθρές ελληνικές ποικιλίες με διεθνή αναγνώριση που προέρχεται από την περιοχή της Νεμέας. Ωστόσο, λόγω των εξαιρετικών ποιοτικών χαρακτηριστικών του η καλλιέργειά του σήμερα έχει επεκταθεί σε όλη την Αττική, την κεντρική και βόρεια Πελοπόννησο, αλλά και στη βόρεια Ελλάδα. Πρόκειται για μια ποικιλία αμπέλου που οι Έλληνες χαρακτηρίζουν ως «πολυδύναμη», περιγράφοντας την ικανότητά της να παράγει κρασιά σε ένα ευρύ φάσμα τύπων από δροσιτικά ροζέ έως πυκνά, τανικά κόκκινα. Το ύψος του κρασιού είναι σοβαρό και σαφές με χρώμα βαθύ και αρωματικό προφίλ από κόκκινα φρούτα και γλυκά μπαχαρικά, ενώ η ωρίμανσή του σε νέο δρυ το κολακεύει ιδιαίτερα. Το Αγιωργίτικο είναι εξαιρετικά ευαίσθητο στο ωίδιο, τον περονόσπορο, την ανεπάρκεια καλίου και στην έλλειψη νερού, χαρακτηρίζεται από μέσο σθένος, όμως υπό ευνοϊκές συνθήκες είναι ικανό να παράγει με υψηλές αποδόσεις. Έχει σχετικά μικρά τσαμπιά που είναι δύσκολο να κοπούν, ενώ οι καρποί του είναι μικροί με παχιούς φλοιούς. Επίσης, χρειάζεται στρεσογόνες συνθήκες για να παράγει φρούτα καλής ποιότητας. Οι καλύτερες συνθήκες καλλιέργειας σύμφωνα με τα ελληνικά πρότυπα είναι οι πυκνές φυτείες με 5.000 αμπέλια ανά εκτάριο ή και περισσότερα, και άγονα, μη αρδευόμενα εδάφη με την κατάλληλη διαχείριση των φυλλωσιών. Μια μακρά καλλιεργητική περίοδος είναι απαραίτητη για την επίτευξη της πλήρους φαινολικής και αρωματικής ωρίμανσης της αμπέλου και προτιμώνται τοποθεσίες μεγαλύτερου υψομέτρου. Το Αγιωργίτικο ωριμάζει μετά τα μέσα Σεπτεμβρίου και συνήθως έχει αρκετά παρατεταμένη περίοδο συγκομιδής [22,48].

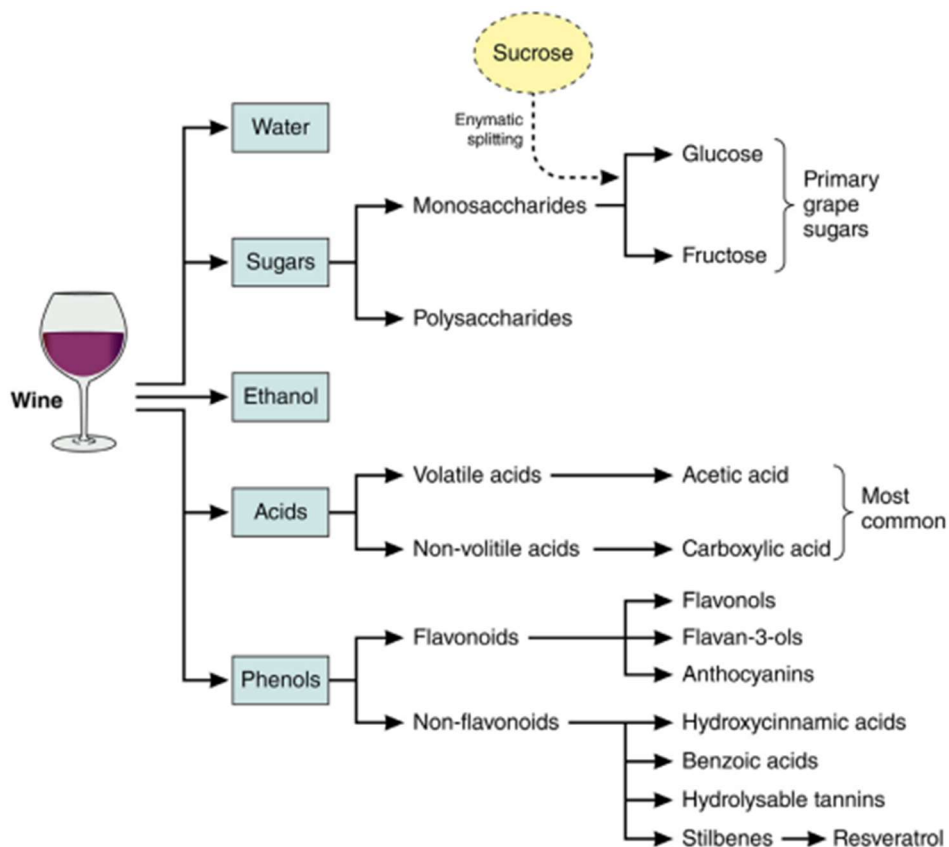
1.2.4 Ξινόμαυρο

Το Ξινόμαυρο συμμετέχει δυναμικά στην ελληνική αμπελουργία και αποτελεί μία από τις αριστοκρατικές ποικιλίες ερυθρών σταφυλιών της Νότιας Ευρώπης, που δίνει κρασιά με υπέροχο βάθος, πολυπλοκότητα, χαρακτήρα και με μεγάλη δυνατότητα παλαίωσης. Το αμπέλι απαιτεί αυξημένη καλλιεργητική φροντίδα, καθώς είναι ευαίσθητο στις ξηρές συνθήκες, στο ωίδιο, τον περονόσπορο και στον βοτρυτή, όπως επίσης και στην ανεπάρκεια καλίου. Για την επίτευξη βέλτιστων αποτελεσμάτων υπάρχει ένα στενό φάσμα φύτευσης με πυκνότητα περίπου 4.000 αμπέλια ανά εκτάριο, ενώ εξίσου σημαντικά στάδια για την καλλιέργεια είναι η συλλογή των φρούτων, ο βαθμός κλαδέματος και ξεφυλλίσματος. Ιδιαίτερη προσοχή δίνεται στην αρχιτεκτονική των φυλλωσιών με το κατακόρυφο σύστημα τοποθέτησης των βλαστών να είναι το πιο ευνοϊκό. Ακόμη όμως και μετά από εξειδικευμένη και ελεγχόμενη διαχείριση της καλλιέργειας, τα σάκχαρα και οι τανίνες του Ξινόμαυρου μπορεί να μη φτάσουν στο επιθυμητό επίπεδο ωρίμανσης, ειδικά σε αμπελώνες πιο ψυχρού κλίματος, καθιστώντας την ποικιλία εξαιρετικά απαιτητική. Υπάρχουν διάφοροι διαθέσιμοι κλώνοι της αμπέλου που όλοι διαφέρουν μεταξύ τους ως προς

τα περισσότερα χαρακτηριστικά από τους χρόνους ανθοφορίας και ωρίμανσης, στο μέγεθος και σχήμα των φύλλων και των τσαμπιών, στο χρώμα και μέγεθος των καρπών, αλλά και σε ποιοτικά χαρακτηριστικά όπως το άρωμα. Το Ξινόμαυρο είναι μια άλλη πολυδυναμική ποικιλία, ικανή να παράγει κρασιά διαφόρων τύπων και σήμερα καλλιεργείται ευρέως σε όλη τη βόρεια και κεντρική Ελλάδα (ΠΟΠ Αμύνταιο στη Φλώρινα, ΠΟΠ Νάουσα στην Ημαθία, ΠΟΠ Γουμένισσα στο Κιλκίς, ΠΟΠ Ραψάνη στη Θεσσαλία) [22,48].

1.3 Σύσταση οίνου

Η σύνθεση του κρασιού βασίζεται στα συστατικά των σταφυλιών, στα προϊόντα της ζύμωσης και στις ενώσεις που σχηματίζονται κατά την αποθήκευση και ωρίμανση. Έχουν προσδιοριστεί περισσότερες από 500 ενώσεις που εκτείνονται σε συγκεντρώσεις μεταξύ των 10^{-1} έως 10^{-6} mg/L, οι οποίες μεμονωμένα δεν θεωρούνται επαρκείς για να επηρεάσουν το γευστικό προφίλ του κρασιού, αλλά η συλλογική τους παρουσία μπορεί να έχει σημασία [15].



Εικόνα 6. Μια επισκόπηση των κύριων χημικών συστατικών του κρασιού. Πηγή. [15]

Τα κύρια συστατικά του κρασιού είναι το νερό και η αιθανόλη που αντιπροσωπεύουν περίπου το 97% w/w. Τα υπόλοιπα συστατικά που βρίσκονται σε αφθονία είναι σάκχαρα, οξέα, άλλες αλκοόλες και φαινόλες που υπάρχουν σε συγκεντρώσεις των

g/L. Αυτά τα στοιχεία εκτιμάται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στη γεύση, το άρωμα, το χρώμα και την υφή του κρασιού. Οι φαινόλες, και ιδιαίτερα οι πολυφαινόλες, εμφανίζουν ενδιαφέρον, καθώς προσδίδουν αντιοξειδωτική δράση στο κρασί και έχει βρεθεί ότι είναι βιολογικά ενεργές στο ανθρώπινο σώμα. Το κρασί περιέχει, επίσης, εστέρες, ακετάλες και άλλα ιχνοστοιχεία, συμπεριλαμβανομένων των μεταλλικών στοιχείων, των βιταμινών, αλλά και άζωτο και θείο σε πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις[15].

Νερό

Το νερό αποτελεί θεμελιώδες χημικό συστατικό των σταφυλιών και κατ' επέκταση του κρασιού, κρίσιμο για την καθιέρωση των χαρακτηριστικών βασικής ροής. Λειτουργεί ως μέσο χημικών αντιδράσεων κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των σταφυλιών, της ζύμωσης του μούστου και της παλαίωσης του κρασιού. Πολλές ενώσεις σημαντικές για τη γεύση και το άρωμα του κρασιού είναι διαλυτές μόνο σε αυτό λόγω των διαμοριακών χημικών ιδιοτήτων του [15].

Αλκοόλες

Οι συγκεντρώσεις αιθανόλης κυμαίνονται τυπικά από 10-15 vol%, με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις να επιτυγχάνονται μεταγενέστερα στο στάδιο της ενίσχυσης. Η αιθανόλη επηρεάζει τη σταθερότητα, την ωρίμανση και το γευστικό και αρωματικό προφίλ του κρασιού. Η αύξηση της συγκέντρωσής της αυξάνει την αντίληψη της πικράδας και της γλυκύτητας του κρασιού, μειώνει την ένταση άλλων αρωματικών ενώσεων και καταστέλλει την ανάπτυξη μικροοργανισμών κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Επιπλέον, μειώνει την εξάτμιση άλλων πτητικών ενώσεων όπως των φαινόλων και βελτιώνει τη συνολική σταθερότητα του κρασιού μέσω της παραγωγής εστέρων. Τα κόκκινα σταφύλια χαρακτηρίζονται, γενικά, από υψηλότερες συγκεντρώσεις αιθανόλης από τα λευκά. Όσον αφορά άλλες αλκοόλες που περιέχονται στο κρασί, η μεθανόλη υπάρχει σε συγκεντρώσεις της κλίμακας των 0,01-0,2 g/L, καθιστώντας τη ένα δευτερεύον συστατικό. Άλλες σημαντικές ανώτερες αλκοόλες που εντοπίζονται είναι οι μεθυλο-προπανόλες, οι βουτανόλες και οι φαινόλες που εμφανίζονται ως παραπροϊόντα του μεταβολισμού αμινοξέων των ζυμομυκήτων που συμβάλλουν στα αρώματα του κρασιού [15].

Σάκχαρα

Τα σάκχαρα είναι το κύριο υπόστρωμα για την παραγωγή αιθανόλης στο κρασί κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Τα πρωτογενή σάκχαρα των σταφυλιών είναι εξόζες, φρουκτόζη και γλυκόζη συνήθως σε συγκεντρώσεις των 0,2-4,0 και 0,5-1,0 g/L, αντίστοιχα. Η σακχαρόζη διασπάται ενζυμικά σε φρουκτόζη και γλυκόζη και συνήθως βρίσκεται σε συγκεντρώσεις των 0-0,2 g/L, καθιστώντας τη δευτερεύον και σπάνιο συστατικό του κρασιού. Τα σάκχαρα παρέχουν μεταβολική ενέργεια στον κύριο ζυμομύκητα του κρασιού, τον *Saccharomyces cerevisiae*, ο οποίος μετατρέπει τα

πρωτογενή σάκχαρα σε αιθανόλη και CO₂. Σε ορισμένες περιπτώσεις κάποια σάκχαρα παραμένουν ως κατάλοιπα λόγω ατελούς ζύμωσης και προσθέτουν στη γλυκύτητα του κρασιού. Τα ξηρά επιτραπέζια κρασιά έχουν περιεκτικότητα σε υπολειμματικά σάκχαρα περίπου 1-4 g/L που είναι το όριο για την ταξινόμηση των κρασιών σε «ξηρά». Τα σάκχαρα μπορούν, επίσης, να μετατραπούν σε ανώτερες αλκοόλες, αλδεΐδες και εστέρες λιπαρών οξέων που προσθέτουν στον αρωματικό χαρακτήρα του κρασιού [15].

Φαινόλες

Οι φαινόλες είναι μια κατηγορία ενώσεων με ομάδες υδροξυλίου συνδεδεμένες σε έναν αρωματικό δακτύλιο, ενώ οι πολυφαινόλες είναι ενώσεις με πολλαπλούς δακτυλίους. Ο ρόλος τους αφορά την εμφάνιση, το άρωμα, τη γεύση και τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες του κρασιού, ειδικά του ερυθρού. Στατιστικά οι ερυθροί οίνοι εμφανίζουν ένα σημαντικά υψηλότερο συνολικό φαινολικό περιεχόμενο σε σχέση με τους λευκούς (2 g/L έναντι 200 mg/L). Ο διαχωρισμός των φαινολικών ενώσεων γίνεται σε δύο κατηγορίες, τα φλαβονοειδή και τα μη φλαβονοειδή. Τα φλαβονοειδή αντιπροσωπεύουν το μεγαλύτερο μέρος του πολυφαινολικού περιεχομένου στο κόκκινο κρασί (> 85%, ≥ 1 g/L), εξάγονται από το φλοιό του σταφυλιού, τους σπόρους και το μίσχος και περιλαμβάνουν ενώσεις όπως φλαβονόλες, φλαβαν-3-όλες και ανθοκυανίνες. Οι τελευταίες συμβάλλουν στο χρώμα του ερυθρού οίνου. Στην άλλη κατηγορία, τα μη φλαβονοειδή περιλαμβάνουν υδροξυβενζοϊκά οξέα, υδροξυκινναμικά οξέα και στυλβενοειδή με πιο σημαντικό παράγωγο τη ρεσβερατρόλη. Η ρεσβερατρόλη βιοσυντίθεται σε ολόκληρο το σταφύλι ως απόκριση σε τραυματισμούς, μυκητιακές λοιμώξεις, μηχανικές καταπονήσεις ή υπεριώδη ακτινοβολία [15].

Οξέα

Τα κύρια οργανικά οξέα στα σταφύλια είναι το οξικό (0,1- 0,5 g/L), το μηλικό (2-7 g/L), το τρυγικό (2-6 g/L), το σουκινικό (0,5-1,0 g/L), το γαλακτικό (0-3 g/L) και το κιτρικό οξύ (0,1-0,7 g/L) [39]. Αντιπροσωπεύουν >95% του συνολικού όξινου περιεχομένου του κρασιού και είναι υπεύθυνα για τον προσδιορισμό του pH, το οποίο επηρεάζει το χρώμα, τη γεύση και τη σταθερότητα του. Οι ερυθροί οίνοι έχουν ιδανικές τιμές pH από 3,3 έως 3,5, ενώ οι λευκοί μεταξύ 3,0 και 3,3 [15].

Άλλες ενώσεις

Τα σταφύλια περιέχουν αζωτούχες ενώσεις με πιο σημαντικές τα αμινοξέα, παράγωγα των αμινών, που εντοπίζονται σε συγκεντρώσεις mg/L. Παίζουν ρόλο ως υπομονάδες στη βιοσύνθεση ενζύμων και είναι σημαντικές πηγές αζώτου και ενέργειας κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Στο κρασί βρίσκονται, επίσης, περίπου 50 ανόργανα συστατικά. Το πιο σημαντικό από αυτά θεωρείται το κάλιο, που υπάρχει σε συγκεντρώσεις των g/L και πιθανόν συμβάλλει στις βιοδραστικές ιδιότητες του

κρασιού. Επιπλέον, τα μεταλλικά στοιχεία παρά το γεγονός ότι αποτελούν δευτερεύοντα συστατικά στη συνολική σύνθεση του κρασιού, παίζουν ρόλο στο στάδιο της ζύμωσης και συμβάλλουν στη χημική σταθερότητα του κρασιού. Ακόμα, οι ενώσεις που περιέχουν θείο συμβάλλουν στην ποιότητα και τις αισθητηριακές ιδιότητες του κρασιού. Προέρχονται από τη ζύμωση ή μέσω της εξωτερικής προσθήκης διοξειδίου του θείου, μιας παγκοσμίως προστιθέμενης ένωσης στην παραγωγή οίνου. Τα ανόργανα θειώδη στα κρασιά βρίσκονται συνήθως σε συγκεντρώσεις mg/L, με μερικούς ζυμομύκητες να παράγουν 10-30 mg/L [15].

1.4 Διαδικασία οινοποίησης

1.4.1 Παραγωγή λευκού οίνου

Η διαδικασία της οινοποίησης πρέπει να ξεκινά το συντομότερο δυνατό μετά τη συγκομιδή. Τα σταφύλια μετά τη συλλογή τους αρχίζουν αμέσως να αλλοιώνονται και αρχίζει το φαινόμενο της οξείδωσης. Αν δεν υποστούν αμέσως επεξεργασία, τότε τα σταφύλια που έχουν παραμείνει ακέραια θα μετατραπούν σε σταφίδες, ενώ τα σταφύλια με σπασμένους φλοιούς θα υποστούν άμεσα ζύμωση που ενδεχομένως θα καταλήξει στην παραγωγή ξυδιού. Για την αποφυγή αυτών των ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων, ο οινοποιός πρέπει να διατηρεί τα σταφύλια δροσερά και καλυμμένα και ενδέχεται να χρησιμοποιεί θείο ως συντηρητικό ενόσω τα σταφύλια βρίσκονται καθ' οδόν προς τη μονάδα οινοποίησης. Το θείο είναι τοξικό έναντι στους ζυμομύκητες, αλλά και σε άλλα είδη μυκήτων και μικροοργανισμών οπότε εμποδίζει την όποια βιολογική ενεργότητα [31].

Πίνακας 1. Στάδια λευκής οινοποίησης.

Συγκομιδή			
Διαλογή		Σύνθλιψη – Αποβοστρύχωση	
Πάτημα			
Προσαρμογές Μούστου	Ξεκούραση Χυμού	Έλεγχος Θερμοκρασίας	
Ζύμωση			
Εμβολιασμός Ζυμομυκήτων		Μηλογαλακτική Ζύμωση	
Ωρίμανση			
Διαύγαση	Ωρίμανση σε βαρέλι	Ανάμειξη	Σταθεροποίηση υπό Ψύξη
Εμφιάλωση			

Διαλογή

Το πρώτο στάδιο μετά την παραλαβή των σταφυλιών στη μονάδα παραγωγής είναι ένα είδος επιτραπέζιας διαλογής όπου φύλλα, άγουρα και χαλασμένα φρούτα αφαιρούνται πριν την έναρξη της επεξεργασίας. Αυτό πραγματοποιείται συνήθως με το χέρι, αλλά μπορεί να είναι και μερικώς μηχανοποιημένο. Η αυστηρή διαλογή έχει ως αποτέλεσμα το υψηλό κόστος παραγωγής και εφαρμόζεται κυρίως στην παραγωγή κρασιών υψηλής ποιότητας [31].

Σύνθλιψη και Αποβοστρύχωση

Μετά τη διαλογή, τα σταφύλια μεταφέρονται σε σπαστήρες – διαχωριστήρες, οι οποίοι σπάνε τα σταφύλια για την απελευθέρωση του χυμού τους και τα διαχωρίζουν από τα στελέχη, με αποτέλεσμα να εξασφαλίζεται η συλλογή μόνο του χυμού μαζί με τους φλοιούς και τους σπόρους αλλά χωρίς τα στελέχη. Η σύνθλιψη διαφοροποιείται από το επόμενο στάδιο του πατήματος, διότι στην πρώτη οι φλοιοί των σταφυλιών σπάνε και απελευθερώνεται ο χυμός τους χωρίς όμως να εφαρμοστεί πίεση. Στην περίπτωση των λευκών οίνων αυτό το στάδιο παραλείπεται ή πραγματοποιείται σύντομα και με ιδιαίτερη προσοχή για να μην απελευθερωθούν στον χυμό τανίνες από τους φλοιούς και τους σπόρους, έτσι ώστε να αποφευχθούν ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά όπως στυπτικότητα, πικράδα και χρωματισμός του χυμού [31].

Πάτημα

Τα σταφύλια ανεξάρτητα από το αν έχουν υποστεί πρώτα σύνθλιψη ή όχι, ρίχνονται στα πιεστήρια όπου διαχωρίζονται τα στερεά από τον χυμό μέσω εφαρμογής πιέσεων για την εξαγωγή του μούστου. Μούστος ή γλεύκος χαρακτηρίζεται ο χυμός των σταφυλιών που προορίζεται για ζύμωση [31].

Προσαρμογές Μούστου

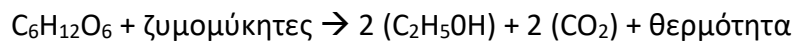
Σε ορισμένες περιπτώσεις πριν την έναρξη της ζύμωσης ο οινοποιός μπορεί να κρίνει ότι ο μούστος απαιτεί κάποιες αναπροσαρμογές. Για παράδειγμα σε περιοχές θερμών κλιμάτων, τα σταφύλια μπορεί να εμφανίζουν χαμηλό επίπεδο οξύτητας μη συμβατό με τα επίπεδα σακχάρων. Αυτό αντιμετωπίζεται με την άμεση προσθήκη οξέος στον μούστο (συνήθως προσθήκη τρυγικού οξέος), μια διαδικασία γνωστή ως οξίνιση, η οποία δεν επηρεάζει σημαντικά τη γεύση του κρασιού, αλλά επιφέρει ισορροπία. Σε περίπτωση αποξίνισης γίνεται χρήση καλίου ή διττανθρακικού ασβεστίου. Αντίθετα σε περιοχές ψυχρών κλιμάτων, τα σταφύλια μπορεί να μην φτάσουν στη βέλτιστη φάση ωρίμανσης και να μην σχηματίσουν επαρκή επίπεδα σακχάρων και έτσι, ο οινοποιός να χρειαστεί να προχωρήσει σε καπταλοποίηση, κατά την οποία γίνεται πολύ προσεκτική προσθήκη σακχάρων στον μούστο, έτσι ώστε να επιτευχθεί τελικά ένα αποδεκτό επίπεδο αλκοόλης.

«Ξεκούραση» Χυμού

Μετά το στάδιο του πατήματος, ο οινοποιός μπορεί να επιλέξει να αφήσει τον χυμό να «ξεκουραστεί» για μία ή δύο ημέρες πριν την έναρξη της ζύμωσης, μια διαδικασία γνωστή ως *débourbage*. Αυτό το βήμα πιθανόν ακολουθείται προκειμένου να αφομοιωθούν πλήρως οι αναπροσαρμογές του μούστου στο χυμό. Επίσης, δίνει χρόνο για την καθίζηση μερικών στερεών εκτός του διαλύματος, έτσι ώστε να σχηματιστεί λιγότερο ίζημα μετά τη ζύμωση ή δίνει χρόνο για επεξεργασία περισσότερων σταφυλιών που θα ενσωματωθούν στην ίδια παρτίδα για ζύμωση [31].

Ζύμωση

Η ζύμωση αποτελεί μια σύνθετη διαδικασία που εκτελούν οι ζυμομύκητες του μούστου και περιλαμβάνει περίπου 30 βιοχημικές αντιδράσεις με την καθεμία να καταλύεται από ένα ειδικό ένζυμο. Συγκεκριμένα, οι ζυμομύκητες μεταβολίζουν τα μόρια σακχάρων ($C_6H_{12}O_6$) για να απελευθερώσουν ενέργεια, μέρος της οποίας εκπέμπεται ως θερμότητα. Τα μικρότερα μόρια που προκύπτουν μετά τη διάσπαση των σακχάρων είναι η αιθανόλη (C_2H_5OH) και το διοξείδιο του άνθρακα, με το τελευταίο να διαχέεται κυρίως στον αέρα. Έτσι, ο μούστος έχει πλέον μετατραπεί σε κρασί. Ο βασικός χημικός τύπος της ζύμωσης είναι:



Επειδή στην πραγματικότητα υπάρχουν πολλά ενδιάμεσα βήματα που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, συνήθως μόνο το 90% περίπου των σακχάρων των σταφυλιών μετατρέπονται πλήρως σε αιθανόλη και CO_2 πριν το πέρας της ζύμωσης. Το υπόλοιπο 10% συνίσταται από διάφορα ενδιάμεσα προϊόντα όπως γλυκερόλη, σουκινικό οξύ, οξικό οξύ, γαλακτικό οξύ, ακεταλδεΐδη, αιθανικό αιθυλεστέρα και άλλες αλκοόλες όπως μεθανόλη.

Το κύριο στέλεχος ζυμομύκητα που χρησιμοποιείται στην οινοπαραγωγή είναι ο *Saccharomyces cerevisiae*. Διαφορετικά στελέχη που μπορεί να επιλεγθούν επιφέρουν και διαφορετικά αποτελέσματα στο τελικό προϊόν που σχετίζονται με τη γεύση, το άρωμα, την ταχύτητα ζύμωσης, την περιεκτικότητα σε αιθανόλη, δημιουργώντας έτσι μια ποικιλία τύπων κρασιού. Μόλις αρχίσουν να πολλαπλασιάζονται οι ζυμομύκητες, ο μούστος θα αρχίσει να φουσκώνει και να αφρίζει με παράλληλη απελευθέρωση διοξειδίου του άνθρακα και να αυξάνει θερμοκρασία λόγω της θερμότητας που παράγεται από την αντίδραση. Η θερμοκρασία αποτελεί κρίσιμο παράγοντα αυτού του σταδίου. Χαμηλές θερμοκρασίες μεταξύ 10–16°C θεωρούνται καλύτερες για τη διατήρηση των αρωμάτων που είναι βασικά χαρακτηριστικά πολλών λευκών κρασιών. Καθώς η θερμοκρασία αυξάνεται, οι ζυμομύκητες γίνονται όλο και πιο ενεργοί και δρουν με ταχύτερο ρυθμό, οδηγώντας σε περαιτέρω άνοδο της θερμοκρασίας. Σε αυξημένες θερμοκρασίες, τα αρώματα των λευκών σταφυλιών μπορούν να εξαφανιστούν,

δίνοντας στο κρασί έναν πιο ουδέτερο χαρακτήρα. Εάν η ζύμωση προχωρήσει σε ακόμα μεγαλύτερο βαθμό και η θερμοκρασία του γλεύκους ξεπεράσει τους 38°C, οι ζυμομύκητες πιθανότατα θα πεθάνουν και η ζύμωση θα σταματήσει πρόωρα. Αυτή είναι και η πιο συνηθισμένη αιτία μιας «μπλοκαρισμένης» ζύμωσης, η οποία είναι πολύ δύσκολο να αντιστραφεί. Γι' αυτό ο έλεγχος της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια της ζύμωσης είναι ένα από τα πιο σημαντικά καθήκοντα ενός οινοπαραγωγού.

Με τον κατάλληλο έλεγχο της θερμοκρασίας και έναν υγιή πληθυσμό ζυμομυκήτων, η ζύμωση μπορεί να συνεχιστεί μέχρι τα σάκχαρα να εξαντληθούν. Αυτό μπορεί να διαρκέσει από πολλές ημέρες έως πολλές εβδομάδες. Η ζύμωση μπορεί, επίσης, να λάβει τέλος εάν η περιεκτικότητα σε αιθανόλη ξεπεράσει περίπου το 14% όπου οι ζυμομύκητες δεν είναι πια σε θέση να επιβιώσουν και σε αυτήν την περίπτωση μπορεί να εντοπιστούν υπολείμματα σακχάρων. Μια άλλη πιθανότητα είναι ο ίδιος ο οινοποιός να σταματήσει σκόπιμα τη ζύμωση, ενώ υπάρχουν ακόμα κατάλοιπα σακχάρων σε περιπτώσεις παραγωγής ξηρών ή ημίξηρων λευκών οίνων. Ενώ κάποιοι λευκοί οίνοι έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ της κλίμακας 7% abv, οι περισσότεροι έχουν περιεκτικότητα από 12% έως 14% [31].

Μηλογαλακτική ζύμωση

Η μηλογαλακτική ζύμωση, που συχνά καλείται ως «δευτερογενής ζύμωση», στην πραγματικότητα είναι μια διαδικασία μετατροπής που μπορεί να λάβει χώρα ταυτόχρονα ή μετά την αλκοολική ζύμωση. Καταλύεται από ένα συγκεκριμένο στέλεχος γαλακτοβάκιλλων που αποσυνθέτουν το μηλικό οξύ και το μετατρέπουν σε γαλακτικό, με αποτέλεσμα τα ξινά χαρακτηριστικά πράσινου μήλου του μηλικού οξέος να αντικατασταθούν από τα πιο ήπια και κρεμώδη χαρακτηριστικά του γαλακτικού οξέος. Η αντίδραση δεν ξεκινά αυθόρμητα εκτός αν το υπό επεξεργασία κρασί υποστεί αλκοολική ζύμωση ή αποθηκευτεί σε βαρέλια που προγενέστερα είχαν στεγάσει γαλακτοβάκιλλους. Ωστόσο, ένας τρόπος παρεμπόδισης είναι η προσθήκη SO₂. Παραπροϊόν της αντίδρασης είναι ένας εστέρας γνωστός ως διακετύλιο, που συχνά προσφέρει ένα «βουτυρώδες» άρωμα στα κρασιά. Για τα περισσότερα λευκά κρασιά που χαρακτηρίζονται από ελαφρύ σώμα και τραγανή οξύτητα το στάδιο αυτό παραλείπεται.

Προσθήκη θείου

Μετά την ολοκλήρωση της ζύμωσης, η επιπλέον προσθήκη θείου μπορεί να είναι απαραίτητη για να μειωθεί η πιθανότητα μικροβιακής αλλοίωσης ή αμαύρωσης του τελικού κρασιού. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό αν υπάρχουν κατάλοιπα σακχάρων στο κρασί, τα οποία θα μπορούσαν ενδεχομένως να οδηγήσουν σε ανεπιθύμητη ζύμωση μετά την εμφιάλωση.

Διαύγαση

Μετά τη ζύμωση, το κρασί έχει θολή εμφάνιση λόγω των ζυμομυκήτων και άλλων στερεών που παρέμειναν στο εσωτερικό του και είτε βρίσκονται αιωρούμενα στο διάλυμα είτε λόγω της βαρύτητας τους έχουν καθιζάνει στον πάτο της δεξαμενής. Για την αφαίρεση αυτών των υπολειμμάτων πριν από την εμφιάλωση ακολουθούνται ορισμένες μέθοδοι: μετάγγιση, φινίρισμα, φιλτράρισμα και φυγοκέντρηση.

Μετάγγιση

Η μετάγγιση είναι η πιο βασική μέθοδος διαύγασης κατά την οποία το κρασί διαχωρίζεται προσεκτικά από το ίζημα και μεταφέρεται σε μία νέα δεξαμενή. Αυτή η διαδικασία μπορεί να πραγματοποιηθεί περισσότερες από μία φορές, οδηγώντας σε πιο φωτεινά και καθαρά κρασιά. Αν και μέσω της μετάγγισης το μεγαλύτερο μέρος των στερεών απομακρύνεται, μερικά μικροσκοπικά σωματίδια, όπως αλυσίδες τανινών ή πρωτεΐνες, μπορεί να παραμείνουν αναπόφευκτα στο γλεύκος και να απαιτείται περαιτέρω διαύγαση [31].

Φιλτράρισμα

Το κρασί διηθείται μέσω ενός φίλτρου με πολύ λεπτά ανοίγματα για να παγιδευτούν τυχόν σωματίδια. Με τη νέα τεχνολογία τα φίλτρα μπορούν να εξαλείψουν παράγοντες στο μέγεθος βακτηρίων, διαδικασία γνωστή ως αποστειρωμένο φιλτράρισμα, που αφαιρεί όλα τα μικρόβια (ζυμομύκητες, βακτηρίδια) που θα μπορούσαν να προκαλέσουν αλλοίωση αργότερα. Το φιλτράρισμα πρέπει να παρακολουθείται προσεκτικά, καθώς συνδέεται με τον κίνδυνο μείωσης ορισμένων επιθυμητών γευστικών μορίων μαζί με τα ανεπιθύμητα σωματίδια.

Ωρίμανση σε βαρέλια

Η ωρίμανση του κρασιού σε δρύινα βαρέλια επιτρέπει μια αργή οξείδωση που αλλάζει το κρασί και προσθέτει πολυπλοκότητα. Εάν το ξύλο είναι νέο, μπορεί επίσης να προσθέσει πινελιές βανίλιας, δρυός, ξύλου, καρύδας, φρυγανισμένου ψωμιού ή άλλα αρώματα στο κρασί. Τέτοιοι μετασχηματισμοί δεν είναι ούτε απαραίτητοι ούτε ωφέλιμοι για την πλειονότητα των ελαφρών λευκών οίνων εκτός από κάποια βαριά με πλήρες σώμα λευκά.

Σταθεροποίηση υπό Ψύξη

Οι λευκοί οίνοι τείνουν να έχουν αρκετά υψηλή περιεκτικότητα σε τρυγικό οξύ, το οποίο δεν είναι κάτι που μπορεί ή πρέπει να φιλτραριστεί κατά τη διαύγαση. Ωστόσο, όταν το κρασί κρυώσει, το τρυγικό οξύ καταβυθίζεται με τη μορφή κρυστάλλων. Ενώ τα τρυγικά άλατα δεν είναι επιβλαβή, πολλοί καταναλωτές τα θεωρούν ελάττωμα. Προκειμένου να αποφευχθεί ο σχηματισμός τους, πολλά λευκά κρασιά σταθεροποιούνται υπό ψύξη πριν από την εμφιάλωση σε θερμοκρασία περίπου -4°C

για μία έως τρεις εβδομάδες και έπειτα, ακολουθεί μετάγγιση για την απομάκρυνση των ιζημάτων.

Εμφιάλωση

Τα τυπικά βήματα εμφιάλωσης που ακολουθούνται είναι η παραλαβή φιαλών κενές στο ένα άκρο, το γέμισμα με κρασί, το σφράγισμα με φελλό, η προσθήκη κάψουλας πάνω από το λαιμό κάθε φιάλης, η προσθήκη ετικέτας και το πακετάρισμα. Κάθε ένα από αυτά τα βήματα είναι είτε αυτοματοποιημένο είτε γίνεται δια χειρός [31].

1.4.2. Παραγωγή ερυθρού οίνου

Με τη διαφορά ορισμένων σταδίων που προορίζονται να συλλάβουν τη γεύση και το χρώμα των ερυθρών σταφυλιών, η διαδικασία παραγωγής ερυθρού οίνου ακολουθεί την ίδια πολιτική με τα λευκά κρασιά.

Πίνακας 2. Στάδια ερυθρής οινοποίησης.

Συγκομιδή				
Διαλογή		Σύνθλιψη – Αποβοστρύχωση		Προσαρμογές Μούστου
Ζύμωση				
Εμβολιασμός Ζυμομυκήτων	Έλεγχος Θερμοκρασίας	Διαβροχή	Εκτεταμένη Διαβροχή	Μηλογαλακτική Ζύμωση
Πάτημα				
Ωρίμανση				
Διαύγαση		Ωρίμανση σε βαρέλι		Ανάμειξη
Εμφιάλωση				
Παλαίωση				

Σύνθλιψη και Αποβοστρύχωση

Σε μερικές περιπτώσεις ερυθρών οίνων, τα στελέχη ενδέχεται να προστεθούν πίσω στον μούστο μετά τον απορραγισμό για την ενίσχυση των τανινών, της γεύσης και της πολυπλοκότητας [31].

Προσαρμογές Μούστου

Στις αναπροσαρμογές του μούστου που μπορεί να πραγματοποιήσει ο οινοποιός για τα ερυθρά κρασιά προστίθεται και η επιλογή ενίσχυσης με τανίνες σε περίπτωση ανεπάρκειας των σταφυλιών [31].

Διαβροχή

Η πιο σημαντική διαφορά μεταξύ λευκής και ερυθρής οινοποίησης είναι η ανάγκη εξαγωγής των φαινολικών στοιχείων από τους φλοιούς των κόκκινων σταφυλιών, καθώς ο χυμός τους είναι εξίσου άχρωμος όπως ο χυμός των λευκών σταφυλιών. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, καθώς οι φλοιοί παραμένουν σε επαφή με τον χυμό, κόκκινες και μπλε χρωστικές μαζί με τανίνες και αρωματικές ενώσεις εξάγονται από τους φλοιούς και χρωματίζουν τον ολοένα και πιο σκούρο χυμό. Αυτή η περίοδος επαφής μεταξύ των φλοιών και του μούστου ονομάζεται διαβροχή. Μπορεί να διαρκέσει από λίγες ημέρες έως μερικές εβδομάδες ή ακόμα και περισσότερο, και ξεκινά πριν ή κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και ενδέχεται να συνεχίσει και μεταγενέστερα (στάδιο εκτεταμένης διαβροχής). Η χρονική έκταση της διαβροχής καθορίζεται από τον οινοποιό με βάση τον τύπο κρασιού που επιδιώκει να δημιουργήσει και την ποικιλία του σταφυλιού. Μεγαλύτερες περιόδους διαβροχής παράγουν κρασιά με βαθύ σκούρο χρώμα, υψηλή περιεκτικότητα σε τανίνες, τα οποία απαιτούν παλαίωση μετά την εμφιάλωση, ενώ μικρότερες περιόδους διαβροχής παράγουν πιο μαλακά και προσιτά κρασιά. Εάν ο οινοποιός επιλέξει να ξεκινήσει τη διαβροχή πριν από τη ζύμωση, τότε ο μούστος ψύχεται σε θερμοκρασία μικρότερη από 13°C προκειμένου να καθυστερήσει η ζύμωση [31].

Ζύμωση

Καθ' όλη τη διάρκεια της ζύμωσης οι φλοιοί των σταφυλιών βρίσκονται πάντα σε επαφή με τον μούστο για να εξαχθεί η κατάλληλη ποσότητα φαινολικών ενώσεων. Οι ζυμώσεις ερυθρών οίνων συνήθως διεξάγονται σε υψηλότερες θερμοκρασίες από αυτές των λευκών, εν μέρει επειδή τα ελαφριά φρουτώδη αρώματα που ενισχύονται από μια δροσερή ζύμωση είναι λιγότερο σημαντικά χαρακτηριστικά. Οι πιο θερμές θερμοκρασίες ζύμωσης επιτρέπουν την αυξημένη εξαγωγή φαινολικών ενώσεων, τα οποία δημιουργούν μια καλή βάση για έντονα ερυθρά κρασιά. Ένας οινοποιός μπορεί να επιλέξει μια μέτρια θερμοκρασία μεταξύ 16°C και 21°C για την παραγωγή ενός πιο ελαφρύ, αρωματικού τύπου κρασιού ή μια πιο υψηλή θερμοκρασία ζύμωσης μεταξύ 30°C και 35°C για ένα πιο τανικό τύπο. Στις υψηλότερες θερμοκρασίες, τα σάκχαρα μπορούν να μετατραπούν πλήρως σε αιθανόλη μέσα σε μια μόλις εβδομάδα [31].

Πάτημα

Καθώς το κρασί ξεκουράζεται μετά τη ζύμωση, μια σημαντική ποσότητα στερεών μπορεί να συσσωρευτεί στο κάτω μέρος της δεξαμενής. Αυτά τα στερεά περιλαμβάνουν κυρίως τους φλοιούς των σταφυλιών και τα νεκρά κύτταρα ζυμομυκήτων. Όταν κριθεί ότι το κρασί έχει απορροφήσει αρκετά φαινολικά από τα στερεά, τότε το υγρό τμήμα μεταγγίζεται σε διαφορετική δεξαμενή ή απευθείας σε βαρέλια. Τα κατάλοιπα στερεών, στη συνέχεια, πιέζονται για την απελευθέρωση της όποιας υπόλοιπης ποσότητας κρασιού έχει απομείνει. Το κρασί που συλλέγεται μετά

την πίεση είναι πολύ πλούσιο σε τανίνες και χρώμα και μπορεί είτε να προστεθεί στο κρασί που ήδη μεταγγίστηκε είτε να χρησιμοποιηθεί σε ξεχωριστό μείγμα.

Διαύγαση

Πραγματοποιούνται μία ή περισσότερες μεταγγίσεις για να αφαιρεθούν επιπλέον ιζήματα και ακολουθεί φινίρισμα και φιλτράρισμα. Ωστόσο, αυτές οι πρακτικές δεν γίνονται με την ίδια συχνότητα όπως συμβαίνει για τους λευκούς οίνους, καθώς αναπόφευκτα αφαιρείται και μέρος των φαινολικών στοιχείων.

Ωρίμανση σε δρύινα βαρέλια

Η ωρίμανση σε βαρέλια είναι πολύ ωφέλιμη για τα κόκκινα κρασιά, ιδιαίτερα εκείνα που είναι πλούσια σε τανίνες. Η αργή έγχυση οξυγόνου στο κρασί μέσω του ξύλου βοηθά τα μόρια τανίνης να πολυμεριστούν και αυτά τα μακρομερή θεωρούνται πιο ευχάριστα, μαλακά και πλούσια σε γεύση. Όταν επέλθει σωστή ισορροπία ανάμεσα στα φρούτα και τα άλλα χαρακτηριστικά του κρασιού, η ωρίμανση σε δρυ προσθέτει ουσιαστική πολυπλοκότητα στο τελικό προϊόν [31].

1.4.2.1 Καρβονική διαβροχή

Πρόκειται για μια εναλλακτική μέθοδο ερυθρής οινοποίησης που περιλαμβάνει έναν τύπο ενζυμικής ζύμωσης, ο οποίος δεν απαιτεί ούτε ζυμομύκητες ούτε βακτήρια, αλλά συμβαίνει σε ακέραια, αδιάσπαστα σταφύλια απουσία οξυγόνου. Κατά την έναρξη της διαδικασίας, τα σταφύλια τοποθετούνται προσεκτικά σε μια κλειστή δεξαμενή ζύμωσης και καλύπτονται με διοξείδιο του άνθρακα. Σε αυτό το περιβάλλον, ένζυμα από το εσωτερικό των σταφυλιών αρχίζουν τη διάσπαση των σακχάρων και την παραγωγή αιθανόλης εντός των καρπών, αλλά και άλλων ενώσεων που μπορεί να επηρεάσουν τη γεύση του κρασιού. Η πλήρης παραγωγή κρασιού αποκλειστικά μόνο μέσω καρβονικής διαβροχής αποτελεί σπάνια περίπτωση, καθώς η όποια θραύση στα σταφύλια οδηγεί σε ζύμωση. Αντ' αυτού, εφαρμόζεται συχνά στα πρώτα στάδια οινοποίησης και ακολουθείται από την κανονική αλκοολική ζύμωση. Με αυτή τη μέθοδο παράγονται ερυθροί οίνοι χαμηλοί σε τανίνες, με ανοιχτό χρώμα και αρώματα και γεύσεις τροπικών φρούτων και κόκκινων μούρων [31].

1.5 Ιστορική αναδρομή ζύθου

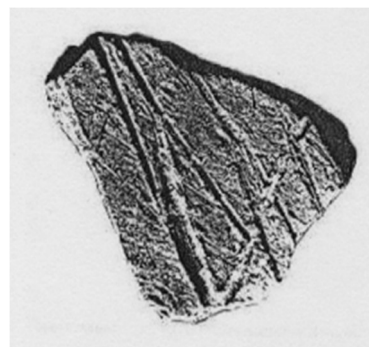
Με το πέρας της Εποχής των Παγετώνων και την άφιξη θερμών κλιμάτων, ο προγονικός τρόπος ζωής με επίκεντρο το κυνήγι άρχισε να εγκαταλείπεται. Μέσα από περιπλανήσεις σε γύρω τοπία, οι αρχαίοι κυνηγοί-τροφοσυλλέκτες συναντούσαν περιστασιακά τη φυσική ζύμωση φρούτων, μελιού και αλκοόλ, χωρίς περαιτέρω τεχνογνωσία για ζύμωση σημαντικών ποσοτήτων σιτηρών [7].

1.5.1 Μεσοποταμία

Τα πρώτα χημικά ίχνη ζύθου από κριθάρι ανακαλύφθηκαν με τη μορφή εναποθέσεων οξαλικού ασβεστίου στην περιοχή Godin Tepe των Σουμέριων στα όρη Ζάγκρος και χρονολογούνται γύρω στη 3^η χιλιετία π. Χ.

Η πρώτη λογοτεχνική αναφορά για τη μύρα στο έπος του Γκιλγκαμές (2^η χιλιετία π.Χ.) χαρακτηρίζει το ρόφημα ως μια πολιτιστική επιρροή που εξημέρωσε τον άγριο Ενκίντου και τον κατέστησε έτοιμο να εισέλθει στην πολιτισμένη κοινωνία του Ουρούκ. Η μύρα και το ψωμί αποτελούσαν τα πιο εμβληματικά στοιχεία του πολιτισμού των Σουμέριων. Η ύπαρξη καθαυτή της πολύ ξακουστής μητρόπολης του Ουρούκ έγινε εφικτή από την παραγωγικότητα της απέραντης και εξαιρετικά γόνιμης για την ανάπτυξη δημητριακών πεδιάδας που εκτεινόταν μεταξύ των ποταμών Τίγρη και Ευφράτη στη Μεσοποταμία. Η αυτοκρατορία των Σουμέριων, όπως και των Βαβυλώνιων που ακολούθησε, ήταν χτισμένη χάρη στα σιτηρά, και στη μύρα και το ψωμί που έφτιαχναν από αυτά [7].

Για τους Σουμέριους η διαδικασία της ζυθοποιίας ήταν τόσο σημαντική που επικαλέστηκαν μία θεότητα ως υπεύθυνη αυτής, την Ninkasi. Ο ξακουστός Ύμνος στην Ninkasi που βρέθηκε καταγεγραμμένος σε πλήλινες πλάκες στην περιοχή της Μεσοποταμίας δεν ήταν μόνο ένα άσμα προς τιμήν της θεάς, αλλά αποτελούσε και τη συνταγή παρασκευής της μύρας με βάση ένα θρυμματισμένο ψωμί από κριθάρι, το *barrig*, που πιθανότατα εκτελούσαν οι ιέρειες της. Η μύρα της Ninkasi πιστεύεται ότι αποτελούσε ένα παχύρευστο και μη διαυγές προϊόν μικρής διάρκειας, κάτι που πιθανόν εξηγεί γιατί ήταν σύνηθες να



Εικόνα 7. Θραύσμα από δοχείο με υπολείμματα ζύθου από την περιοχή Godin Tepe. Πηγή. [39]



Εικόνα 8. Στο πάνω αριστερά τμήμα της πλάκας απεικονίζεται το σύμβολο των Σουμέριων για τη μύρα. Πηγή. [16]

καταναλώνεται άμεσα από ένα μεγάλο κοινό δοχείο, συχνά από το ίδιο δοχείο της ζύμωσης μέσω της χρήσης καλαμιών.



Εικόνα 9. Ο Ύμνος στη Ninkasi. Πηγή.
[21]

Λόγω των εξαιρετικά σπάνιων αξιόπιστων πηγών καθαρού πόσιμου νερού στην πεδιάδα της Μεσοποταμίας, η ασφαλέστερη επιλογή κάποιου που δεν είχε την πολυτέλεια να προμηθευτεί κρασί ήταν να πιει τη μύρα της Ninkasi. Η αξία της μύρας για τους Σουμέριους προχώρησε σε τέτοιο βαθμό που αποτέλεσε ένα σημαντικό μέσο ένωσης των διαφόρων κοινωνικών στρωμάτων, αλλά και διανομής πλούτου στην κοινωνία της

Μεσοποταμίας. Οι φόροι συχνά πληρώνονταν με τη μορφή σιτηρών που παρουσιάζονταν στον ναό. Έτσι, οι ιέρειες της Ninkasi μετέτρεπαν αυτά τα σιτηρά σε μύρα και ψωμί, τα οποία έπειτα μοίραζαν στον πληθυσμό ως πληρωμή για παρεχόμενες υπηρεσίες. Πέραν αυτής της συνταγής, οι Σουμέριοι δημιούργησαν τουλάχιστον είκοσι διαφορετικούς τύπους μύρας: λευκή, κόκκινη, μαύρη, γλυκιά, «ανώτερης ποιότητας» και άλλες, συχνά αρωματισμένες με εξωτικά αρωματικά [7].

1.5.2 Αίγυπτος

Στοιχεία για την παραγωγή και κατανάλωση μύρας στην Αίγυπτο χρονολογούνται πίσω στην Προδυναστική Εποχή (5500-3100 π.Χ.). Ιζήματα μύρας βρέθηκαν σε δοχεία σε κοιμητήρια στο Abadiyeh, στην ανατολική όχθη του Νείλου στην Άνω Αίγυπτο, και στη Naqada, στη δυτική όχθη του Νείλου, η οποία αποτελούσε μια από τις μεγαλύτερες τοποθεσίες στην Αρχαία Αίγυπτο. Από γραπτά αρχεία της εποχής (3100-2686 π.Χ.) έγινε γνωστό ότι η μύρα ήταν ιδιαίτερα σημαντική και αποτελούσε ένα καθιερωμένο χαρακτηριστικό της κουλτούρας αυτής της περιόδου. Σύμφωνα με τον μύθο ο θεός Όσιρις έδωσε στην Αίγυπτο το δώρο της μύρας και την προσέφερε σε χώρες όπου το κρασί ήταν άγνωστο. Οι αρχαίοι Αιγύπτιοι παρήγαγαν, επίσης, και κρασί, αλλά φαίνεται ότι η αμπελουργία και η οινοποίηση μεγάλης κλίμακας ήταν κυρίως αναπτυγμένες σε ορισμένες μόνο περιοχές της χώρας, όπως στο Δέλτα του Νείλου και στις οάσεις της δυτικής ερήμου [17].

Η αιγυπτιακή μύρα ήταν πηχτή, θρεπτική και συχνά αρκετά γλυκιά, ιδιαίτερα όταν ήταν αρωματισμένη με χουρμάδες και μέλι [7]. Σύμφωνα με μία αιγυπτιακή συνταγή που έχει διατηρηθεί στα έργα του Έλληνα αλχημιστή Ζώσιμου του Πανοπολίτη (4^{ος} αιώνας π.Χ.), το κριθάρι μουσκευόταν, βλάσταινε και στη συνέχεια μετατρέποταν σε ψωμί, το οποίο θρυμματιζόταν σε νερό για τη δημιουργία πολτού. Ακολουθούσε η ζύμωση και τέλος, το φιλτράρισμα της μύρας που ήταν γνωστή με το όνομα bouza [30]. Επηρεασμένοι από τους Σουμέριους, οι αρχαίοι Αιγύπτιοι ανέπτυξαν μία πιο

εξελιγμένη διαδικασία ζύμωσης και απένειμαν τη μύρα στη δική τους θεότητα, την Νέφθους. Στις πρώιμες αιγυπτιακές ιατρικές συνταγές η μύρα εμφανίστηκε ως συστατικό με θεραπευτικά οφέλη για μια ολόκληρη σειρά διαφορετικών παθήσεων και επιπλέον, αποτελούσε απαραίτητο αγαθό για τη συνοδεία των νεκρών στη μεταθανάτια ζωή [7].



Εικόνα 10. Αναπαράσταση της παρασκευής ψωμιού και μύρας από τον τάφο της Ty στη Νεκρόπολη της Σακκάρα. Πηγή. [17]

Η κατανάλωση της μύρας ήταν καθημερινή ως ένα εξαιρετικά αναζωογονητικό ρόφημα που λειτουργούσε ως υποκατάστατο του νερού, καθώς θεωρούνταν πιο ασφαλές, γι' αυτό η περιεκτικότητά της σε αλκοόλ ήταν μικρή και ως εκ τούτου είχε πολύ σύντομη διάρκεια διατήρησης. Όλα τα κοινωνικά στρώματα έπιναν μύρα από τους Φαραώ και κάτω και αποτελούσε σημαντικό στοιχείο των θρησκευτικών τελετών. Η παραγωγή και η κατανομή των σιτηρών για ζυθοποιία και αρτοποιία στήριζαν την αιγυπτιακή οικονομία και την πολιτική οργάνωση της αρχαίας κοινωνίας [17].

1.5.3 Ελλάδα

Τα πρώτα αρχαιοχημικά ευρήματα ζύθου προέρχονται από τον πρώιμο μινωικό οικισμό του Μύρτου στη νότια Κρήτη, όπου δύο δοχεία αποθήκευσης, που χρονολογούνται περίπου στο 2200 π.Χ., βρέθηκαν να περιέχουν ένα προϊόν κριθαριού. Τα αποδεικτικά στοιχεία γίνονται ισχυρότερα στους μεσαίους μινωικούς χρόνους, καθώς στην Αποδούλου, στο Ρέθυμνο της Κρήτης, ένα τρίποδο μαγειρικό δοχείο που χρονολογείται γύρω στο 1700 π.Χ. βρέθηκε να περιέχει φωσφορικό οξύ και οξαλικό διμεθυλεστέρα, τα οποία πράγματι παράγονται κατά την παρασκευή μύρας [30].



(αριστερά) Εικόνα 11. Πίθος με υπολείμματα ζύθου και οίνου, Μύρτος 2200 π.Χ. Πηγή. [50]

(δεξιά) Εικόνα 12. Τρίποδο μαγειρικό δοχείο με υπολείμματα ζύθου και οίνου, Αποδούλου 1700 π.Χ. Πηγή. [50]

Οι πρώιμοι Έλληνες δεν έπιναν μύρα και μάλιστα φαίνεται πως είχαν συνδέσει την κατανάλωση αυτής με τους βάρβαρους γείτονές τους στα βόρεια, τους κατοίκους της Θράκης και της Παιονίας, όταν προχώρησαν για πρώτη φορά τον 7^ο αιώνα π.Χ. σε αποικιστικά ταξίδια στο Βορρά [30]. Έλληνες και Ρωμαίοι ταξιδιώτες στην Αίγυπτο όντας από πολιτισμούς που καλλιεργούσαν σταφύλια δεν μπορούσαν να κατανοήσουν τον πολιτισμό της μύρας και τη συνέδεαν με τη φτώχεια, ενώ το κρασί με τον πλούτο. Γνώριζαν ότι τόσο στην Αίγυπτο όσο και στη Μεσοποταμία, τα σταφύλια ήταν το εμπόρευμα με το υψηλότερο κόστος (5-10 φορές πιο ακριβό από το κριθάρι) και το κρασί προοριζόταν κυρίως για την ελίτ κοινωνία και για ειδικές περιστάσεις [17].

Στις αρχές του 5^{ου} αιώνα π.Χ. σημειώθηκαν οι πρώτες «επιθέσεις» στη μύρα σε έργα αρχαίων Αθηναίων τραγωδών όπως στην Λυκούργεια τετραλογία του Αισχύλου και στον Τριπτόλεμο του Σοφοκλή, οι οποίοι την αντιμετώπιζαν ως ένα μη ανδροπρεπές ρόφημα που δεν άρμοζε ούτε στους χοίρους. Ενώ οι Έλληνες έτρωγαν τα δημητριακά καθαυτά σε μορφή ψωμιού ή χυλού, πιθανώς υπήρξε κάτι στην επεξεργασία των δημητριακών για την παρασκευή της μύρας που θεωρούσαν ότι παράγει αρνητικές ιδιότητες.

Στην Ιπποκρατική Συλλογή στα κείμενα για τη διατροφή γίνεται λόγος για τέσσερα βασικά χαρακτηριστικά των ανθρώπων και των τροφίμων: τη θερμότητα, τη ψυχρότητα, τη ξηρότητα και την υγρασία. Το κρασί θεωρείται συνήθως ζεστό και ξηρό όπως και το αρσενικό φύλο εκ φύσεως σε σχέση με το θηλυκό, ενώ τα δημητριακά κρύα και υγρά. Έτσι, το κρασί συνδεόταν με την αρρενωπότητα και την ανδροπρέπεια, ενώ η μύρα με την θηλυπρέπεια. Ο Αριστοτέλης, ο οποίος αποδέχτηκε αυτή τη θεωρία, στο έργο του «Συμπόσιον ή περί μέθης» πρότεινε ότι υπάρχουν δύο κατηγορίες ναρκωτικών ουσιών, εκείνων που προκαλούν βαριά κεφαλαλγία και εκείνων που προκαλούν αποχαύνωση και η μόνη αποχαυνωτική ουσία που είχε κατονομάσει ήταν η μύρα [29]. Στα μεταγενέστερα χρόνια, Έλληνες και Ρωμαίοι ιατροί υποστήριζαν ότι η μύρα επιδρούσε αρνητικά για το σώμα και την ανθρώπινη υγεία, καθώς αποτελούσε ένα προϊόν από αποδομημένα υλικά. Σύμφωνα με τον Διοσκουρίδη (1^{ος} αιώνας μ.Χ.) λειτουργούσε ως διουρητικό που ήταν βλαβερό για τους νεφρούς και τους τένοντες και προκαλούσε φούσκωμα, πονοκεφάλους, κακή διάθεση και ελεφαντίαση [34].

Η ισχυρή προκατάληψη έναντι της μύρας που επικράτησε σε όλη την ελληνορωμαϊκή αρχαιότητα βασίστηκε σε ψευδοεπιστημονικές πεποιθήσεις της εποχής [30] και στη μη κατανόηση της ζυθοποιίας, εφόσον αποτελούσε μια διαδικασία πιο σύνθετη σε αντίθεση με την οινοποίηση. Η πιο ωφέλιμη ιδιότητά της που μπόρεσαν να καταγράψουν οι κλασικοί συγγραφείς ήταν η ικανότητά της να μαλακώνει τον ελεφαντόδοντο και να τον καθιστά πιο εύκαμπτο. Γι' αυτό σημαντικές ποσότητες μύρας εισάγονταν στα λιμάνια της Μεσογείου για τους κοσμηματοτεχνίτες [17].

1.6 Τύποι ζύθου

Η κύρια ταξινόμηση της μύρας γίνεται με βάση τη διαδικασία ζύμωσης που ακολουθείται. Έτσι, προκύπτουν δύο μεγάλες κατηγορίες, ο τύπος lager και ο τύπος ale. Οι μύρες τύπου ale παράγονται με υψηλή ζύμωση σε θερμοκρασίες μεταξύ 16 και 24 °C από το στέλεχος *Saccharomyces cerevisiae*. Μετέπειτα τα κύτταρα ζυμομυκήτων ανέρχονται στην επιφάνεια του μέσου ζύμωσης, σχηματίζοντας ένα παχύ φιλμ που γενικά δεν αφαιρείται πλήρως. Οι μύρες τύπου lager, παράγονται με χαμηλή ζύμωση από το στέλεχος *Saccharomyces pastorianus* σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 6 έως 15 °C [18,19,26,36,38,41].

Οι μύρες τύπου ale παρασκευάζονται από τους αρχαίους χρόνους (6000 π.Χ.), ενώ αντίθετα οι μύρες τύπου lager εμφανίστηκαν μεταγενέστερα κατά τον Μεσαίωνα και θεωρείται ότι η παρασκευή τους καθιερώθηκε παράλληλα με έναν βαυαρικό νόμο που απαγόρευε τη ζυθοποίηση κατά τους καλοκαιρινούς μήνες. Αργότερα, στα τέλη του 1800 ταυτόχρονα με την έλευση της ψύξης κέρδισαν σημαντική δημοσιότητα, καθώς έγινε εφικτή η παρασκευή τους και κατά τη διάρκεια υψηλών θερμοκρασιών. Το όνομά τους προέκυψε από τη γερμανική λέξη lager που σημαίνει αποθήκη, λόγω της πιο εκτεταμένης χρονικά ωρίμανσης και άρα, αποθήκευσης που απαιτούν [41].

1.7 Σύσταση ζύθου

Τα βασικά συστατικά του ζύθου είναι το κριθάρι, ο λυκίσκος, οι ζυμομύκητες και το νερό (>90%). Η αναλογία αυτών των συστατικών επιλέγεται με βάση τον τύπο ζύθου. Το κριθάρι και ο λυκίσκος περιέχουν και τα δύο σημαντικές ποσότητες φυτοχημικών και πολυφαινολών που έχουν αποδειχθεί ότι συμβάλλουν στην υγεία. Ενώ μερικά από τα φυτοχημικά που περιέχονται στα συστατικά του ζύθου μπορούν να αποικοδομηθούν ή να τροποποιηθούν κατά τη διάρκεια της ζυθοποίησης, μελέτες έχουν δείξει ότι σημαντικές ποσότητες πολυφαινολών περιέχονται στο τελικό προϊόν με τις συγκεντρώσεις τους να ποικίλλουν ανάμεσα στους διάφορους τύπους ζύθου. Οι πολυφαινόλες μπορούν να προέρχονται, επίσης, από διάφορα άλλα συστατικά

που προστίθενται κατά τη διάρκεια της παραγωγής, όπως φρούτα, μπαχαρικά, καφές και σοκολάτα [9].

Κριθάρι

Το κριθάρι του είδους *Hordeum Vulgare* ανήκει στην οικογένεια *Poaceae* και αποτελεί ένα από τα πρώτα δημητριακά που καλλιεργήθηκε. Χρησιμοποιείται σημαντικά από τις βιομηχανίες ζυθοποιίας, αλλά χρησιμοποιείται και ως τρόφιμο λόγω των ωφέλιμων ιδιοτήτων του μεταξύ των οποίων είναι η μείωση της χοληστερόλης και η ρύθμιση του εντερικού μικροβιώματος. Ο κόκκος κριθαριού είναι μια πλούσια πηγή υδατανθράκων (συμπεριλαμβανομένων των φυτικών ινών), πρωτεϊνών, βιταμινών Ε όπως τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες και βιταμινών Β όπως θειαμίνη, ριβοφλαβίνη και νιασίνη. Τα κύρια συστατικά ενός κόκκου είναι το έμβρυο, το στρώμα αλευρόνης, το ενδοσπέρμιο και ο φλοιός (περιέχει μικρή ποσότητα πολυφαινόλων). Αναμφισβήτητα, το σημαντικότερο τμήμα του κόκκου είναι το ενδοσπέρμιο, που αποτελείται από αμυλόκοκκους που αιωρούνται σε μια πρωτεϊνική μήτρα, καθώς παρέχει στο αναπτυσσόμενο έμβρυο όλα τα απαιτούμενα θρεπτικά για έναρξη της ανάπτυξης. Το άμυλο αποτελεί το πιο άφθονο στοιχείο του κόκκου που περιλαμβάνει περίπου το 60% του βάρους του, ενώ οι πρωτεΐνες καταλαμβάνουν το 8-30% της συνολικής μάζας. Η ιδανική περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες για τη βύνη κριθαριού κυμαίνεται μεταξύ 10 και 12% [3,20].

Άλλα σιτηρά

Άλλοι τύποι σιτηρών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη θέση του κριθαριού ή ως πρόσθετα κατά την παραγωγή περιλαμβάνουν πιο συχνά το σιτάρι και τη σίκαλη, που και τα δύο επιτρέπουν τη μετατροπή των αμύλων σε σάκχαρα κατά τη διάρκεια της βυνοποίησης και σε πιο σπάνιες περιπτώσεις το σόργο, το καλαμπόκι και το ρύζι, κυρίως για την παραγωγή τύπων *lager*, σε συνδυασμό όμως με το κριθάρι. Όποιες πολυφαινόλες περιέχονται σε αυτά τα σιτηρά έχουν τη δυνατότητα να συμβάλουν στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο της μπίρας [9].

Λυκίσκος

Ο λυκίσκος *Humulus Lupulus L.* ανήκει στην οικογένεια *Cannabaceae*. Είναι δίοικο πολυετές φυτό που καλλιεργείται στο βόρειο ημισφαίριο και φτάνει σε ύψος 7-8 μ. Στην παραδοσιακή ιατρική, χρησιμοποιούταν ευρέως για τη θεραπεία διαταραχών ύπνου και στομαχικών διαταραχών και ως αντιβακτηριακός, αντιμυκητιακός, αντιδιουρητικός και αντιφλεγμονώδης παράγοντας, ωστόσο η χρήση του στη ζυθοποιία σημειώθηκε μεταγενέστερα. Είναι πλούσιος σε φαινολικές ενώσεις με περιεκτικότητα περίπου 14,4% σε φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή, προανθοκυανιδίνες, πρενυλιωμένες χαλκόνες, φλαβανόνες και κατεχίνες [44,47].

Οι κώνοι των θηλυκών λουλουδιών αξιοποιούνται στη ζυθοποιία και τα διάφορα στελέχη λυκίσκου που καλλιεργούνται επηρεάζουν με διαφορετικό τρόπο τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά του ζύθου. Το άρωμα οφείλεται σε (μη φαινολικές) ενώσεις στα αιθέρια έλαια του λυκίσκου, ενώ η χαρακτηριστική πικρή γεύση οφείλεται στα α-οξέα (χουμουλόνες, κοχουμουλόνες) και β-οξέα (λουπουλόνες) που αποτελούν πρενυλιωμένα πολυκετίδια [9,47]. Η συγκέντρωση χουμουλόνης στη μύρα είναι μέχρι 4 mg/L, βελτιώνει τη σταθερότητα του αφρού και συμβάλλει στη συντήρηση της μύρας. Αντίθετα, οι λουπουλόνες εντοπίζονται σε πολύ χαμηλότερες συγκεντρώσεις (0,14 έως 0,012 mg/L) και είναι εξαιρετικά ευαίσθητες στην οξείδωση, δημιουργώντας αρκετές οξειδωμένες ενώσεις, οι οποίες είναι υδρόφοβες και επομένως, πολύ λιγότερο διαλυτές στο νερό από τις χουμουλόνες. Τα α-οξέα κατά τη ζυθοποίηση ισομερειώνονται στα πιο υδατοδιαλυτά ισο-α-οξέα (ισο-χουμουλόνες) με τις συγκεντρώσεις τους να κυμαίνονται από 10 έως 100 mg/L [33].

Ζυμομύκητες

Το είδος *S. cerevisiae* χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή ζύθου υψηλής ζύμωσης (τύπος ale), ενώ για ζύθους χαμηλής ζύμωσης (τύπος lager) χρησιμοποιείται το είδος *S. pastorianus*. Το γονιδίωμα του *S. pastorianus* περιέχει διαφορετικούς συνδυασμούς των γονιδιωμάτων των ειδών *S. cerevisiae*, *S. bayanus* και *S. uvarum* με τα δύο τελευταία είδη να είναι γνωστό ότι εμφανίζουν ανεκτικότητα σε πιο ψυχρές θερμοκρασίες από το *S. cerevisiae* [41].

1.8 Διαδικασία ζυθοποίησης

Βυνοποίηση

Κατά την βυνοποίηση το κριθάρι διαβρέχεται με νερό για διάρκεια 2-3 ημερών, αφού προηγουμένως έχει καθαριστεί και αεριστεί. Όταν επιτευχθεί το επιθυμητό ποσοστό υγρασίας, μεταφέρεται σε δοχεία εκβλάστησης όπου υπό ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας (15-18°C) και υγρασίας αφήνεται 4-6 ημέρες να βλαστήσει και να δημιουργήσει την πράσινη βύνη. Η επαγωγή της βλάστησης οδηγεί στην ενεργοποίηση αποικοδομητικών ενζύμων όπως αμυλάσες (α-αμυλάση, β-αμυλάση), αμυλογλυκοζιδάσες, πρωτεάσες, πεπτιδάσες, τα οποία διασπούν το άμυλο και τις πρωτεΐνες σε σάκχαρα και πεπτίδια ή αμινοξέα. Έπειτα, ακολουθεί η φρύξη ή ξήρανση της πράσινης βύνης όπου εφαρμόζεται θερμός αέρας για να σταματήσει η διαδικασία βλάστησης και παράλληλα να διατηρηθεί η ενζυμική δραστηριότητα. Η θερμοκρασία φρύξης επηρεάζει την ποιότητα και το χρώμα της μύρας με θερμοκρασίες 65-85°C να οδηγούν σε μύρες ανοιχτού χρώματος, ενώ θερμοκρασίες >105°C σε σκουρόχρωμες ή μαύρες. Επίσης, μετά τη ξήρανση ενδέχεται να ακολουθήσουν στάδια καραμελοποίησης και καβουρντίσματος για παραγωγή ειδικών βυνών [2,18,38,49].

Πολτοποίηση – Διήθηση

Η προκύπτουσα βύνη στη συνέχεια αλέθεται και αναμειγνύεται με νερό υπό σταδιακή αύξηση της θερμοκρασίας. Αυτό παρέχει ένα ιδανικό περιβάλλον για τα ένζυμα που ενεργοποιήθηκαν κατά την εκβλάστηση να μετατρέψουν τα μόρια αμύλου σε απλούστερα, ζυμώσιμα σάκχαρα (σακχαροποίηση). Το κάθε ένζυμο έχει ειδοειδικό ρόλο στη διάσπαση του αμύλου και απαιτεί συγκεκριμένη θερμοκρασία για μέγιστη ενεργότητα. Μετά την πλήρη διάσπαση του αμύλου και την απελευθέρωση των σακχάρων, ακολουθεί η διήθηση του εκχυλίσματος για το διαχωρισμό του υγρού μέρους που ονομάζεται ζυθογλεύκος από τα αδιάλυτα στερεά της βύνης, τα οποία αξιοποιούνται ως πρόσθετα ζωοτροφών [2,18,38,49].

Βρασμός

Το σακχαρώδες εκχύλισμα αποτελεί ένα καλό περιβάλλον για ανάπτυξη βακτηρίων ή άγριων ζυμομυκήτων, γ' αυτό είναι απαραίτητη η αποστείρωσή του μέσω βρασμού, ο οποίος εξυπηρετεί και στη συμπύκνωσή του. Σε αυτό το στάδιο προστίθεται ο λυκίσκος (ή/και τα μπαχαρικά) που απελευθερώνει ορισμένες ενώσεις τοξικές για τα βακτήρια. Πέραν του ρόλου του ως συντηρητικό, τα αιθέρια έλαια του λυκίσκου συμβάλλουν στο χαρακτηριστικό άρωμα της μπίρας και λόγω της υψηλής θερμοκρασίας του βρασμού γίνεται ο ισομερισμός των α-οξέων του λυκίσκου που προσδίδουν την πικρή γεύση. Ο βρασμός του ζυθογλεύκους διαρκεί περίπου μία ώρα [2,18,38,49].

Περιδίνηση – Ψύξη – Οξυγόνωση

Με το πέρας του βρασμού το ζυθογλεύκος εμφανίζει θολερότητα λόγω των στερεών φυτικών υπολειμμάτων του λυκίσκου και των πρωτεϊνών που έχουν καταβυθιστεί λόγω της υψηλής θερμοκρασίας και η απομάκρυνση αυτών εξασφαλίζεται μέσω περιδίνησης. Έπειτα, το εκχύλισμα ψύχεται σε θερμοκρασία συμβατή για την ανάπτυξη ζυμομυκήτων (6-10°C) και οξυγονώνεται, καθώς το μεγαλύτερο μέρος οξυγόνου έχει αποχωρήσει λόγω του βρασμού [2,18,38,49].

Ζύμωση

Το κρύο ζυθογλεύκος μεταφέρεται σε δεξαμενή ζύμωσης όπου γίνεται η προσθήκη των ζυμομυκήτων. Παρουσία άφθονου οξυγόνου και θρεπτικών, ο πληθυσμός τους αυξάνεται ταχέως. Καθώς το οξυγόνο εξαντλείται, η ανάπτυξη επιβραδύνεται και τα κύτταρα μεταπίπτουν στο στάδιο της ζύμωσης κατά την οποία μετατρέπουν τα σάκχαρα σε αιθανόλη και διοξείδιο του άνθρακα. Καθώς η ζύμωση προχωρά, η διαθεσιμότητα των σακχάρων μειώνεται και η συγκέντρωση αιθανόλης αυξάνεται. Τελικά το μεγαλύτερο μέρος των ζυμομυκήτων σταματά να αντλεί περισσότερη ενέργεια από το ζυθογλεύκος και μεταπίπτει σε μια φάση αδράνειας, που οδηγεί στη συσσωμάτωση τους, μια διαδικασία που ονομάζεται κροκίδωση. Μερικά στελέχη

ζυμομυκήτων καθιζάνουν στον πάτο της δεξαμενής ζύμωσης όταν συσσωματώνονται, ενώ άλλα ανεβαίνουν στην επιφάνεια. Στην δεύτερη περίπτωση μπορούν να απομακρυνθούν από την επιφάνεια της μύρας, ενώ στην πρώτη περίπτωση η μύρα αποστραγγίζεται προσεκτικά [2,18,38,49].

Ωρίμανση – Δευτερογενής Ζύμωση

Μετά το πέρας της κύριας ζύμωσης και την κροκίδωση των περισσότερων ζυμομυκήτων, ένα μικρό τμήμα αυτών παραμένει στη μύρα και εκτελεί μια δευτερογενή τύπου ζύμωση, συνεχίζοντας τη διάσπαση σακχάρων και την παραγωγή άλλων ενώσεων, αν και στην πραγματικότητα σημειώνεται χαμηλό ποσοστό ζύμωσης. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου οι ζυμομυκήτες μεταβολίζουν διακετύλια και ακεταλδεΐδες που παράχθηκαν κατά τη διάρκεια της πρωτογενούς ζύμωσης, ενώσεις που προσδίδουν ανεπιθύμητες γεύσεις για τις περισσότερες μύρες (γεύση καραμέλας butterscotch και πράσινων μήλων, αντίστοιχα). Ανάλογα με τον τύπο μύρας, η ωρίμανση μπορεί να διαρκέσει από εβδομάδες έως μήνες και πραγματοποιείται σε αρκετά χαμηλές θερμοκρασίες (0-2°C) για επίτευξη μεγαλύτερης διαύγειας και γευστικής σταθερότητας. Εάν πρόκειται να διαρκέσει για αρκετά εκτεταμένο χρόνο, τότε συνήθως συνιστάται η μεταφορά της μύρας σε διαφορετική δεξαμενή για την απομάκρυνση των μη ενεργών ζυμομυκήτων των οποίων τα νεκρά κύτταρα τελικά θα απελευθερώσουν τα κυτταρικά περιεχόμενά τους στο γλεύκος, επηρεάζοντας αρνητικά τη γεύση. Στις μεγάλες βιομηχανίες μετά το πέρας της ωρίμανσης ακολουθεί η φίλτραση της μύρας για αύξηση της διαύγειας, της σταθερότητας και της διάρκειας ζωής. Ωστόσο, υπάρχουν και αφιλτράριστοι τύποι μύρας όπως οι παραδοσιακές βαυαρικές Weiss [2,18,38,49].

Εμφιάλωση – Παστερίωση

Μετά την εμφιάλωση της μύρας, τα όποια κύτταρα ζυμομυκήτων έχουν παραμείνει συνεχίζουν τη ζύμωση κατάλοιπων σακχάρων και προσθέτουν διοξείδιο του άνθρακα στη μύρα. Μερικές φορές πριν την εμφιάλωση προστίθεται μικρή ποσότητα σακχάρων και ζυμομυκήτων για την εξασφάλιση μιας κατάλληλης ποσότητας ανθρακικού (conditioning), πάντα όμως ελεγχόμενα, καθώς η υπέρμετρη παρουσία διοξειδίου του άνθρακα μπορεί να προκαλέσει έκρηξη των φιαλών. Πιο συχνά σήμερα, οι ζυθοποιοί προσθέτουν απευθείας διοξείδιο του άνθρακα λίγο πριν από την εμφιάλωση για να επέλθει το επιθυμητό επίπεδο ανθρακικού. Τελευταίο στάδιο της όλης διαδικασίας είναι η παστερίωση του τελικού προϊόντος για την θανάτωση πιθανών μικροοργανισμών, που ωστόσο προκαλεί μια μικρή υποβάθμιση της ποιότητας [2,18,38,49].

1.9 Ελεύθερες ρίζες – Δραστικές μορφές οξυγόνου

Οι ελεύθερες ρίζες είναι χημικά είδη ικανά για ανεξάρτητη ύπαρξη, τα οποία περιέχουν ένα ή περισσότερα μονήρη ηλεκτρόνια στην εξωτερική στιβάδα τους. Αυτή η ηλεκτρονιακή διαμόρφωση είναι εξαιρετικά δραστική, καθιστώντας τις ελεύθερες ρίζες χημικά ασταθείς με το χρόνο ημιζωής τους να διαρκεί μόνο μερικά χιλιοστά του δευτερολέπτου [23]. Τα μονήρη ηλεκτρόνιά τους αποσπούν ηλεκτρόνια από άλλα μόρια που εντοπίζουν στο περιβάλλον τους για να αποκτήσουν σταθερότητα και κατά τη διάρκεια της αντίδρασης τους με μια νέα ένωση ενδέχεται να δημιουργούνται περισσότερες ελεύθερες ρίζες. Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να ταξινομηθούν ως δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) και ως δραστικές μορφές αζώτου (Reactive Nitrogen Species, RNS). Και στις δύο κατηγορίες συμπεριλαμβάνονται και μη ριζικά μόρια με οξειδωτικό χαρακτήρα [14].

Πίνακας 3. Οξειδωτικά μόρια με επίκεντρο το οξυγόνο (ROS) και το άζωτο (RNS).

ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ (ROS)	ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΑΖΩΤΟΥ (RNS)
Σουπεροξειδίο $O_2^{\bullet-}$	Νιτρικό οξείδιο NO^{\bullet}
Υδροξύλιο HO^{\bullet}	Διοξείδιο του αζώτου NO_2
Υδροπεροξύλιο HOO^{\bullet}	Τριοξείδιο του δινιτρογόνου N_2O_3
Περοξύλιο ROO^{\bullet}	Υπεροξυνιτρώδες $ONOO^-$
Αλκοξύλιο RO^{\bullet}	
Υπεροξείδιο του υδρογόνου H_2O_2	
Απλό οξυγόνο 1O_2	
Όζον O_3	
Υποχλωριώδες οξύ $HOCl$	

Ο σχηματισμός τους μπορεί να γίνει μέσω:

1. ομολυτικής διάσπασης ενός ομοιοπολικού δεσμού σε ένα φυσιολογικό μόριο,
2. απώλειας ενός μόνο ηλεκτρονίου από ένα φυσιολογικό μόριο και
3. προσθήκης ενός ασύζευκτου ηλεκτρονίου σε ένα φυσιολογικό μόριο.

Στα βιολογικά συστήματα, η μεταφορά ηλεκτρονίων είναι η πιο κοινή διαδικασία σε σχέση με την ομολυτική σχάση, η οποία χαρακτηρίζεται από υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις [40].

Οι ελεύθερες ρίζες παράγονται τόσο από ενδογενείς όσο και από εξωγενείς πηγές. Στα κύτταρα, η κύρια πηγή παραγωγής ROS είναι η μιτοχονδριακή αναπνευστική αλυσίδα που χρησιμοποιεί περίπου το 80-90% του O_2 . Άλλες ενδογενείς πηγές είναι η αυτο-οξείδωση των αμινοξέων, ο τραυματισμός επαναιμάτωσης/ισχαιμίας και η δράση οξειδωτικών ενζύμων σε διαδικασίες όπως η σύνθεση προσταγλανδίνης, η φαγοκυττάρωση και το σύστημα του κυτοχρώματος P450. Η εξωγενής παραγωγή των ελευθέρων ριζών μπορεί να προκληθεί από την έκθεση σε περιβαλλοντικούς ρύπους,

καυσαέρια, ακτινοβολίες, καπνό τσιγάρων, φάρμακα και βαρέα μέταλλα. Όταν διατηρούνται σε χαμηλές ή μέτριες συγκεντρώσεις, οι ελεύθερες ρίζες επιφέρουν ωφέλιμα αποτελέσματα για τον οργανισμό όπως την παραγωγή ενέργειας, τη δημιουργία κυτταρικών δομών και την καταπολέμηση βακτηριακών εισβολών. Συγκεκριμένα, τα φαγοκύτταρα σχηματίζουν και αποθηκεύουν ελεύθερες ρίζες, τις οποίες απελευθερώνουν κατά την εισβολή παθογόνων μικροοργανισμών. Επίσης, διαδικασίες όπως η φωσφορυλίωση πρωτεϊνών, η ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων, η απόπτωση, η ανοσία και η διαφοροποίηση εξαρτώνται από την κατάλληλη παραγωγή και παρουσία των ROS μέσα στα κύτταρα. Σε υψηλές συγκεντρώσεις, ωστόσο, επιφέρουν επιβλαβή αποτελέσματα σε σημαντικές κυτταρικές δομές όπως μεμβράνες, πρωτεΐνες, λιπίδια και νουκλεϊκά οξέα και γεννούν το φαινόμενο του οξειδωτικού στρες [35].

1.10 Οξειδωτικό στρες

Το οξειδωτικό στρες εμφανίζεται όταν δημιουργηθεί ανισορροπία ανάμεσα στον σχηματισμό οξειδωτικών ενώσεων και στην ικανότητα του κυττάρου να τα απομακρύνει. Πρόκειται για μια επιβλαβή διαδικασία με σημαντικό αρνητικό αντίκτυπο σε διάφορες κυτταρικές δομές όπως μεμβράνες, λιπίδια, πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα [35,43,45]. Επιπλέον, οι αντιδράσεις οξείδωσης μπορεί να οδηγήσουν στον σχηματισμό τοξικών ουσιών όπως υπεροξειδία, αλκοόλες, αλδεΐδες, ελεύθερα καρβονύλια, κετόνες, χοληστερόνη και οξειδωτικές τροποποιήσεις στο πυρηνικό και μιτοχονδριακό DNA (μεταλλάξεις) [23]. Από κλινικής σημασίας, η προοδευτική συσσώρευση οξειδωτικών βλαβών θα οδηγήσει τελικά σε παθοφυσιολογικές μεταβολές που αφορούν την έναρξη και/ή την εξέλιξη πολλών χρόνιων και εκφυλιστικών ασθενειών όπως ο καρκίνος, ο διαβήτης, το εγκεφαλικό επεισόδιο, η αθηροσκλήρωση, οι καρδιαγγειακές παθήσεις, η νόσος Alzheimer, η νόσος Parkinson, αλλά και στην επίσπευση της γήρανσης [24].

1.11 Αντιοξειδωτικά μόρια – Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί

Τα αντιοξειδωτικά είναι ενώσεις ή συστήματα που δρουν ενάντια στις επιβλαβείς ελεύθερες ρίζες και το οξειδωτικό στρες, με σκοπό τη διατήρηση της οξειδοαναγωγικής ομοιόστασης. Η αλληλεπίδρασή τους με τα δραστικά αυτά είδη οδηγεί στον τερματισμό της αλυσιδωτής οξειδωτικής αντίδρασης πριν την καταστροφή κρίσιμων για τον οργανισμό ζωτικών μορίων [32]. Βάση γενικού ορισμού, το αντιοξειδωτικό είναι ένα μόριο ικανό να αναστείλει την οξείδωση άλλων μορίων. Πιο αναλυτικά, ως αντιοξειδωτικό χαρακτηρίζεται οποιαδήποτε ουσία που όταν υπάρχει σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε σχέση με τη συγκέντρωση ενός υποστρώματος που μπορεί να οξειδωθεί, θα καθυστερήσει σημαντικά ή θα

αναστείλει την οξειδωση αυτού του υποστρώματος. Άλλοι ορισμοί που έχουν αποδοθεί περιγράφουν το αντιοξειδωτικό ως «οποιαδήποτε ουσία που καθυστερεί, αποτρέπει ή αφαιρεί την οξειδωτική βλάβη σε ένα μόριο-στόχο» ή ως «η ουσία που συγκεντρώνει άμεσα τις ROS ή που έμμεσα ενεργεί για να αυξορρυθμίσει την αντιοξειδωτική άμυνα ή να αναστείλει την παραγωγή των ROS» [11].

Τα αντιοξειδωτικά είναι ισχυροί δότες ηλεκτρονίων που αδρανοποιούν τόσο τις εξωγενείς όσο και τις ενδογενείς ελεύθερες ρίζες, επομένως, υπάρχει μια συνεχής ανάγκη αναπλήρωσης των αντιοξειδωτικών πόρων είτε ενδογενώς είτε μέσω εξωγενούς συμπλήρωσης. Η σχετική σημασία και η αποτελεσματικότητα αυτών των μορίων εξαρτάται από το ποιο είδος ROS/RNS εμπλέκεται και σε ποια περιοχή παράγεται. Έτσι, ένα αντιοξειδωτικό μπορεί να είναι ενεργό σε ένα σύστημα, μπορεί όμως να αποτύχει σε ένα άλλο [40]. Εκτός από τη χημική δομή και τον εντοπισμό τους στο σύστημα, υπάρχουν και άλλοι παράγοντες που καθορίζουν την αποτελεσματικότητα των αντιοξειδωτικών ενώσεων, όπως η θερμοκρασία, η συγκέντρωση, τα χαρακτηριστικά του υποστρώματος που είναι ευαίσθητο σε οξείδωση, η κινητική της αντίδρασης, καθώς επίσης και η παρουσία συνεργιστικών και προ-οξειδωτικών ενώσεων και η φυσική κατάσταση του συστήματος [29].

Η αρχική ταξινόμηση των αντιοξειδωτικών εξαρτάται από τον τύπο της καταλυτικής δράσης τους, οπότε διακρίνονται πρώτα σε ενζυμικά και μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά. Τα ενζυμικά αντιοξειδωτικά σύμφωνα με τον μηχανισμό λειτουργίας τους μπορούν να ταξινομηθούν σε πρωτογενή και δευτερογενή. Πρωτογενή αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως η δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD), η καταλάση (CAT) και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) εμπλέκονται στην άμεση εξάλειψη των δραστικών μορφών οξυγόνου, ενώ δευτερογενή αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως η τρανσφεράση της γλουταθειόνης (GST), η αναγωγή της γλουταθειόνης (GR) και η αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης (GGPD) συμβάλλουν στην αποτοξίνωση των δραστικών ειδών οξυγόνου μειώνοντας τα επίπεδα υπεροξειδίου (GST) ή διατηρώντας μια σταθερή παροχή μεταβολικών ενδιάμεσων όπως το NADPH (GGPD) και η γλουταθειόνη (GR) για τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά ένζυμα [40].

Οι κύριες κατηγορίες μη ενζυμικών ενώσεων με αντιοξειδωτική δράση είναι οι βιταμίνες (βιταμίνη C, A, E, K) και τα φυτοχημικά όπως τα καροτενοειδή (καροτίνες και ξανθοφύλλες) και οι πολυφαινόλες (φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα, τανίνες, λιγνάνες και στυλβενοειδή) [32]. Συνολικά, τα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις κατηγορίες:

1. Λιπόφιλα όπως η βιταμίνη A, η βιταμίνη E, τα καροτενοειδή, οι τοκοφερόλες, η μεταλλοθειονίνη, η μελατονίνη
2. Υδατοδιαλυτά όπως η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ), η γλουταθειόνη, το ουρικό οξύ, η σερουλοπλασμίνη, η τρανσφερίνη, η απτοσφαιρίνη
3. Εξωγενή όπως τα φλαβονοειδή, η αλλοπουρινόλη [40].

Επιπλέον, τα αντιοξειδωτικά κατηγοριοποιούνται ανάλογα με το μηχανισμό δράσης που ακολουθούν. Η πρώτη κατηγορία απαρτίζεται από αντιοξειδωτικά με προληπτικό χαρακτήρα, στη δεύτερη περιλαμβάνονται τα αντιοξειδωτικά που συγκεντρώνουν τις ελεύθερες ρίζες και τέλος, η τρίτη κατηγορία αποτελείται από επιδιορθωτικά και de-νονο ένζυμα. Συγκεκριμένα:

- 1^{ος} Μηχανισμός δράσης: Επιβράδυνση της παραγωγής ελευθέρων ριζών μέσω ενζύμων όπως SOD, CAT, GPx, αναγωγή της γλουταθειόνης και διάφορων τύπων μετάλλων όπως σελήνιο (Se), μαγγάνιο (Mn), χαλκός (Cu) και σίδηρος (Fe).
- 2^{ος} Μηχανισμός δράσης: Καταστολή της παραγωγής δραστικών ειδών και μετατροπή των ήδη υπάρχοντων σε λιγότερο βλαβερές μορφές. Οι βιταμίνες E και C, τα φλαβονοειδή και το ουρικό οξύ διακρίνονται σ' αυτή την κατηγορία.
- 3^{ος} Μηχανισμός δράσης: Επιδιόρθωση των κατεστραμμένων νουκλεϊκών οξέων, των πρωτεϊνών, των υπεροξειδίων και των οξειδωμένων λιπιδίων και αναστολή της επανέναρξης της αλυσιδωτής οξειδωτικής αντίδρασης [14].

Τόσο τα φυσικά όσο και τα συνθετικά αντιοξειδωτικά παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων με αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινογόνα και αντιαθηροσκληρωτικά αποτελέσματα. Επιπλέον, μειώνουν τη συχνότητα εμφάνισης στεφανιαίας νόσου και συμβάλλουν στη διατήρηση της υγείας του εντέρου, ρυθμίζοντας την μικροβιακή ισορροπία του [32]. Στα συστήματα τροφίμων μέσω της αναστολής της υπεροξειδωσίας των λιπιδίων βοηθούν στη διατήρηση της γεύσης, του χρώματος και της υφής του τροφίμου κατά τη διάρκεια επεξεργασίας και αποθήκευσης και στην αύξηση της διάρκειας ζωής στο ράφι χωρίς κάποια δυσμενή επίδραση στα ποιοτικά χαρακτηριστικά [11].

1.12 Πολυφαινόλες

Οι πολυφαινόλες αποτελούν μία από τις πιο σημαντικές ομάδες δευτερογενών μεταβολιτών των φυτών, οι οποίες παράγονται σε συνθήκες βιοτικού και αβιοτικού στρες και αποτελούν την πρώτη γραμμή άμυνας. Είναι ευρέως κατανεμημένες στους φυτικούς ιστούς κυρίως υπό τη μορφή γλυκοζιτών και εντοπίζονται στα φρούτα, τα λαχανικά, το πράσινο τσάι, τον καφέ, το κρασί και τη μπύρα [42]. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, χαρακτηρίζονται από ιδιότητες που προάγουν την υγεία με ειδική αναφορά στις καρδιαγγειακές παθήσεις, την υπέρταση, τον διαβήτη, το μεταβολικό σύνδρομο, την παχυσαρκία και τον καρκίνο [8]. Επίσης, επιδρούν με θετικό τρόπο στη σύνθεση και τη λειτουργικότητα του ανθρώπινου μικροβιώματος. Ωστόσο, το σύνολο των σημαντικών αυτών γνωρισμάτων εξαρτάται από τη ποσότητα κατανάλωσής τους και τη βιοδιαθεσιμότητα τους στον οργανισμό [12].

Αναφορικά με τη χημική δομή, οι φαινολικές ενώσεις είναι φυσικές ουσίες που αποτελούνται από μία ή περισσότερες ομάδες υδροξυλίου που συνδέονται με έναν ή περισσότερους βενζολικούς δακτυλίους. Επομένως, οι δομές των πολυφαινολών ποικίλουν από απλά φαινολικά οξέα έως υψηλής μοριακής μάζας πολυμερικές μορφές όπως υδρολυόμενες και συμπυκνωμένες τανίνες και συνήθως βρίσκονται συζευγμένες με κατάλοιπα σακχάρων μέσω β-γλυκοζιτικών δεσμών ή ως γλυκοζίτες. Το κύριο σάκχαρο στους φλοιούς των φρούτων με το οποίο συνδέονται είναι η γλυκόζη, ωστόσο μπορούν να συνδέονται και με άλλα σάκχαρα όπως γαλακτόζη, ραμνόζη, ξυλόζη, αραβινόζη, γλυκουρονίδα και γαλακτοουρονικό οξύ [12].

1.12.1 Φαινολικές ενώσεις οίνου

Οι πολυφαινόλες στο κρασί καθορίζουν πολλά από τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά του όπως την εμφάνιση, το χρώμα, τη στυπτικότητα, την πικράδα και τη γεύση, καθώς επίσης και το άρωμα λόγω της σύνδεσης τους με πτητικές ενώσεις μέσω διαμοριακών αλληλεπιδράσεων. Ωστόσο, η παρουσία τους στο κρασί είναι καίριας σημασίας και γιατί του προσδίδουν προστιθέμενη αξία ως προς τα οφέλη του για την υγεία. Οι βιοδραστικές ιδιότητες του κρασιού αναγνωρίστηκαν πρώτα στη δεκαετία του 1980 από Γάλλους επιδημιολόγους, οι οποίοι συνέκριναν το σχετικά χαμηλό ποσοστό θνησιμότητας από στεφανιαία νόσο του γαλλικού πληθυσμού με την πλούσια σε κορεσμένα λιπαρά διατροφή του δυτικού κόσμου, μια ιδέα που ονομάστηκε «Γαλλικό Παράδοξο» (“French paradox”). Μετά από εις βάθος μελέτη διαπίστωσαν ότι η μέτρια κατανάλωση κόκκινου κρασιού συντελεί σ’ αυτό το φαινόμενο [5].

Η συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στα σταφύλια επηρεάζεται από πολλαπλές παραμέτρους τόσο εγγενείς όσο και εξωγενείς. Στην πρώτη κατηγορία ανήκει ο γενετικός παράγοντας, δηλαδή η ποικιλία του σταφυλιού με ορισμένες να παράγουν φυσικά υψηλότερες συγκεντρώσεις φαινολικών ενώσεων από άλλες. Η δεύτερη κατηγορία σχετίζεται με τη διαχείριση των αμπελώνων και των τεχνολογικών πρακτικών και περιλαμβάνει παράγοντες όπως τεχνικές οινοποίησης και αμπελοργίας και κλιματικές συνθήκες ή *terroir*. Το *terroir* ορίστηκε από τον Seguin το 1988 ως ένα διαδραστικό οικοσύστημα που περιλαμβάνει το κλίμα, το έδαφος και το αμπέλι. Σύμφωνα με έρευνες, υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων παρουσιάζονται σε ποικιλίες που καλλιεργούνται σε ένα κλίμα μακρών χειμώνων με χαμηλές θερμοκρασίες και πιθανές χιονοπτώσεις. Επίσης, η διαθεσιμότητα νερού παίζει καθοριστικό ρόλο με την περίπτωση ανεπάρκειας νερού σε συνδυασμό με χαμηλές θερμοκρασίες να διευκολύνουν την παραγωγή πολυφαινολών και ιδιαίτερα τη συσσώρευση ανθοκυανινών. Ακόμα, εδάφη υπό θρεπτικό στρες ή πλούσια σε σακχαρόζη φέρουν σημαντική επίδραση στη σύνθεση πολυφαινολών. Σχετικά με τις πρακτικές αμπελοργίας, δηλαδή οργανικής και συμβατικής καλλιέργειας, αποδείχθηκε ότι οι βιολογικοί χυμοί εμφάνισαν υψηλότερο ποσοστό πολυφαινολών

σε σύγκριση με χυμούς από συμβατικά σταφύλια. Άλλοι παράγοντες καίριας σημασίας είναι το στέλεχος του ζυμομύκητα που χρησιμοποιείται στην αλκοολική ζύμωση και το στάδιο της διαβροχής όπου ο μούστος βρίσκεται σε συνεχή επαφή με τα στερεά μέρη του σταφυλιού, κάτι που συμβαίνει αποκλειστικά κατά την ερυθρή οινοποίηση. Αυτό εξηγεί γιατί η συγκέντρωση πολυφαινολών είναι υψηλότερη στους ερυθρούς οίνους (1-5 g/L) από ό, τι στους λευκούς (0,2-0,5 g/L), η σύσταση των οποίων προέρχεται μόνο από τον χυμό, καθώς οι τύποι και οι αναλογίες των πολυφαινολών διαφέρουν μεταξύ χυμού, φλοιού και σπόρων στα σταφύλια. Επιπλέον, η μηλογαλακτική ζύμωση μπορεί να τροποποιήσει τη φύση των φαινολικών ενώσεων, καθώς η μετατροπή του μηλικού οξέος σε γαλακτικό οδηγεί σε αποξίνιση [12].

Το σύνολο των πολυφαινολών μπορεί να ομαδοποιηθεί σε δύο μεγάλες οικογένειες, τα флаβονοειδή και τα μη флаβονοειδή.

1.12.1.1 Φλαβονοειδή

Τα флаβονοειδή είναι φυτοχημικές ενώσεις με αντιοξειδωτικές ιδιότητες που αντιπροσωπεύουν πάνω από το 85% των φαινολικών συστατικών στο κόκκινο κρασί. Αποτελούνται από μια κοινή δομή τύπου C₁₅ (C₆-C₃-C₆) με δύο αρωματικούς δακτυλίους που ενώνονται με έναν κεντρικό μη αρωματικό δακτύλιο που περιέχει οξυγόνο (πυρανίο). Η υποκατάσταση του πυρανίου και ο διαφορετικός βαθμός οξείδωσης ευθύνονται για τη χημική ποικιλομορφία τους. Τα φυσικά флаβονοειδή μπορούν να υπάρχουν στην ελεύθερη μορφή τους (αγλυκόνη) ή ως γλυκοζίτες συζευγμένα με την υδροξυλική ομάδα ενός σακχάρου όπως γλυκόζη, γαλακτόζη, ραμνόζη, γλυκουρονίδη, ξυλόζη και αραβινόζη. Εντοπίζονται κυρίως σε λαχανικά, σπόρους, καρύδια, μπαχαρικά, βότανα, κακάο και φλοιούς σταφυλιών. Το συνολικό επίπεδο флаβονοειδών μπορεί να ποικίλει από 150 mg/L έως 650 mg/L. Η αντιοξειδωτική δράση τους εξαρτάται κυρίως από την ικανότητά τους να μειώνουν τις ελεύθερες ρίζες και να χηλικοποιούν μέταλλα (Cu και Zn), αποτρέποντας τις καταλυτικές αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών.

Αυτή η οικογένεια περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα ενώσεων: ανθοκυανίνες, флаβανόλες (φλαβαν-3-όλες), флаβονόλες, флаβανόνες, флаβόνες, χαλκόνες και τανίνες (συμπυκνωμένες και υδρολυόμενες) [8,12].

Ανθοκυανίνες

Οι ανθοκυανίνες είναι φυσικές, υδατοδιαλυτές χρωστικές ενώσεις υπεύθυνες για το ερυθρό χρώμα των σταφυλιών και κατ' επέκταση των ερυθρών οίνων, οι οποίες σχηματίζονται από τη γλυκοζυλίωση των ανθοκυανιδινών. Η δελφινίνη, η κυανιδίνη, η πετουινιδίνη, η πεονιδίνη και η μαλβιδίνη είναι οι πέντε ανθοκυανιδίνες που έχουν

ταυτοποιηθεί στα σταφύλια και το κρασί. Το χρώμα των ανθοκυανινών μεταβάλλεται ανάλογα με το pH (αύξηση του pH συνοδεύεται με ενίσχυση της έντασης του χρώματος), τη συγκέντρωση διοξειδίου του θείου και την παρουσία άλλων άχρωμων φλαβονοειδών στο κρασί. Η συγκέντρωσή τους κυμαίνεται μεταξύ 90 και 400 mg/L έως συγκεντρώσεις που ξεπερνούν τα 700 mg/L σε παλαιωμένους ερυθρούς οίνους, ενώ σε λευκές ποικιλίες απουσιάζουν. Όταν οι ανθοκυανιδίνες αλληλεπιδρούν με άλλες φαινολικές ενώσεις, συμβαίνει ένα φαινόμενο γνωστό ως συν-χρωματισμός, που συνήθως σταθεροποιεί τις ανθοκυανιδίνες και επομένως, το χρώμα του κρασιού [12].

Φλαβανόλες (Φλαβαν-3-όλες)

Οι φλαβανόλες εντοπίζονται σε μονομερή (κατεχίνη και επικατεχίνη) και σε πολυμερή μορφή (προανθοκυανιδίνες ή γνωστές κι ως συμπυκνωμένες τανίνες). Η (+)-κατεχίνη, η (-)-επικατεχίνη, η γαλλική επιγαλοκατεχίνη και η γαλλική επικατεχίνη-3 είναι οι κύριες φλαβαν-3-όλες που έχουν βρεθεί στους φλοιούς και τους πυρήνες των σταφυλιών. Ρόλος τους είναι η σταθεροποίηση τόσο των χρωμάτων όσο και των αισθητηριακών χαρακτηριστικών (κυρίως της στυπτικότητας και της πικράδας) των κρασιών. Η συγκέντρωσή τους κυμαίνεται από 15 έως 25 mg/L σε νεαρούς λευκούς οίνους και από 4 έως 120 mg/L σε νεαρούς ερυθρούς [12].

Φλαβονόλες

Οι φλαβονόλες είναι κίτρινες χρωστικές ενώσεις που βρίσκονται στους φλοιούς των σταφυλιών συνήθως συζευγμένες με σάκχαρα (γλυκόζη, ραμνόζη ή άλλα). Η μυρικετίνη, η κουερσετίνη, η λαρικιτρίνη, η καεμπφερόλη, η ισορχαμνετίνη και η συριγγεντίνη ανιχνεύονται κυρίως στα σταφύλια και το κρασί τόσο σε λευκές όσο και σε ερυθρές ποικιλίες. Στους λευκούς οίνους η συγκέντρωσή τους που επηρεάζει το χρώμα είναι εξαιρετικά μικρή, ενώ στους ερυθρούς το κίτρινο χρώμα τους επικαλύπτεται από το πορφυρό χρώμα των ανθοκυανιδινών. Επιπλέον, το χρώμα τους μπορεί να αλλάξει από λευκό σε κίτρινο και συνεπώς, επηρεάζουν τη σταθεροποίηση του χρώματος σε νεαρά ερυθρά κρασιά μέσω της συνχρωματικής αλληλεπίδρασης με τις ανθοκυανιδίνες. Ακόμα, παίζουν σημαντικό ρόλο στην αισθητηριακή αντίληψη της στυπτικότητας και πικράδας. Στους ερυθρούς οίνους η μέγιστη συγκέντρωσή τους φτάνει τα 60 mg/L [12].

Φλαβανόνες

Οι φλαβανόνες έχουν μια κορεσμένη ανθρακική αλυσίδα μεταξύ των ατόμων C₂ και C₃. Η ναριγκενίνη είναι η κύρια ένωση που εντοπίζεται στο κρασί με συγκέντρωση 25 mg/kg στους ερυθρούς οίνους και 7,7 mg/kg στους λευκούς οίνους [12].

Φλαβόνες

Οι φλαβόνες χαρακτηρίζονται από την παρουσία ενός διπλού δεσμού μεταξύ των ατόμων άνθρακα C₂ και C₃ και από την απουσία μιας ομάδας υδροξυλίου στη θέση C₃ του ανθρακικού σκελετού. Εντοπίζονται στους φλοιούς των σταφυλιών και στο κρασί σε μορφή αγλυκόνης και γλυκοζίτη. Η λουτεολίνη είναι η μοναδική φλαβόνη που εντοπίζεται στα σταφύλια σε επίπεδα που κυμαίνονται από 0,2 έως 1 mg/L [12].

Χαλκόνες

Οι χαλκόνες απαρτίζονται από δύο αρωματικούς δακτυλίους που συνδέονται μέσω ενός α, β-ακόρεστου καρβονυλικού συστήματος. Τα παράγωγα τους αποτελούν σημαντικά ενδιάμεσα και είναι πρόδρομοι μιας τεράστιας ποικιλίας φλαβονοειδών παραγώγων που απαντώνται στα σταφύλια ή το κρασί [12].

Συμπυκνωμένες τανίνες

Οι συμπυκνωμένες τανίνες είναι το αποτέλεσμα της συμπύκνωσης των φλαβανολών (φλαβαν-3-ολών). Η επικατεχίνη είναι η πιο άφθονη συμπυκνωμένη τανίνη στα σταφύλια και το κρασί, ακολουθούμενη από την κατεχίνη. Οι προανθοκυανιδίνες απαντώνται κυρίως στους φλοιούς των σταφυλιών και στους πυρήνες. Αυτές οι τανίνες αυξάνονται σε συγκέντρωση κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης του κρασιού και μπορούν να σχηματίσουν αδιάλυτα πολυμερή, αυξάνοντας την στυπτικότητα. Οι φυσικές συμπυκνωμένες τανίνες εντοπίζονται σε συγκεντρώσεις της κλίμακας των 1,2 έως 3,3 g/L [12].

Υδρολυόμενες τανίνες

Οι υδρολυόμενες τανίνες είναι μόρια υψηλού μοριακού βάρους που συνίστανται κυρίως από εστέρες γαλλικού (γαλοτανίνες) και ελλαγικού (ελλαγιτανίνες) οξέος συνδεδεμένους με γλυκόζη ή άλλα σάκχαρα. Είναι πιο ευαίσθητες στην υδρόλυση από τις συμπυκνωμένες τανίνες, η οποία προκαλείται από μεταβολές του pH, ενζυμικές ή μη ενζυμικές αντιδράσεις. Οι συγκεκριμένες τανίνες δεν εντοπίζονται στο αμπελοειδές *Vitis Vinifera*, αλλά μόνο στο υπογένος *Muscadine* και σε οίνους που ωριμάζουν σε βαρέλια, επομένως προτείνονται από τη βιβλιογραφία ως δείκτης ωρίμανσης. Η περιεκτικότητά τους ποικίλει από 0,4 έως 50 mg/L και εξαρτάται από τη διαδικασία ωρίμανσης και το είδος ξύλου του βαρελιού [12].

1.12.1.2 Μη φλαβονοειδή

Σχηματίζουν μια εκτεταμένη οικογένεια μέσα στις πολυφαινόλες με απλούστερη δομή από αυτή των φλαβονοειδών. Απαρτίζονται από τρεις κύριες ομάδες: στυλβενοειδή, βενζοϊκά και κινναμικά οξέα, που φτάνουν σε συγκεντρώσεις από 60 έως 566 mg/L σε ερυθρές ποικιλίες. Τα βενζοϊκά οξέα εντοπίζονται στα σταφύλια

αλλά και στον δρυ, οπότε κατά την αποθήκευση του κρασιού σε δρύινα βαρέλια μπορούν να διαπεράσουν στο εσωτερικό του [12].

Υδροξυβενζοϊκά οξέα

Τα υδροξυβενζοϊκά οξέα είναι φαινολικοί μεταβολίτες με γενική δομή C₆-C₁. Το ρ-υδροξυβενζοϊκό, το γαλλικό, το βανιλικό, το γεντισικό, το συριγγικό, το σαλικυλικό και το πρωτοκατεχικό οξύ βρίσκονται σε μεγαλύτερη αφθονία. Η συνολική περιεκτικότητά τους στους ερυθρούς οίνους κυμαίνεται από μη ανιχνεύσιμη έως 218 mg/L. Μεταξύ αυτών το γαλλικό οξύ θεωρείται το πιο σημαντικό φαινολικό οξύ του ερυθρού οίνου, όχι όμως των σταφυλιών και ενδεχομένως σχηματίζεται από την υδρόλυση των τανινών κατά την διάρκεια ωρίμανσης σε δρύινα βαρέλια (πρόδρομος των υδρολυμένων τανινών). Η συγκέντρωσή του στις ερυθρές ποικιλίες είναι περίπου 70 mg/L, ενώ στις λευκές τα επίπεδά του μπορούν να φτάσουν τα 10 mg/L [12].

Υδροξυκινναμικά οξέα

Τα υδροξυκινναμικά οξέα έχουν δομή C₆-C₃ και όλες οι μορφές τους προέρχονται από το κινναμωμικό οξύ. Τα κύρια μέλη της ομάδας είναι το καφεϊκό οξύ, το κουμαρικό οξύ, το σιναπικό οξύ και το φερούλικό οξύ, τα οποία δεν βρίσκονται ελεύθερα στα σταφύλια, αλλά ενώνονται με εστέρες ή διεστέρες τρυγικού οξέος. Τα υδροξυκινναμικά οξέα είναι η τρίτη πιο άφθονη ομάδα πολυφαινολών στα σταφύλια και η πρώτη στον μούστο και το λευκό κρασί. Οξειδώνονται εύκολα και έχουν συσχετιστεί με την αμαύρωση των λευκών ποικιλιών. Η μέση συγκέντρωσή τους ανέρχεται περίπου στα 100 mg/L στα ερυθρά και στα 30 mg/L στα λευκά κρασιά [12].

Στιλβενοειδή

Τα στιλβενοειδή είναι βιοδραστικές ενώσεις που αποτελούνται από δύο αρωματικούς δακτυλίους με χημική δομή C₆-C₂-C₆. Οι κύριες πηγές τους στην ανθρώπινη διατροφή είναι τα σταφύλια και τα παράγωγα αυτών, δηλαδή ο χυμός και το κρασί. Συγκεκριμένα, στο είδος *Vitis vinifera* το κυριότερο στιλβενοειδές που εντοπίζεται είναι η ρεσβερατρόλη, μια φυτοαλεξίνη με αντιβιοτική δράση. Οι φυσικές συγκεντρώσεις τους στο κρασί είναι χαμηλές (0-5 mg/L), ωστόσο όταν τα σταφύλια εκτίθενται σε βιοτικό ή αβιοτικό στρες, τα επίπεδα της ρεσβερατρόλης, της γλυκοζυλιωμένης μορφής της (piceid) και των πολυμερών παραγώγων της (pallidol, βινιρίνη) αυξάνονται έως και πάνω από 100 mg/L [12].

Τυροσόλη

Η τυροσόλη είναι μια φυσική φαινολική αντιοξειδωτική ένωση που βρίσκεται κυρίως στο ελαιόλαδο. Ωστόσο, σύμφωνα με κάποιες μελέτες έχει ανιχνευθεί και στο κρασί σε συγκεντρώσεις έως 45 mg/L σε λευκές και 20 με 60 mg/L σε ερυθρές ποικιλίες [12].

Υδροξυτυροσώλη

Η υδροξυτυροσώλη αποτελεί μια φαιναιθυλική αλκοόλη καίριας σημασίας για τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες του ελαιόλαδου, η οποία έχει, επίσης, εντοπιστεί σε ερυθρούς οίνους σε συγκεντρώσεις μεταξύ 1,98 και 3,89 mg/L. Πιθανόν συντίθεται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης από τους ζυμομύκητες [12].

1.12.2 Φαινολικές ενώσεις ζύθου

Το ποσοτικό και ποιοτικό περιεχόμενο των φαινολικών ενώσεων στον ζύθο καθορίζεται κυρίως από την επιλογή των πρώτων υλών (γενετικός παράγοντας). Περίπου το 70-80% των πολυφαινολών προέρχεται από τη βύνη ή άλλα δημητριακά που προστίθενται κατά την πολτοποίηση και το 20-30% προέρχεται από τον λυκίσκο παρά την ουσιαστικά υψηλότερη περιεκτικότητα του λυκίσκου σε πολυφαινόλες. Η αναλογία των συστατικών εξαρτάται από τον επιθυμητό τύπο ζύθου. Άλλοι παράγοντες καίριας σημασίας είναι οι περιβαλλοντικές συνθήκες ανάπτυξης, η διαχείριση της συγκομιδής, τα τεχνολογικά στάδια παραγωγής, η θερμοκρασία και το pH. Οι φαινολικές ενώσεις εμφανίζονται είτε σε ελεύθερη μορφή είτε συνήθως με τη μορφή εστέρων, γλυκοζιτών ή συζευγμένες με σύνθετες ενώσεις όπως πολυσακχαρίτες. Η συμβολή τους στην αντιοξειδωτική ισχύ του ζύθου είναι μεγαλύτερη από 50%, ωστόσο επηρεάζουν και τα αισθητηριακά και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του όπως το χρώμα, τη διαύγεια, τη στυπτικότητα και το σώμα [9, 13, 26, 46], αν και έχει σημειωθεί πιθανή αρνητική συσχέτιση των πολυφαινολών με την κολλοειδή και αφρώδη σταθερότητα της μύρας και τη μείωση της διάρκειας ζωής στο ράφι [13].

Μεταξύ των πιο ισχυρών φαινολικών ενώσεων είναι τα φαινολικά οξέα (υδροξυκιναμικά και υδροξυβενζοϊκά οξέα), τα πρενυλιωμένα χαλκονοειδή, οι φλαβόνες, οι φλαβονόλες και οι τανίνες, ενώ δεν υπάρχουν αναφορές για παρουσία ανθοκυανινών. Επίσης, τα στιλβενοειδή και συγκεκριμένα η ρεσβερατρόλη εντοπίζεται σε πολύ χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε σύγκριση με το ερυθρό κρασί και μεταξύ των ποικιλιών ζύθου σε μικρότερο βαθμό στις μύρες lager ή τις μη αλκοολούχες σε σχέση με τις μύρες τύπου ale (1,99-81,22 μg/L) [46].

Υδροξυκιναμικά Οξέα

Μεταξύ των υδροξυκιναμικών οξέων το φερουλικό, το π-κουμαρικό και το καφεϊκό οξύ βρίσκονται σε μεγαλύτερη αφθονία στο ζύθο και οι συγκεντρώσεις τους διαφέρουν μεταξύ των ποικιλιών, με τις μύρες τύπου ale να εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις για το π-κουμαρικό και το καφεϊκό οξύ, ενώ οι μύρες χωρίς αλκοόλ ή τύπου lager να είναι πιο πλούσιες σε φερουλικό οξύ [36].

Υδροξυβενζοϊκά οξέα

Το σαλικυλικό, το ρ-υδροξυβενζοϊκό, το βανιλικό και το γαλλικό οξύ βρίσκονται σε μεγαλύτερη αφθονία σε συγκεντρώσεις 2.866 ± 1.553 mg/L για το σαλικυλικό και 16.84 ± 10.988 mg/L για το ρ-υδροξυβενζοϊκό οξύ σύμφωνα με μια έρευνα που μελέτησε 23 μύρες τύπου lager. Η περιεκτικότητα του γαλλικού οξέος είναι υψηλότερη στον τύπο lager και λόγω της υψηλής ευαισθησίας του στην αποικοδόμηση και την οξείδωση αποτελεί δείκτη οξείδωσης κατά τη διάρκεια της ζυθοποίησης [36].

Χαλκόνες

Η κύρια ένωση της κατηγορίας που εντοπίζεται μόνο στο ζύθο είναι η ξανθοχουμόλη και το προϊόν κυκλοποίησης της, η ισοξανθοχουμόλη, οι οποίες χαρακτηρίζονται από ένα πλήθος βιοδραστικών ιδιοτήτων. Η ξανθοχουμόλη ανήκει στην ομάδα των πρενυλιωμένων χαλκονών και παράγεται από τις θηλυκές ταξιανθίες του λυκίσκου, αντιπροσωπεύοντας το 80-90% της συνολικής φαινολικής περιεκτικότητάς του. Στον ζύθο εντοπίζεται σε συγκεντρώσεις περίπου 0,2 mg/L. Κατά τη διάρκεια της ζυθοποίησης, η υψηλή θερμοκρασία προκαλεί ισομερισμό της ξανθοχουμόλης σε ισοξανθοχουμόλη (περίπου το 20-30% της ξανθοχουμόλης μετατρέπεται σε ισοξανθοχουμόλη), η οποία αποτελεί το κύριο πρενυλφλαβονοειδές του ζύθου, φαινόμενο που δεν παρατηρείται στο υδρόφοβο περιβάλλον των φυτικών κυττάρων του λυκίσκου. Ανιχνεύεται σε μεγαλύτερη αφθονία σε σχέση με την ξανθοχουμόλη με συγκεντρώσεις από 0,6 έως 3,4 mg/L [33, 36, 44].

Φλαβαν-3-όλες και Συμπυκνωμένες τανίνες

Η κατεχίνη αποτελεί την κύρια ένωση της κατηγορίας (2.74–6.54 mg/L) και εκτός από μονομερή μορφή, εντοπίζεται και σε μορφή εστέρων μαζί με γαλλικά οξέα (γαλλική κατεχίνη). Ενδιαφέρον εμφανίζουν και οι προανθοκυανιδίνες με συγκεντρώσεις της κλίμακας 23 mg/L λόγω της συσχέτισής τους με τον σχηματισμό θολερότητας στη μύρα [36].

Φλαβόνες, Φλαβονόλες

Εκτός από τις φλαβόνες που προέρχονται κυρίως από το κριθάρι (απιγενίνη από 0,80 έως 0,81 mg/L, λουτεολίνη από 0,10 έως 0,19 mg/L), ο ζύθος περιέχει, επίσης, την ισομερή μορφή τους, τις ισοφλαβόνες όπως τη daidzein, τη γενιστεΐνη, τη φορμονονετίνη και τη βιοχανίνη Α. Μεταξύ των φλαβονολών, που πηγάζουν κυρίως από τον λυκίσκο, σε υψηλές συγκεντρώσεις έχουν εντοπιστεί η κουερσετίνη σε μύρες τύπου lager (1.72–1.79 mg/L) και η καεμπφερόλη (1.64 mg/L) [36].

Υδρολυώμενες τανίνες

Οι υδρολυώμενες τανίνες προέρχονται από τον λυκίσκο και τη βύνη και σύμφωνα με μια έρευνα σε 22 δείγματα εμπορικής μπίρας βρίσκονται σε συγκεντρώσεις των 1,5 mg/L [36].

Μη φαινολικές αντιοξειδωτικές ενώσεις

Εκτός από τις φαινολικές ενώσεις άλλες κρίσιμες ενώσεις για την αντιοξειδωτική ικανότητα του ζύθου είναι τα πικρά οξέα του λυκίσκου (α-οξέα, β-οξέα) και οι μελανοΐδινες. Οι μελανοΐδινες είναι μακρομοριακές αζωτούχες ενώσεις καφέ χρώσης που σχηματίζονται κατά την διάρκεια της βυνοποίησης και ζύμωσης ως προϊόντα των αντιδράσεων Maillard. Επηρεάζουν το χρώμα, τη γεύση και το σώμα του ζύθου και χαρακτηρίζονται από ωφέλιμες για την υγεία ιδιότητες όπως αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, αντιυπερτασικές, αντιαλλεργιογόνες και πρεβιοτικές ιδιότητες. Επίσης, δεσμεύουν μεταλλικά ιόντα όπως Fe^{+2} και θεωρούνται αντιμεταλλαξογόνες και ογκοκατασταλτικές ενώσεις με πιο δραστικά αποτελέσματα να παρατηρούνται στις σκουρόχρωμες μπίρες λόγω της υψηλότερης περιεκτικότητάς τους σε αυτές. Ωστόσο, ο βαθμός πεπτικότητας και βιοδιαθεσιμότητας τους στον οργανισμό είναι χαμηλός [26]. Ανάλογα με τις πρώτες ύλες και τη διαδικασία ζυθοποίησης, η συγκέντρωση σε μελανοΐδινες κυμαίνεται από 0,58 mg/L σε μπίρα χωρίς αλκοόλ έως 1,49 mg/L σε σκουρόχρωμη μπίρα, ενώ σε ξανθιά μπίρα προσδιορίστηκε στα 0,61 mg/L [36].

2. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της διπλωματικής εργασίας είναι η ανάλυση της αντιοξειδωτικής ικανότητας και του πολυφαινολικού περιεχομένου ελληνικών ποικιλιών οίνου και ζύθου μέσω της εφαρμογής *in vitro* μεθόδων για τον προσδιορισμό της διατροφικής αξίας τους. Η μελέτη ελληνικών γηγενών ποικιλιών αμπέλου και κριθαριού και η εκτίμηση των βιοδραστικών ιδιοτήτων τους, μπορεί να συμβάλει στην προώθηση και ανάδειξή τους σε παγκόσμια κλίμακα και τελικά στην ενίσχυση της ελληνικής οικονομίας.

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Χημικά αντιδραστήρια

Folin & Ciocalteu's phenol reagent (Sigma-Aldrich), Na₂CO₃/Sodium carbonate anhydrous (Riedel-de Haën), NBT/Nitro Blue tetrazolium chloride (Serva), NADH/ β -Nicotinamide adenine dinucleotide reduced-Na₂-salt (Serva), PMS/Phenazine methosulfate (Sigma-Aldrich), TRIS/Tris(hydroxymethyl)-aminomethane (Serva), HCL, Potassium ferricyanide/Kaliumhexacyanoferrat(III) (AppliChem), Iron(III) chloride (Sigma-Aldrich), TCA/Trichloroacetic acid (Scharlau), NaH₂PO₄/Sodium dihydrogen phosphate dihydrate (Merck), Na₂HPO₄/di-Sodium hydrogen phosphate-2H₂O (Serva), Απιονισμένο H₂O.

3.2 Υπό εξέταση δείγματα

Πίνακας 4. Δείγματα οίνου.

ΔΕΙΓΜΑ	ΠΟΙΚΙΛΙΑ	ΕΤΟΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ	% Alc
ΔΕΙΓΜΑ 1	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	2019	14.5%
ΔΕΙΓΜΑ 2	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	2020	14.8%
ΔΕΙΓΜΑ 3	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	2014	12.5%
ΔΕΙΓΜΑ 4	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	2015	12%
ΔΕΙΓΜΑ 5	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	2012	13%
ΔΕΙΓΜΑ 6	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	2015	13%
ΔΕΙΓΜΑ 7	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	2019	14%
ΔΕΙΓΜΑ 8	ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ	2020	13.8%
ΔΕΙΓΜΑ 9	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	2020	14%
ΔΕΙΓΜΑ 10	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	2019	14.5%
ΔΕΙΓΜΑ 11	ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ	2016	14%
ΔΕΙΓΜΑ 12	ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ	2017	15%
ΔΕΙΓΜΑ 13	ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ	2018	12.5%
ΔΕΙΓΜΑ 14	ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ	2020	12.5%
ΔΕΙΓΜΑ 16	ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ	2018	14%
ΔΕΙΓΜΑ 17	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	2016	13.5%
ΔΕΙΓΜΑ 18	ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ	2020	13.5%
ΔΕΙΓΜΑ 19	ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ	2020	12.5%
ΔΕΙΓΜΑ 20	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	2019	14%
ΔΕΙΓΜΑ 21	ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ	2018	13.5%
ΔΕΙΓΜΑ 22	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	2018	13.5%
ΔΕΙΓΜΑ 23	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	2014	13%
ΔΕΙΓΜΑ 24	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	2017	14%

Πίνακας 5. Δείγματα ζύθου.

ΔΕΙΓΜΑ	ΠΟΙΚΙΛΙΑ	% Alc
ΔΕΙΓΜΑ 1	PORTER	7%
ΔΕΙΓΜΑ 2	PILSNER	5%
ΔΕΙΓΜΑ 3	RED ALE-DOUBLE	6.5%
ΔΕΙΓΜΑ 4	WHEAT-WITBIER	5%
ΔΕΙΓΜΑ 5	RED ALE	7.2%
ΔΕΙΓΜΑ 6	HONEY GOLDEN ALE	6.5%
ΔΕΙΓΜΑ 7	PORTER	5.5%
ΔΕΙΓΜΑ 8	LAGER-PALE	5%
ΔΕΙΓΜΑ 9	RED ALE-IMPERIAL	9%
ΔΕΙΓΜΑ 10	LAGER-PALE	5%
ΔΕΙΓΜΑ 11	BELGIAN ALE	5.5%
ΔΕΙΓΜΑ 12	LAGER-HELLES	5%
ΔΕΙΓΜΑ 13	LAGER-PALE	5%
ΔΕΙΓΜΑ 14	KELLERBIER	6.2%
ΔΕΙΓΜΑ 15	LAGER-PALE	4.5%
ΔΕΙΓΜΑ 16	LAGER-INDIA PALE	5%
ΔΕΙΓΜΑ 17	PILSNER-GERMAN	5.2%
ΔΕΙΓΜΑ 18	LAGER-PALE	5%
ΔΕΙΓΜΑ 19	LAGER-PALE	5%
ΔΕΙΓΜΑ 20	LAGER-PALE	5%
ΔΕΙΓΜΑ 21	STOUT	4.2%
ΔΕΙΓΜΑ 22	PILSNER	4.5%
ΔΕΙΓΜΑ 23	LAGER-NON ALCOHOLIC	0.3%
ΔΕΙΓΜΑ 24	LAGER-DARK	5.2%

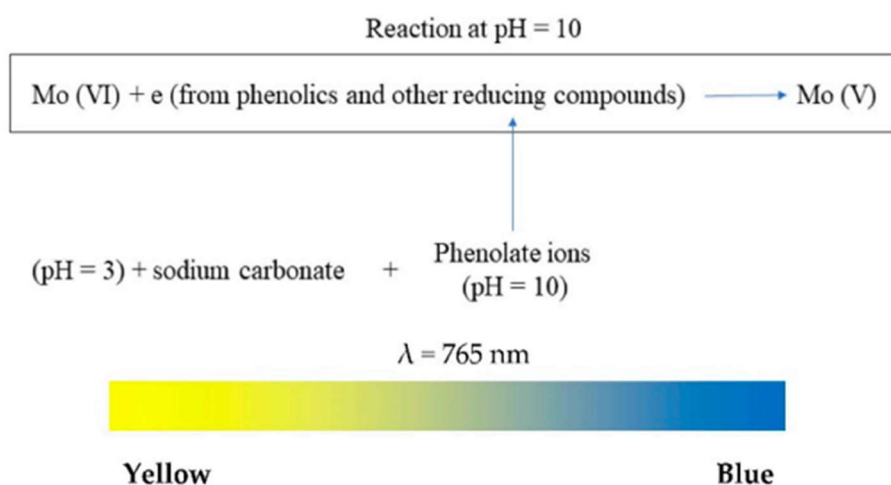
Μετά το άνοιγμα το σύνολο των δειγμάτων μεταφέρθηκε σε επιμέρους aliquots που διατηρούνταν σε ψύξη μέχρι τη μέτρηση.

3.3 Προσδιορισμός συνολικού πολυφαινολικού περιεχομένου μέσω του αντιδραστηρίου Folin – Ciocalteu

Αρχή της μεθόδου

Ο προσδιορισμός του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου (total phenolic content, TPC) στηρίζεται σε μια χρωματομετρική μέθοδο με βασικό μηχανισμό μια αντίδραση οξειδωσης-αναγωγής μέσω της χρήσης του αντιδραστηρίου Folin – Ciocalteu. Πρόκειται για ένα διάλυμα σύνθετων πολυμερών ιόντων των οποίων ο σχηματισμός

προκύπτει από φωσφομολυβδαινικά και φωσφοβολφραμικά ετεροπολυμερή οξέα. Ρόλος του αντιδραστηρίου είναι η οξείδωση των φαινολικών ιόντων με παράλληλη αναγωγή των ετεροπολυμερών οξέων υπό αλκαλικές συνθήκες. Το προϊόν που προκύπτει μετά το πέρας της αντίδρασης είναι ένα σύμπλεγμα μολυβδαινίου – βολφραμίου με μπλε χρώμα που ανιχνεύεται στο ορατό φάσμα στα 765nm. Επομένως, όσο μεγαλύτερη η ένταση του μπλε χρώματος τόσο μεγαλύτερο το ποσοστό των πολυφαινολών στο δείγμα και μεγαλύτερη η απορρόφηση. Η αλκαλικότητα της αντίδρασης ρυθμίζεται με την προσθήκη κορεσμένου διαλύματος ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3), το οποίο είναι απαραίτητο για την παρουσία των φαινολικών ιόντων, χωρίς να μεταβάλλει τη σταθερότητα του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu και του σχηματιζόμενου προϊόντος της αντίδρασης. Ως πρότυπο αναφοράς χρησιμοποιείται το γαλλικό οξύ και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος, mg GAE/μl δείγματος (Παράρτημα, Διάγραμμα 1).



Εικόνα 13. Μέθοδος Folin – Ciocalteu. Πηγή. [4]

Πειραματική διαδικασία

Η προσθήκη των αντιδραστηρίων γίνεται σε erpendorfs των 2ml σύμφωνα με τον πίνακα 6. Κάθε δείγμα παρασκευάζεται x3 φορές για αύξηση της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων.

Πίνακας 6. Αντιδραστήρια και βήματα πειραματικού πρωτοκόλλου.

	ΤΥΦΛΟ	ΔΕΙΓΜΑ	ΔΕΙΓΜΑ – FC (ΑΡΝΗΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ)
H_2O	1020μl	1000μl	1100μl
Folin-Ciocalteu	100μl	100μl	-
Δείγμα	-	20μl	20μl

Ανάδευση και επώαση για 3min σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι.			
Na₂CO₃ (25% w/v)	280μl	280μl	280μl
H₂O	600μl	600μl	600μl
Ανάδευση και επώαση για 1h σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι.			

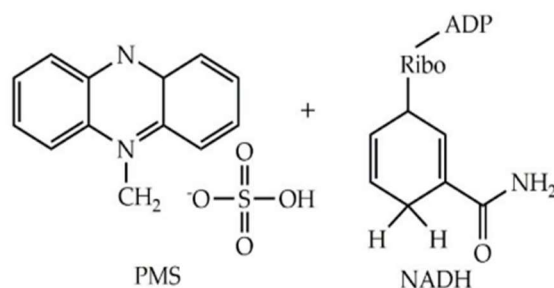
Μετά το πέρας της επώασης, ακολουθεί η μέτρηση της οπτικής απορρόφησης στα 765nm. Πρώτα γίνεται ο μηδενισμός του φασματοφωτομέτρου με το τυφλό δείγμα και στην πορεία εξετάζεται κάθε δείγμα εις τριπλούν. Εξετάζεται ακόμη και η απορρόφηση κάθε δείγματος απουσία του αντιδραστηρίου Folin – Ciocalteu (αρνητικός μάρτυρας), η οποία αφαιρείται από την τελική απορρόφηση της αντίδρασης.

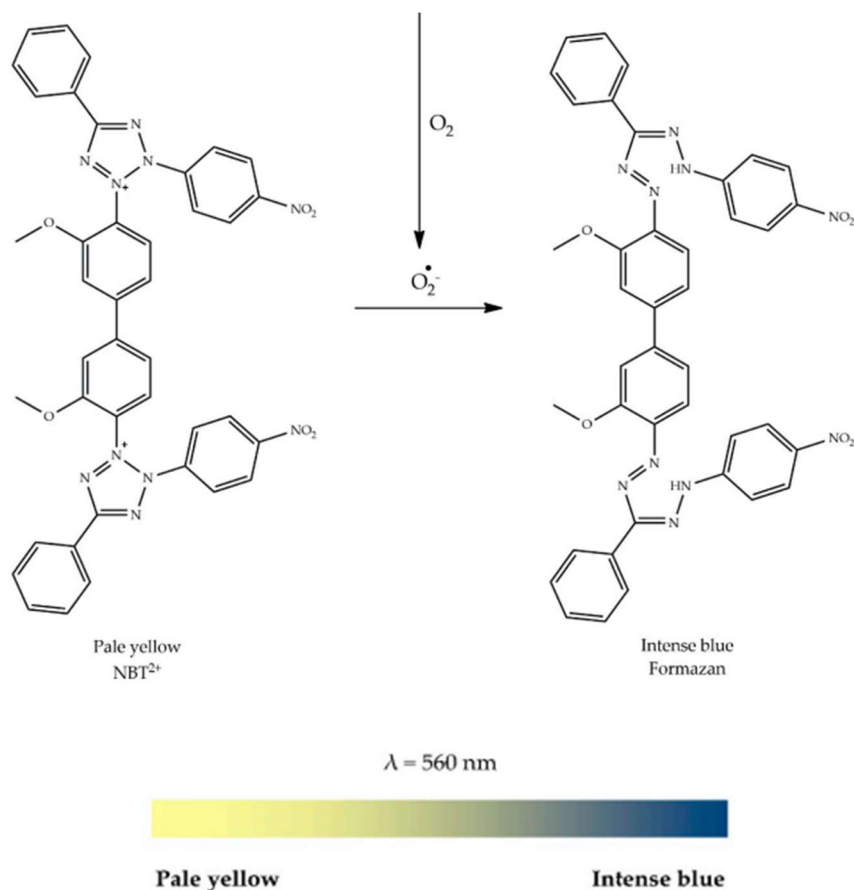
3.4 Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω αλληλεπίδρασης με τη ρίζα σουπεροξειδίου O₂^{•-} (Superoxide Radical Scavenging Activity)

Αρχή της μεθόδου

Η ρίζα σουπεροξειδίου αποτελεί μια ενδογενή δραστική μορφή οξυγόνου, η οποία σύμφωνα με παρατηρήσεις προκαλεί κυτταρικό θάνατο, απενεργοποίηση ενζύμων, αποικοδόμηση DNA και άλλων βιομορίων και πιθανόν συμμετέχει στην υπεροξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων ή και άλλων ευαίσθητων μορίων. Η παραγωγή της ρίζας O₂^{•-} μπορεί να γίνει από το μη ενζυμικό σύστημα PMS (C₁₃H₁₁N₂·CH₃SO₄) – NADH (C₂₁H₂₇N₇O₁₄P₂) και να αναλυθεί μέσω της μείωσης του κίτρινου διαλυτού άλατος NBT (C₄₀H₃₀Cl₂N₁₀O₆) [4]. Το σουπεροξείδιο αντιδρά με το NBT²⁺ και μειώνει το κίτρινο χρώμα του, με αποτέλεσμα το διάλυμα να αποκτά μπλε χρώση, η οποία ανιχνεύεται στα 560nm. Η προσθήκη μιας πιθανής αντιοξειδωτικής ουσίας μπορεί να αντιδράσει με τη ρίζα σουπεροξειδίου και να καταστείλει τον σχηματισμό του μπλε χρωμοφόρου. Επομένως, μειωμένη απορρόφηση ισοδυναμεί με αυξημένη δυνατότητα εξουδετέρωσης των ανιόντων σουπεροξειδίου, άρα αυξημένη αντιοξειδωτική ικανότητα.

Mechanism of reaction:





Εικόνα 14. Παραγωγή της ανιονικής ρίζας $O_2^{\bullet-}$ μέσω του συστήματος PMS – NADH και αντίδραση αυτής με το NBT προς σχηματισμό φορμαζάνης. Πηγή. [4]

Πειραματική διαδικασία

Τα αντιδραστήρια προστίθενται σύμφωνα με τον πίνακα 7 σε erpendorfs των 1,5ml, αφότου πρώτα προηγηθούν οι απαραίτητες διαδοχικές αραιώσεις των δειγμάτων με αρχική συγκέντρωση 50μl/ml. Κάθε δείγμα παρασκευάζεται x2 φορές για επαλήθευση των αποτελεσμάτων.

Πίνακας 7. Αντιδραστήρια και βήματα πειραματικού πρωτοκόλλου.

	Blank	Control	ΔΕΙΓΜΑ	ΔΕΙΓΜΑ – PMS (ΑΡΝΗΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ)
Sample	-	-	50μl	50μl
dH ₂ O	-	50μl	-	-
Tris – HCL	800μl	625μl	625μl	750μl
NBT	125μl	125μl	125μl	125μl
NADH	125μl	125μl	125μl	125μl
PMS	-	125μl	125μl	-

Ανάδευση και επώαση για 5min σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι.

Αμέσως μετά ακολουθεί η μέτρηση της οπτικής απορρόφησης στα 560nm. Πρώτα γίνεται μηδενισμός του φασματοφωτομέτρου με το blank και έπειτα, εξετάζεται κάθε δείγμα εις διπλούν. Για να ελεγχθεί αν η υπό εξέταση ουσία καθαυτή απορροφά στα 560nm, εξετάζεται και η απορρόφηση κάθε δείγματος απουσία του PMS (αρνητικός μάρτυρας), η οποία αφαιρείται από την τελική απορρόφηση της αντίδρασης.

Ο υπολογισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας γίνεται με την εξίσωση:

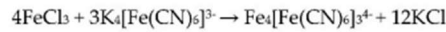
$$\% \text{ Superoxide Radical Scavenging} = \frac{\text{απορρόφηση control} - \text{απορρόφηση δείγματος}}{\text{απορρόφηση control}} \times 100$$

3.5 Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω αναγωγής του τρισθενούς σιδήρου σε δισθενή (Ferric Reducing Antioxidant Power Assay)

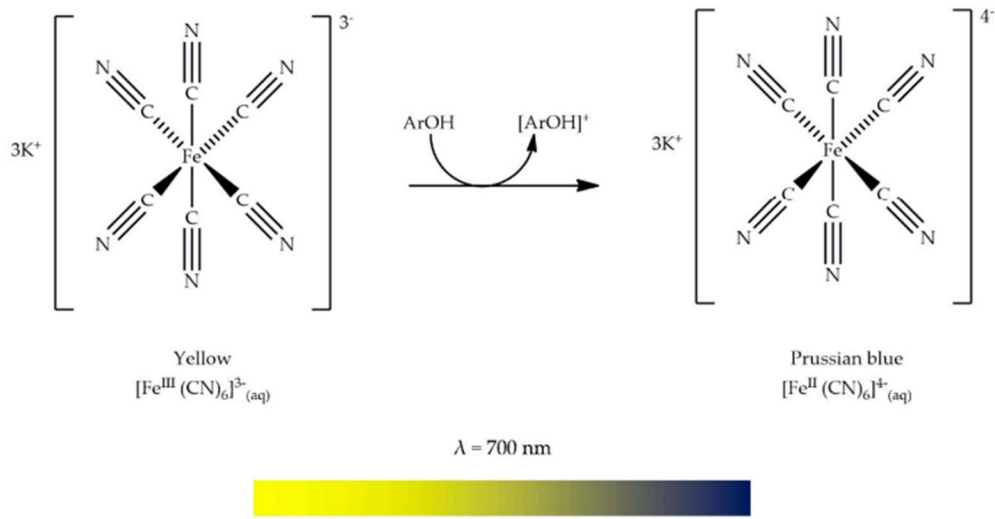
Αρχή της μεθόδου

Η αναγωγή του τρισθενούς σιδήρου (Fe^{3+}) σε δισθενή (Fe^{2+}) αποτελεί μια χρωματομετρική μέθοδο εκτίμησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας μιας ουσίας. Ουσίες με αναγωγική ισχύ αποτελούν δότες ηλεκτρονίων και προκαλούν την αναγωγή οξειδωμένων ενδιάμεσων της λιπιδικής υπεροξειδωσης, με αποτέλεσμα να ενεργούν ως αρχικές ή δευτερεύουσες αντιοξειδωτικές ενώσεις. Κατά τη δοκιμασία αυτή, οι υπό εξέταση ουσίες με αναγωγική ικανότητα αντιδρούν με τον Fe^{3+} (Potassium ferricyanide) και τον ανάγουν σε Fe^{2+} , ο οποίος όταν αντιδρά με τον χλωριούχο σίδηρο (Ferric chloride), οδηγεί στη δημιουργία ενός συμπλόκου με τιμή απορρόφησης στα 700nm. Μετά την προσθήκη του χλωριούχου σιδήρου το κίτρινο χρώμα του υπό εξέταση διαλύματος μεταβάλλεται σε αποχρώσεις μεταξύ του πράσινου και του μπλε ανάλογα με την αναγωγική ικανότητα της εξεταζόμενης ουσίας. Όσο μεγαλύτερη η απορρόφηση, τόσο μεγαλύτερη η αναγωγική ισχύς.

Chemical reaction:



Mechanism of reaction:



Εικόνα 15. Αναγωγή σιδήρου με Potassium ferricyanide. Πηγή. [4]

Πειραματική διαδικασία

Η προσθήκη των αντιδραστηρίων γίνεται σύμφωνα με τον πίνακα 8, αφότου πρώτα προηγηθούν οι απαραίτητες διαδοχικές αραιώσεις των δειγμάτων με αρχική συγκέντρωση 50μl/ml. Κάθε δείγμα παρασκευάζεται x2 φορές για αύξηση της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων.

Πίνακας 8. Αντιδραστήρια και στάδια εκτέλεσης της μεθόδου.

	Blank	Control	ΔΕΙΓΜΑ	ΔΕΙΓΜΑ – Pot. F (ΑΡΝΗΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ)
Sample	-	-	50μl	50μl
Phosphate buffer	500μl	250μl	200μl	450μl
Potassium ferricyanide	-	250μl	250μl	-
Ανάδευση και επώαση στους 50 °C για 20min.				
TCA	250μl	250μl	250μl	250μl
Φυγοκέντρηση στα 3000rpm για 10min.				
Μεταφορά 700μl από το υπερκείμενο σε νέα eppendorfs.				

dH₂O	250μl	250μl	250μl	250μl
Ferric chloride	50μl	50μl	50μl	50μl
Ανάδευση και επώαση για 10min σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι.				

Στο τελικό στάδιο της μεθόδου ακολουθεί η φωτομέτρηση στα 700nm. Πρώτα γίνεται μηδενισμός με το blank και έπειτα, εξετάζεται κάθε δείγμα εις διπλούν. Για να ελεγχθεί αν η υπό εξέταση ουσία καθαυτή απορροφά στα 700nm, εξετάζεται και η απορρόφηση κάθε δείγματος απουσία του Potassium ferricyanide (αρνητικός μάρτυρας), η οποία αφαιρείται από την τελική απορρόφηση της αντίδρασης.

Ο υπολογισμός της αναγωγικής ικανότητας γίνεται με την εξίσωση:

$$\% \text{ Reducing Power} = \frac{\text{απορρόφηση control} - \text{απορρόφηση δείγματος}}{\text{απορρόφηση control}} \times 100$$

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

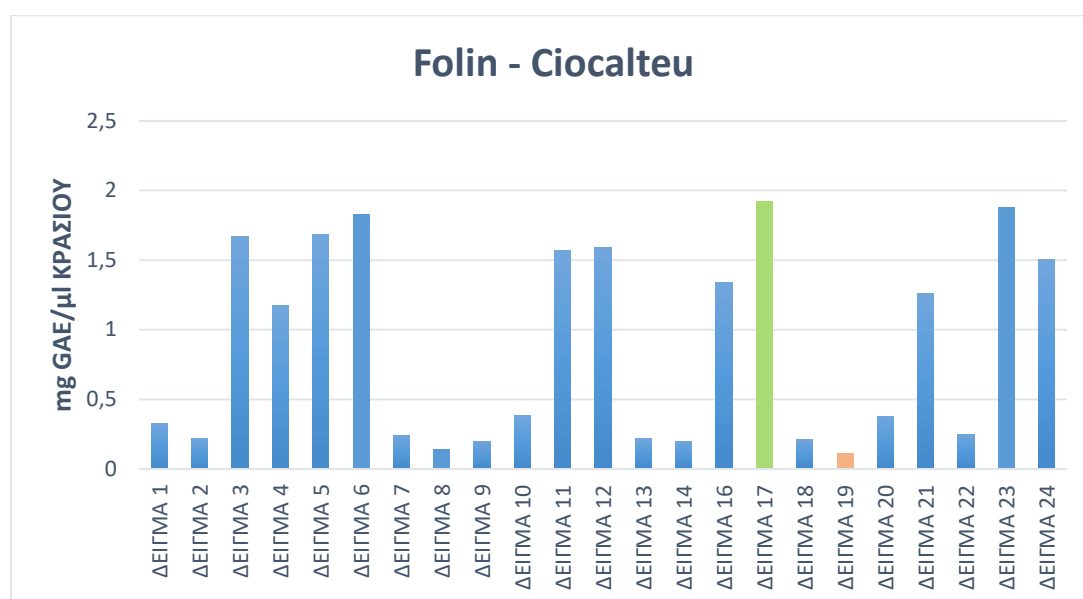
Δείγματα οίνου

Πίνακας 9. Αποτελέσματα των μετρήσεων για τις *in vitro* μεθόδους Folin – Ciocalteu (mg GAE/μl δείγματος), Superoxide (IC50) και Reducing Power (AU0,5) για το σύνολο των δειγμάτων οίνου.

	ΔΕΙΓΜΑ ΚΡΑΣΙΟΥ	mg GAE/μl κρασιού	IC50 (μl)	AU0,5 (μl)
ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ	ΔΕΙΓΜΑ 8	0,146	17,086	11,966
	ΔΕΙΓΜΑ 13	0,222	14,277	9,630
	ΔΕΙΓΜΑ 14	0,199	15,075	9,180
	ΔΕΙΓΜΑ 18	0,216	16,131	9,775
	ΔΕΙΓΜΑ 19	0,113	29,262	16,860
ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	ΔΕΙΓΜΑ 3	1,670	2,618	1,163
	ΔΕΙΓΜΑ 4	1,173	2,431	0,879
	ΔΕΙΓΜΑ 5	1,682	2,376	1,126
	ΔΕΙΓΜΑ 6	1,828	1,884	0,962
	ΔΕΙΓΜΑ 17	1,922	1,163	0,610
	ΔΕΙΓΜΑ 23	1,878	2,318	1,550
	ΔΕΙΓΜΑ 24	1,501	1,946	1,305
ΑΣΥΡΤΙΚΟ	ΔΕΙΓΜΑ 1	0,330	15,476	6,647
	ΔΕΙΓΜΑ 2	0,222	17,208	10,902
	ΔΕΙΓΜΑ 7	0,240	15,355	8,336
	ΔΕΙΓΜΑ 9	0,201	19,415	9,685
	ΔΕΙΓΜΑ 10	0,383	14,173	5,425
	ΔΕΙΓΜΑ 20	0,381	9,032	5,570
	ΔΕΙΓΜΑ 22	0,249	18,350	7,685
ΑΓΙΩΡΓΙΤΙΚΟ	ΔΕΙΓΜΑ 11	1,569	1,990	1,365
	ΔΕΙΓΜΑ 12	1,593	2,230	1,235
	ΔΕΙΓΜΑ 16	1,341	2,076	1,480
	ΔΕΙΓΜΑ 21	1,257	2,391	1,490

4.1 Μέτρηση συνολικού πολυφαινολικού περιεχομένου σε δείγματα οίνου μέσω της μεθόδου Folin – Ciocalteu

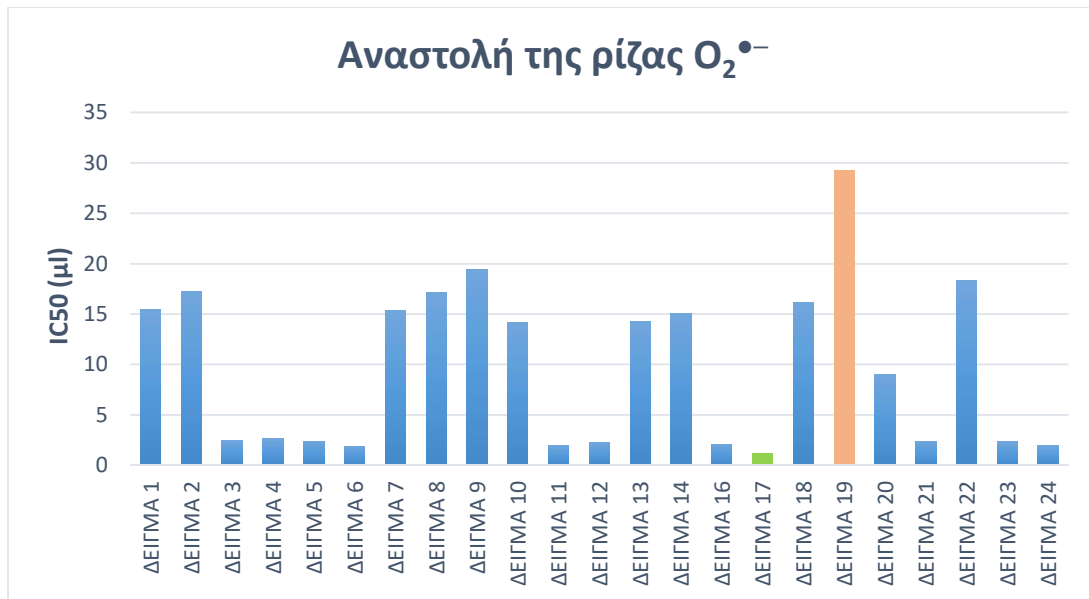
Με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu έγινε ο προσδιορισμός του συνόλου των πολυφαινολών που εμπεριέχονται στα υπό εξέταση δείγματα και οι μετρήσεις εκφράζονται σε mg γαλλικού οξέος (GAE)/ μl δείγματος. Τα δείγματα που σημείωσαν τις υψηλότερες τιμές στη μέθοδο χαρακτηρίζονται αντίστοιχα από υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο. Σύμφωνα με το διάγραμμα 1, το δείγμα 17 (ποικιλία Ξινόμαυρου) εμφανίζει την υψηλότερη συγκέντρωση σε πολυφαινόλες μεταξύ των δειγμάτων, σε αντίθεση με το δείγμα 19 (ποικιλία Μαλαγουζιάς) που εμφανίζει τη χαμηλότερη.



Διάγραμμα 1. Αποτελέσματα των μετρήσεων των δειγμάτων οίνου για τη μέθοδο Folin – Ciocalteu εκφρασμένα σε mg GAE/ μl δείγματος.

4.2 Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας σε δείγματα οίνου μέσω αλληλεπίδρασης με τη ρίζα $O_2^{\bullet-}$

Με τη μέθοδο αναστολής της ρίζας $O_2^{\bullet-}$ έγινε η μέτρηση της αντιοξειδωτικής ισχύος των εξεταζόμενων δειγμάτων και τα αποτελέσματα εκφράζονται σε τιμές IC50 που υποδεικνύουν τη συγκέντρωση δείγματος που απαιτείται για την εξουδετέρωση της ρίζας κατά 50%. Όσο μικρότερη είναι η τιμή IC50 τόσο πιο ισχυρή είναι η αντιοξειδωτική ισχύς του υπό εξέταση δείγματος. Σύμφωνα με το διάγραμμα 2, το δείγμα 17 (ποικιλία Ξινόμαυρου) εμφάνισε τη μεγαλύτερη δραστηριότητα, ενώ το δείγμα 19 (ποικιλία Μαλαγουζιάς) την χαμηλότερη.



Διάγραμμα 2. Αποτελέσματα των μετρήσεων των δειγμάτων οίνου για τη μέθοδο Superoxide radical scavenging activity εκφρασμένα σε τιμές IC50.

4.3 Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας σε δείγματα οίνου μέσω αναγωγής του Fe^{3+} σε Fe^{2+}

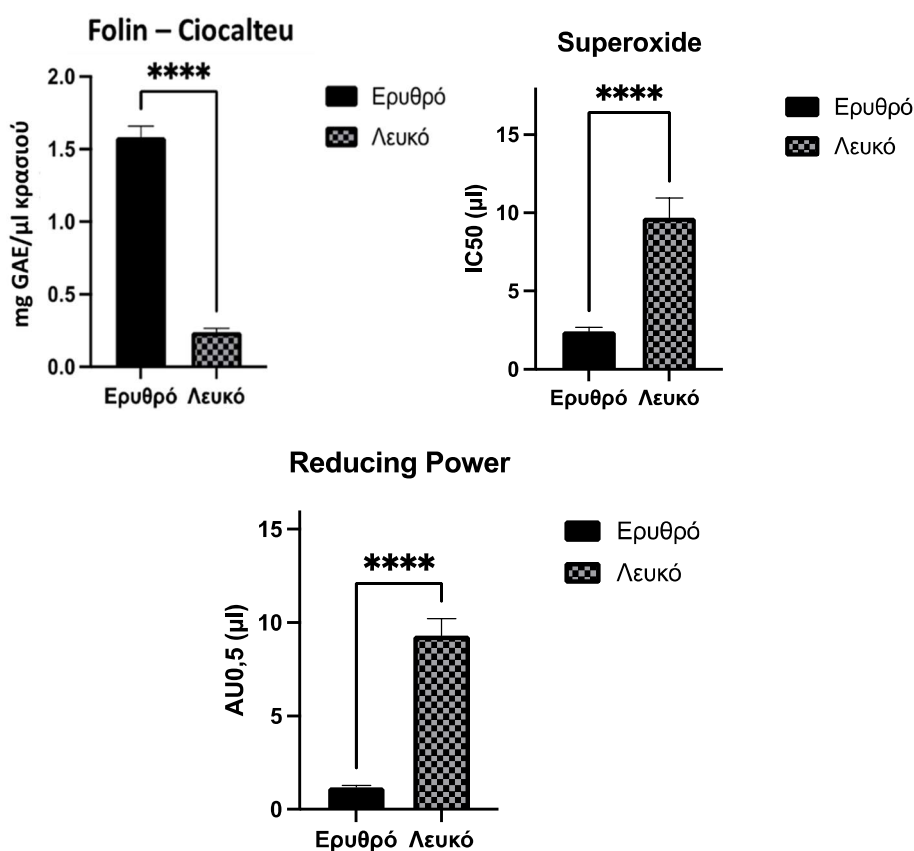
Με τη μέθοδο αναγωγικής ισχύος προσδιορίστηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων και οι μετρήσεις εκφράζονται σε τιμές AU0,5 που υποδεικνύουν τη συγκέντρωση δείγματος που αντιστοιχεί σε μέτρηση οπτικής απορρόφησης ίση με 0,5. Όσο μικρότερη η τιμή AU0,5 τόσο μεγαλύτερη αναγωγική ικανότητα χαρακτηρίζει το εξεταζόμενο δείγμα. Σύμφωνα με το διάγραμμα 3, το δείγμα 17 (ποικιλία Ξινόμαυρου) εμφανίζει τη μέγιστη αναγωγική ισχύ, ενώ το δείγμα 19 (ποικιλία Μαλαγουζιάς) την ασθενέστερη.



Διάγραμμα 3. Αποτελέσματα των μετρήσεων των δειγμάτων οίνου για τη μέθοδο Ferric Reducing Antioxidant Power εκφρασμένα σε τιμές AU0,5.

4.4 Σύγκριση των δειγμάτων οίνου με βάση το χρώμα

Με βάση τα αποτελέσματα του συνόλου των δειγμάτων διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ λευκού και ερυθρού οίνου και στις τρεις in vitro μεθόδους, με το τελευταίο να εμφανίζει σημαντικά υψηλότερη περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες και αντιοξειδωτική ισχύ. Η μέθοδος στατιστικής ανάλυσης που εφαρμόστηκε είναι η One-way ANOVA σε συνδυασμό με το GraphPad Prism 9.

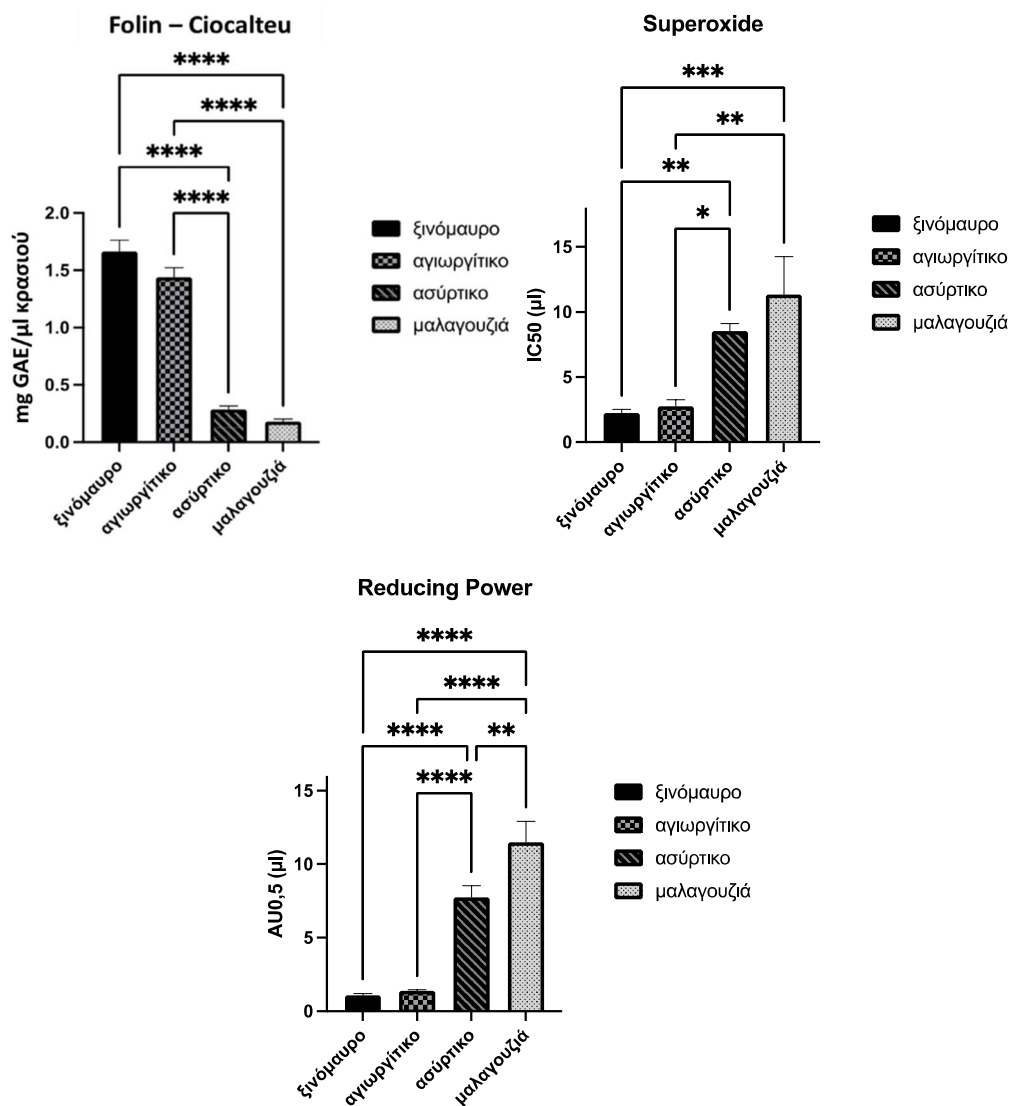


Διάγραμμα 4. Σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας μεταξύ των δειγμάτων οίνου με βάση το χρώμα τους για τις μεθόδους Folin-Ciocalteu, Superoxide, Reducing Power. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως mean ± SEM με * $p < 0,05$.

4.5 Σύγκριση των δειγμάτων οίνου με βάση την ποικιλία αμπέλου

Με βάση τα αποτελέσματα του συνόλου των δειγμάτων διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των τεσσάρων ποικιλιών οίνου που μελετήθηκαν και στις τρεις μεθόδους. Το Ξινόμαυρο από τις ερυθρές ποικιλίες παρουσίασε τη μεγαλύτερη δραστηριότητα, ενώ αντίθετα η Μαλαγουζιά από τις λευκές ποικιλίες παρουσίασε την

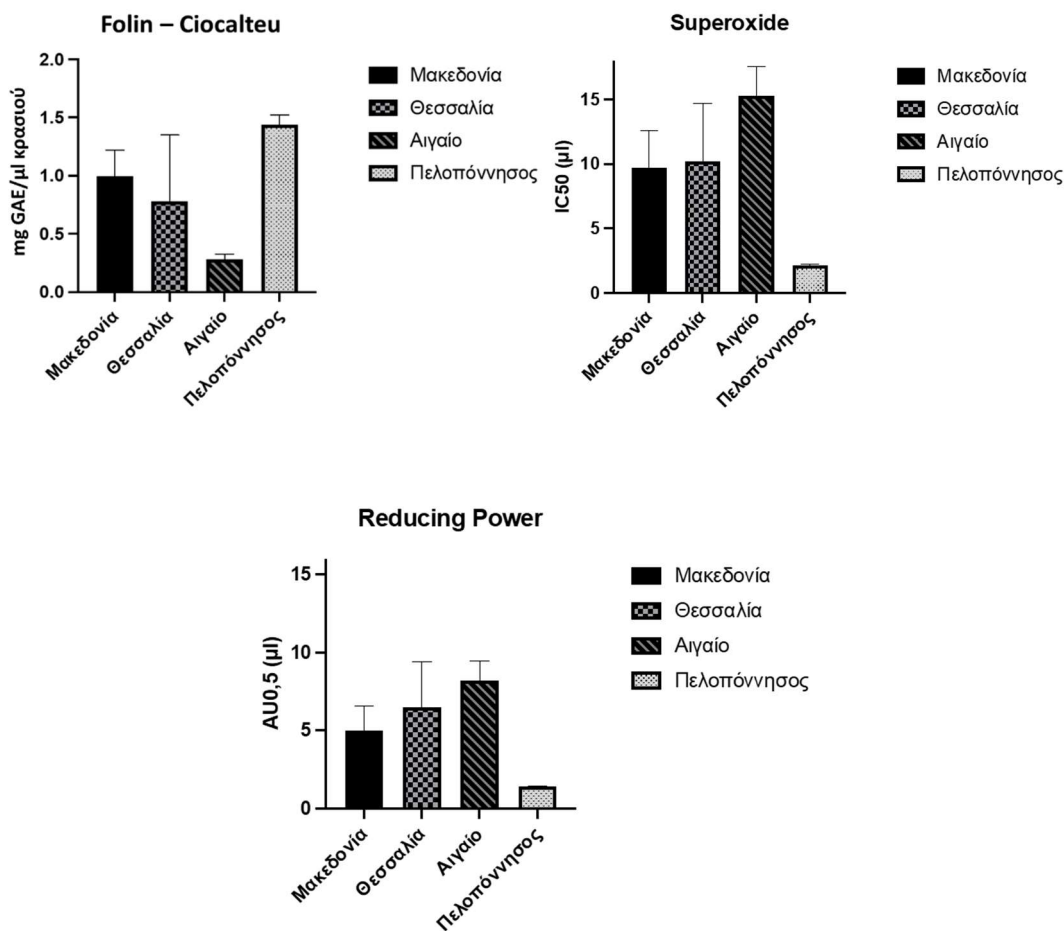
ασθενέστερη. Η μέθοδος στατιστικής ανάλυσης που εφαρμόστηκε είναι η One-way ANOVA σε συνδυασμό με το GraphPad Prism 9.



Διάγραμμα 5. Σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας μεταξύ των διαφορετικών ποικιλιών αμπέλου των δειγμάτων για τις μεθόδους Folin-Ciocalteu, Superoxide, Reducing Power. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως mean ± SEM με * $p < 0,05$.

4.6 Σύγκριση των δειγμάτων οίνου με βάση την περιοχή παραγωγής

Με βάση τα αποτελέσματα του συνόλου των δειγμάτων δεν διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των διαφορετικών περιοχών οινοπαραγωγής που μελετήθηκαν σε καμία από τρεις in vitro τεχνικές. Η μέθοδος στατιστικής ανάλυσης που εφαρμόστηκε είναι η One-way ANOVA σε συνδυασμό με το GraphPad Prism 9.



Διάγραμμα 6. Σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας μεταξύ των διαφορετικών περιοχών οινοπαραγωγής των δειγμάτων για τις μεθόδους Folin-Ciocalteu, Superoxide, Reducing Power. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως mean ± SEM.

Δείγματα ζύθου

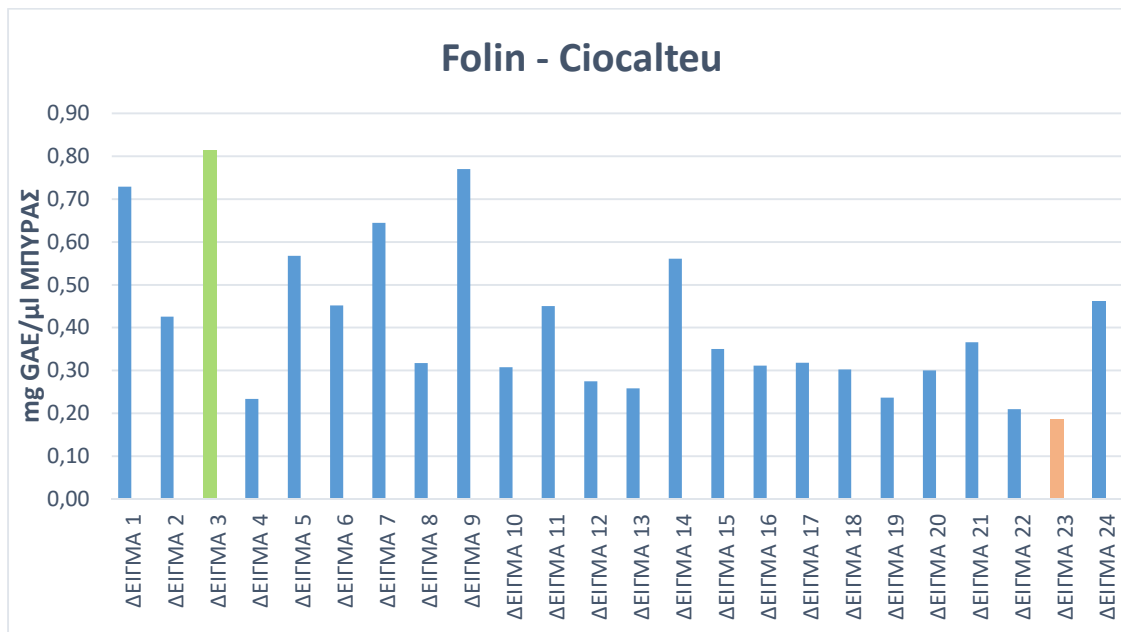
Πίνακας 10. Αποτελέσματα των μετρήσεων για τις *in vitro* μεθόδους Folin – Ciocalteu (mg GAE/μl δείγματος), Superoxide (IC50) και Reducing Power (AU0,5) για το σύνολο των δειγμάτων ζύθου.

ΔΕΙΓΜΑ ΜΠΥΡΑΣ	mg GAE/μl μπύρας	IC50 (μl)	AU0,5 (μl)	
ALE	ΔΕΙΓΜΑ 1	0,73	16,58	4,60
	ΔΕΙΓΜΑ 3	0,81	19,08	4,81
	ΔΕΙΓΜΑ 5	0,57	21,43	6,94
	ΔΕΙΓΜΑ 6	0,45	20,39	8,32
	ΔΕΙΓΜΑ 7	0,64	18,21	6,36
	ΔΕΙΓΜΑ 9	0,77	10,27	3,80
	ΔΕΙΓΜΑ 11	0,45	21,64	5,80
	ΔΕΙΓΜΑ 21	0,37	30,53	11,97

LAGER	ΔΕΙΓΜΑ 2	0,43	27,13	8,74
	ΔΕΙΓΜΑ 4	0,23	38,55	15,65
	ΔΕΙΓΜΑ 8	0,32	33,32	12,29
	ΔΕΙΓΜΑ 10	0,31	35,24	14,71
	ΔΕΙΓΜΑ 12	0,27	35,18	15,56
	ΔΕΙΓΜΑ 13	0,26	36,52	14,26
	ΔΕΙΓΜΑ 14	0,56	18,92	6,78
	ΔΕΙΓΜΑ 15	0,35	26,42	9,62
	ΔΕΙΓΜΑ 16	0,31	37,45	13,59
	ΔΕΙΓΜΑ 17	0,32	34,24	12,09
	ΔΕΙΓΜΑ 18	0,30	34,52	14,65
	ΔΕΙΓΜΑ 19	0,24	38,55	17,64
	ΔΕΙΓΜΑ 20	0,30	36,76	17,47
	ΔΕΙΓΜΑ 22	0,21	60,01	26,23
	ΔΕΙΓΜΑ 23	0,19	63,10	30,21
	ΔΕΙΓΜΑ 24	0,46	21,53	8,23

4.7 Μέτρηση συνολικού πολυφαινολικού περιεχομένου σε δείγματα ζύθου μέσω της μεθόδου Folin – Ciocalteu

Σύμφωνα με το διάγραμμα 7 όπου απεικονίζεται το σύνολο των δειγμάτων ζύθου που μελετήθηκαν, το δείγμα 3 (τύπος ale) εμφανίζει την υψηλότερη περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες, ενώ το δείγμα 23 (τύπος lager) τη χαμηλότερη.



Διάγραμμα 7. Αποτελέσματα των μετρήσεων των δειγμάτων ζύθου για τη μέθοδο Folin – Ciocalteu εκφρασμένα σε mg GAE/ μl δείγματος.

4.8 Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας σε δείγματα ζύθου μέσω αλληλεπίδρασης με τη ρίζα $O_2^{\bullet-}$

Σύμφωνα με το διάγραμμα 8, το δείγμα 9 (τύπος ale) εμφάνισε την υψηλότερη ικανότητα εξουδετέρωσης της ρίζας σουπεροξειδίου, ενώ το δείγμα 23 (τύπος lager) τη χαμηλότερη.



Διάγραμμα 8. Αποτελέσματα των μετρήσεων των δειγμάτων ζύθου για τη μέθοδο Superoxide radical scavenging activity εκφρασμένα σε τιμές IC50.

4.9 Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας σε δείγματα ζύθου μέσω αναγωγής του Fe^{3+} σε Fe^{2+}

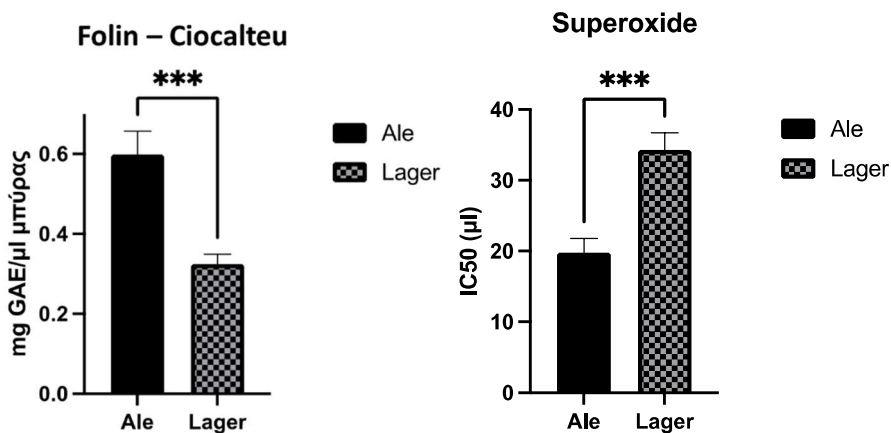
Σύμφωνα με το διάγραμμα 9, το δείγμα 9 (τύπος ale) εμφανίζει την υψηλότερη αναγωγική ισχύ, ενώ το δείγμα 23 (τύπος lager) την ασθενέστερη.

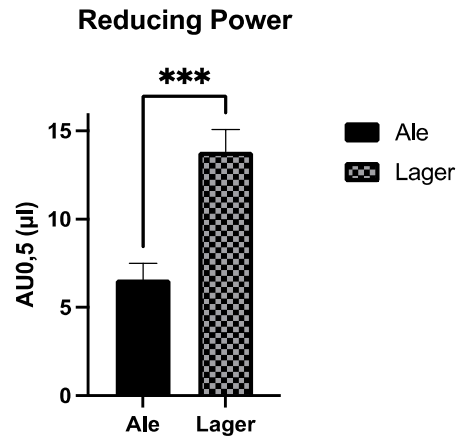


Διάγραμμα 9. Αποτελέσματα των μετρήσεων των δειγμάτων ζύθου για τη μέθοδο Ferric Reducing Antioxidant Power εκφρασμένα σε τιμές AU0,5.

4.10 Σύγκριση των δειγμάτων ζύθου με βάση τον τύπο ale και lager

Με βάση τις μετρήσεις από το σύνολο των δειγμάτων ζύθου που μελετήθηκαν, διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των τύπων ale και lager και στις τρεις in vitro τεχνικές, με τις μύρες της πρώτης κατηγορίας να εμφανίζουν αισθητά μεγαλύτερη συγκέντρωση πολυφαινολών και αντιοξειδωτική ικανότητα. Η μέθοδος στατιστικής ανάλυσης που εφαρμόστηκε είναι η One-way ANOVA σε συνδυασμό με το GraphPad Prism 9.





Διάγραμμα 10. Σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας μεταξύ των διαφορετικών τύπων ζύθου των δειγμάτων για τις μεθόδους *Folin-Ciocalteu*, *Superoxide*, *Reducing Power*. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως *mean ± SEM* με $*p < 0,05$.

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο αερόβιος μεταβολισμός χαρακτηρίζεται από μια συνεχή παραγωγή ελευθέρων ριζών όπως δραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου (ROS και RNS, αντίστοιχα), τα οποία παράγονται υπό φυσιολογικές συνθήκες ως μέρος αρκετών διεργασιών συμπεριλαμβανομένων των οδών μεταγωγής σήματος. Ο διττός ρόλος που εμφανίζουν ως επιβλαβή αλλά και ευεργετικά είδη κρίνεται με βάση τις συγκεντρώσεις τους. Οι ωφέλιμες επιδράσεις τους εμφανίζονται σε χαμηλές ή μέτριες συγκεντρώσεις και περιλαμβάνουν κυτταρική απόκριση σε τραυματισμούς, κυτταρική σηματοδότηση και επαγωγή μιτογόνων αποκρίσεων, ενώ οι επιβλαβείς επιδράσεις τους είναι αποτέλεσμα είτε της υπερπαραγωγής τους είτε της μείωσης της αντιοξειδωτικής άμυνας και προκαλούν μία σειρά βιολογικών βλαβών. Κάθε κύτταρο χαρακτηρίζεται από μια συγκεκριμένη συγκέντρωση οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών στοιχείων και όποια ανισορροπία προκληθεί μεταξύ των δύο διαταράσσει την οξειδοαναγωγική ομοιόσταση του κυττάρου και οδηγεί σε οξειδωτικό στρες.

Μία σημαντική κατηγορία αντιοξειδωτικών ενώσεων είναι οι πολυφαινόλες, οι οποίες αποτελούν δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών και μπορούν να ληφθούν απευθείας από φυτά, από τρόφιμα πλούσια σε αντιοξειδωτικά ή από φαρμακευτικά συμπληρώματα, κερδίζοντας την προσοχή σε παγκόσμιο επίπεδο ως διατροφο-φαρμακευτικά προϊόντα για την πρόληψη πολλών ασθενειών. Από χημικής άποψης, η αντιοξειδωτική δράση τους αποδίδεται στο ότι είναι εξαιρετικοί δότες πρωτονίων στα ασταθή δραστικά είδη, καθιστώντας τα λιγότερο δραστικά ή μη δραστικά. Οι τροποποιήσεις των χημικών δομών τους μπορούν να βελτιώσουν την απορρόφηση τους, τη βιοδιαθεσιμότητα τους και την ικανότητα τους να διασχίζουν τις μεμβράνες και τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, αλλά επίσης επηρεάζουν σημαντικά την δραστηριότητα τους έναντι των ελευθέρων ριζών, η οποία καθορίζεται από τον αριθμό και τη θέση των ομάδων υδροξυλίου στη δομή τους και τη φύση των άλλων ομάδων υποκατάστασης στον αρωματικό δακτύλιο [11,23,24,35,40,45].

Ο οίνος και ο ζύθος είναι δύο ροφήματα που έχουν μελετηθεί εκτενώς για την αντιοξειδωτική ισχύ τους και συγκεντρώνουν έντονο ενδιαφέρον για τη διατροφική αξία τους λόγω των βιοδραστικών ενώσεων που περιέχουν. Η κύρια πηγή του αντιοξειδωτικού δυναμικού τους είναι οι πολυφαινολικές ενώσεις και η συνεργιστική δράση αυτών, με αποδεδειγμένη θετική επίδραση σε καρδιαγγειακές παθήσεις, χρόνιες εκφυλιστικές ασθένειες και σε διάφορους τύπους καρκίνου [6,36,37].

Η παρουσία πολυφαινολών στα δύο ροφήματα είναι καθοριστικής σημασίας και για την ποιοτική σύστασή τους. Καθορίζουν αισθητηριακές ιδιότητες (γεύση και άρωμα) και χαρακτηριστικά όπως το χρώμα, τη διαύγεια, τη μικροβιολογική και οξειδωτική σταθερότητα, αλλά και χημικές ιδιότητες, καθώς αλληλεπιδρούν με άλλες ενώσεις

που περιλαμβάνουν άλλες πολυφαινόλες, πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες. Μεταβολές στη συγκέντρωση και το είδος των φαινολικών ενώσεων εξαρτώνται από πολλές παραμέτρους όπως πρώτες ύλες, περιβαλλοντικές συνθήκες καλλιέργειας, τεχνολογικές διαδικασίες, ωρίμανση και αποθήκευση τελικού προϊόντος [5,12,13,26].

Το περιεχόμενο των φαινολικών ενώσεων μεταξύ οίνου και ζύθου διαφέρει σημαντικά, πρωτίστως λόγω των διαφορετικών πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τους. Μερικές πολυφαινολικές ομάδες εντοπίζονται σε εκτενέστερο βαθμό στη μύρα όπως οι χαλκόνες και οι φλαβονόνες, άλλες εντοπίζονται κυρίως στο κρασί όπως τα στιλβενοειδή και οι ανθοκυανίνες, ενώ υπάρχουν και ομάδες φαινολικών που εντοπίζονται σε παρόμοιες συγκεντρώσεις και στα δύο [36].

Στην παρούσα διπλωματική εργασία έγινε *in vitro* εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας ελληνικών οίνων και ζύθου μέσω της εφαρμογής των μεθόδων Folin – Ciocalteu, Superoxide radical scavenging activity και Ferric reducing antioxidant power, καθώς και σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ των ερυθρών και λευκών ποικιλιών οίνου και των τύπων ζύθου. Οι ποικιλίες οίνου που μελετήθηκαν είναι το Ασύρτικο και η Μαλαγουζιά από τις λευκές ποικιλίες και το Ξινόμαυρο και το Αγιωργίτικο από τις ερυθρές ποικιλίες, και όσον αφορά τον ζύθο μελετήθηκαν οι τύποι lager και ale.

Δείγματα οίνου

Στο σύνολο και των τριών *in vitro* μεθόδων οι ερυθρές ποικιλίες οίνου εμφάνισαν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ισχύ και υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο σε σχέση με τις λευκές ποικιλίες. Η διαφορά αυτή οφείλεται στο στάδιο της διαβροχής που πραγματοποιείται παράλληλα με την αλκοολική ζύμωση κατά την ερυθρή οινοποίηση, με αποτέλεσμα ο μούστος να βρίσκεται σε διαρκή επαφή με όλα τα υπόλοιπα τμήματα των σταφυλιών (φλοιούς, σπόρους, μίσχους) και να επιτυγχάνεται η μέγιστη εκχύλιση πολυφαινολών (και χρώματος). Αντίθετα, κατά την λευκή οινοποίηση αξιοποιείται μόνο ο χυμός των φρούτων. Ένας άλλος παράγοντας που πιθανόν οδηγεί σε αυξημένη συγκέντρωση πολυφαινολικών ενώσεων στους ερυθρούς οίνους είναι η εκτεταμένη ωρίμανσή τους σε δρύινα βαρέλια, τα οποία απελευθερώνουν τανίνες [31,36].

Διαφορές εντοπίστηκαν και εντός των ερυθρών και λευκών ποικιλιών, αντίστοιχα, με το Ξινόμαυρο και το Ασύρτικο να εμφανίζουν μεγαλύτερη συγκέντρωση πολυφαινολών και ικανότητα εξουδετέρωσης ελευθέρων ριζών, αποτελέσματα που συμφωνούν με άλλες προγενέστερες αναλύσεις των τεσσάρων αυτών ποικιλιών [43]. Τέτοιες διαφορές πιθανόν οφείλονται στα διαφορετικά είδη και συγκεντρώσεις πολυφαινολικών ενώσεων που χαρακτηρίζουν την εκάστοτε ποικιλία, καθώς επίσης και στα στάδια επεξεργασίας που ακολουθούνται κατά την παραγωγική διαδικασία.

Σχετικά με τις διαφορετικές περιοχές οινοπαραγωγής, οι οποίες είναι αναλυτικά η Μακεδονία, η Θεσσαλία, το Αιγαίο Πέλαγος και η Πελοπόννησος, δεν βρέθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων λόγω του ανομοιόμορφου αριθμού δειγμάτων που μελετήθηκαν από την εκάστοτε περιοχή. Συγκεκριμένα από τη Θεσσαλία μελετήθηκαν τρία δείγματα (δύο δείγματα Μαλαγουζιάς και ένα δείγμα Ξινόμαυρου), από την Πελοπόννησο μελετήθηκαν τέσσερα δείγματα (τέσσερα δείγματα Αγιοργίτικου), από το Αιγαίο Πέλαγος μελετήθηκαν πέντε δείγματα (τέσσερα δείγματα Ασύρτικου και ένα δείγμα Μαλαγουζιάς) και από την Μακεδονία μελετήθηκαν δέκα δείγματα (ένα δείγμα Μαλαγουζιάς, τρία δείγματα Ασύρτικου και έξι δείγματα Ξινόμαυρου).

Δείγματα ζύθου

Όσον αφορά τα δείγματα ζύθου, τα αποτελέσματα των μετρήσεων έδειξαν ισχυρότερη ικανότητα εξουδετέρωσης τις ρίζας σουπεροξειδίου και αναγωγική ισχύ στις μύρες τύπου ale, όπως επίσης και υψηλότερο συνολικό πολυφαινόλικό περιεχόμενο. Η ταξινόμηση της μύρας στους τύπους ale και lager βασίζεται στο αν η ζύμωση είναι υψηλή ή χαμηλή, αντίστοιχα, και σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, οι μύρες τύπου ale εμφανίζουν υψηλότερη αντιοξειδωτική ισχύ λόγω των υψηλότερων θερμοκρασιών ζύμωσης στις οποίες υπόκεινται [25,26]. Άλλοι παράγοντες που μεταβάλλουν την περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες είναι η ποικιλία των πρώτων υλών, οι συνθήκες καλλιέργειας και τα διάφορα τεχνολογικά στάδια από τη βυνοποίηση έως την εμφιάλωση του τελικού προϊόντος.

Μεταξύ των πιο ισχυρών φλαβονοειδών που εντοπίζονται στη μύρα είναι η ξανθοχουμόλη, η οποία προέρχεται από τον λυκίσκο, και το προϊόν κυκλοποίησης της η ισοξανθοχουμόλη, οι οποίες έχουν μελετηθεί εκτενώς για τις αντικαρκινικές ιδιότητές τους [1,26,33,46]. Άλλες ενώσεις (μη φαινολικές) με αντιοξειδωτική ικανότητα και βιοδραστικές ιδιότητες είναι τα πικρά οξέα του λυκίσκου (α- και β-οξέα) και οι μελανοϊδίνες. Η συνολική παρουσία αντιοξειδωτικών ενώσεων στη μύρα και η συνεργιστική δράση αυτών παρέχει ανοσολογικά και καρδιαγγειακά οφέλη και οδηγούν σε αύξηση της πυκνότητας των οστών [1,6,37].

Σύγκριση οίνου – ζύθου

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα από το σύνολο των δειγμάτων και των δύο ροφημάτων και για τις τρεις in vitro μεθόδους, το κρασί παρουσίασε μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ισχύ και υψηλότερη περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες σε σχέση με τη μύρα. Τα δύο προϊόντα διαφέρουν πρωτίστως στις πρώτες ύλες από τις οποίες παρασκευάζονται, επομένως τα είδη και οι συγκεντρώσεις των πολυφαινολικών ενώσεων που περιέχουν διαφέρουν. Ακόμα, για την παραγωγή κάθε ροφήματος ακολουθείται μία εντελώς ανεξάρτητη πορεία διαχείρισης και επεξεργασίας των

πρώτων υλών με διαφορετικά τεχνολογικά στάδια, εξοπλισμό και γενικά, απαιτήσεις υλοποίησης.

Μελλοντικοί στόχοι

Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι οι αγορές ζύθου και οίνου γίνονται όλο και πιο ανταγωνιστικές και κορεσμένες, και δεδομένου ότι οι καταναλωτές σήμερα ενδιαφέρονται περισσότερο για ροφήματα που επιδρούν με θετικό τρόπο στην υγεία, αναπτύσσονται νέες τεχνολογίες με στόχο την παραγωγή προϊόντων με υψηλότερο αντιοξειδωτικό δυναμικό και διατροφική αξία [36].

Για την καλύτερη κατανόηση και ανάλυση των βιοδραστικών ιδιοτήτων των ελληνικών ποικιλιών οίνου και ζύθου, των μηχανισμών δράσης των συστατικών τους και τον προσδιορισμό του βαθμού πεπτικότητας και βιοδιαθεσιμότητάς τους απαιτείται οι έρευνες να επεκταθούν σε *in vivo* πειράματα μέσω της αξιοποίησης κυτταρικών σειρών, ζωικών μοντέλων και επιδημιολογικών και κλινικών δοκιμών στον άνθρωπο [8]. Τέτοιες μελέτες που ουσιαστικά στοχεύουν στην ποιοτική ανάδειξη τοπικών διατροφικών προϊόντων μπορούν να συνεισφέρουν δυναμικά στην οικονομική ενίσχυση της χώρας και να εντείνουν το ενδιαφέρον και τον ανταγωνισμό στις διεθνείς αγορές.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Ambra, Roberto, Gianni Pastore, and Sabrina Lucchetti. "The role of bioactive phenolic compounds on the impact of beer on health." *Molecules* 26.2 (2021): 486.
2. Aroh, Kenechukwu. "Beer production." Available at SSRN 3458983 (2019).
3. Bahmani, Mahya, et al. "Application of mass spectrometry-based proteomics to barley research." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 69.31 (2021): 8591-8609.
4. Bibi Sadeer, Nabeelah, et al. "The versatility of antioxidant assays in food science and safety—Chemistry, applications, strengths, and limitations." *Antioxidants* 9.8 (2020): 709
5. Castaldo, Luigi, et al. "Red wine consumption and cardiovascular health." *Molecules* 24.19 (2019): 3626.
6. De Gaetano, Giovanni, et al. "Effects of moderate beer consumption on health and disease: A consensus document." *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 26.6 (2016): 443-467.
7. DeSalle, Rob, and Ian Tattersall. *A natural history of beer*. Yale University Press, 2019
8. Durazzo, Alessandra, et al. "Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health." *Phytotherapy Research* 33.9 (2019): 2221-2243.
9. Elrod, Susan M. "Xanthohumol and the medicinal benefits of beer." *Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease*. Academic Press, 2018. 19-32.
10. Galán, José M., Betsy Morrell Bryan, and Peter Dorman, eds. *Creativity and Innovation in the Reign of Hatshepsut*. Oriental Institute of the University of Chicago, 2014
11. Gulcin, İlhami. "Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview." *Archives of toxicology* 94.3 (2020): 651-715
12. Gutiérrez-Escobar, Rocío, María José Aliaño-González, and Emma Cantos-Villar. "Wine polyphenol content and its influence on wine quality and properties: A review." *Molecules* 26.3 (2021): 718.
13. Habschied, Kristina, Ante Lončarić, and Krešimir Mastanjević. "Screening of polyphenols and antioxidative activity in industrial beers." *Foods* 9.2 (2020): 238.
14. Haida, Zainol, and Mansor Hakiman. "A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidant activities." *Food science & nutrition* 7.5 (2019): 1555-1563
15. Haseeb, Sohaib, et al. "What's in wine? A clinician's perspective." *Trends in Cardiovascular Medicine* 29.2 (2019): 97-106.
16. Hornsey I. "The biomolecular archaeology of ancient alcoholic beverages." *Brewer and Distiller International*, 2017

17. Hornsey, Ian Spencer. A history of beer and brewing. Vol. 34. Royal Society of Chemistry, 2003
18. Humia, Bruno Vieira, et al. "Beer molecules and its sensory and biological properties: A review." *Molecules* 24.8 (2019): 1568.
19. Hutzler, M., et al. "Yeast identification and characterization." *Brewing Microbiology*. Woodhead Publishing, 2015. 65-104.
20. Jaeger, Alice, et al. "Barley protein properties, extraction and applications, with a focus on brewers' spent grain protein." *Foods* 10.6 (2021): 1389.
21. Joshua J. Mark, *The Hymn to Ninkasi, Goddess of Beer*, World History Encyclopedia, 2011
22. Lazarakis, Konstantinos. *The wines of Greece*. Hachette UK, 2005.
23. Losada-Barreiro, Sonia, and Carlos Bravo-Diaz. "Free radicals and polyphenols: The redox chemistry of neurodegenerative diseases." *European journal of medicinal chemistry* 133 (2017): 379-402
24. Luo, Jiao, et al. "Ageing, age-related diseases and oxidative stress: what to do next?" *Ageing research reviews* 57 (2020): 100982.
25. Marcos, Ascensión, et al. "Moderate consumption of beer and its effects on cardiovascular and metabolic health: An updated review of recent scientific evidence." *Nutrients* 13.3 (2021): 879.
26. Martinez-Gomez, Alvaro, Isabel Caballero, and Carlos A. Blanco. "Phenols and melanoidins as natural antioxidants in beer. Structure, reactivity and antioxidant activity." *Biomolecules* 10.3 (2020): 400.
27. McGovern, Patrick E. *Ancient wine: the search for the origins of viniculture*, Princeton University Press, 2003
28. McGovern, Patrick E., Stuart J. Fleming, and Solomon H. Katz, eds. *The origins and ancient history of wine: food and nutrition in history and anthropology*. Routledge, 2003.
29. Munteanu, Irina Georgiana, and Constantin Apetrei. "Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review." *International Journal of Molecular Sciences* 22.7 (2021): 3380
30. Nelson, Max. *The barbarian's beverage: a history of beer in ancient Europe*. Routledge, 2005
31. Nickles, Jane. *Certified Specialist of Wine*. Society of Wine Educators, 2018
32. Oroian, Mircea, and Isabel Escriche. "Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis." *Food Research International* 74 (2015): 10-36
33. Osorio-Paz, Ixchel, Regina Brunauer, and Silvestre Alavez. "Beer and its non-alcoholic compounds in health and disease." *Critical reviews in food science and nutrition* 60.20 (2020): 3492-3505.
34. Phillips, Rod. *Wine: A social and cultural history of the drink that changed our lives*. Infinite Ideas, 2018.
35. Pizzino, Gabriele, et al. "Oxidative stress: harms and benefits for human health." *Oxidative medicine and cellular longevity* 2017 (2017)

36. Radonjić, Sanja, et al. "Wine or beer? Comparison, changes and improvement of polyphenolic compounds during technological phases." *Molecules* 25.21 (2020): 4960.
37. Redondo, Noemí, et al. "Effects of moderate beer consumption on health." *Nutricion hospitalaria* 35.6 (2018): 41-44.
38. Reid, Ann, and M. Ingerson-Mahar. "If the yeast ain't happy, ain't nobody happy: the microbiology of beer." *If the yeast ain't happy, ain't nobody happy: the microbiology of beer.* (2013).
39. Rudolf H. Michel, Patrick E. McGovern, Virginia R. Badler. *Chemical evidence for ancient beer*, *Nature*, Vol 360, 1992
40. Sharma, Ganesh N., Gaurav Gupta, and Piyush Sharma. "A comprehensive review of free radicals, antioxidants, and their relationship with human ailments." *Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression* 28.2 (2018)
41. Sicard, Delphine, and Jean-Luc Legras. "Bread, beer and wine: yeast domestication in the *Saccharomyces sensu stricto* complex." *Comptes rendus biologies* 334.3 (2011): 229-236.
42. Singla, Rajeev K., et al. "Natural polyphenols: Chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures." *Journal of AOAC International* 102.5 (2019): 1397-1400.
43. Tekos, Fotios, et al. "Assessment of antioxidant and antimutagenic properties of red and white wine extracts in vitro." *Metabolites* 11.7 (2021): 436.
44. Tronina, Tomasz, Jarosław Popłoński, and Agnieszka Bartmańska. "Flavonoids as phytoestrogenic components of hops and beer." *Molecules* 25.18 (2020): 4201.
45. Vona, Rosa, et al. "Biomarkers of oxidative stress in metabolic syndrome and associated diseases." *Oxidative medicine and cellular longevity* 2019 (2019).
46. Wannemacher, Julia, Martina Gastl, and Thomas Becker. "Phenolic substances in beer: Structural diversity, reactive potential and relevance for brewing process and beer quality." *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17.4 (2018): 953-988.
47. Zugravu, Corina-Aurelia, et al. "Antioxidants in Hops: Bioavailability, Health Effects and Perspectives for New Products." *Antioxidants* 11.2 (2022): 241.
48. <https://winesofgreece.org/el/>
49. <https://www.ellinikienosizithopoion.gr/>
50. <https://beer-studies.com/en/world-history/Birth-of-brewing/Archaic-beers/Crete-Greece>



Διάγραμμα 1. Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος.