



Τεχνολογικό  
Πανεπιστήμιο  
Κύπρου

Σχολή Γεωτεχνικών Επιστημών και  
Διαχείρισης Περιβάλλοντος

**Πτυχιακή εργασία**

***IN VITRO* ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ,  
ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΤΙ-ΥΠΕΡΤΑΣΙΚΩΝ  
ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΜΕΛΑΝΟΪΔΙΝΩΝ ΚΟΥΜΑΝΔΑΡΙΑΣ**

**Δήμητρα Νικολάου**

**Λεμεσός, Απρίλιος 2017**

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ  
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ  
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ  
ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Πτυχιακή εργασία  
*IN VITRO* ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ,  
ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΤΙ-ΥΠΕΡΤΑΣΙΚΩΝ  
ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΜΕΛΑΝΟΪΔΙΝΩΝ ΚΟΥΜΑΝΔΑΡΙΑΣ  
Δήμητρας Νικολάου

Επιβλέπων Καθηγητής  
Δρ. Βλάσης Γούλας

Λεμεσός, Απρίλιος 2017

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Κουμανδαρία είναι ένα ερυθρό γλυκό κρασί, που παράγεται από αφυδατωμένα σταφύλια των γηγενών ποικιλιών 'Μαύρο' και 'Ξυνιστέρι'. Η αφυδάτωση των σταφυλιών επιτυγχάνεται με έκθεση στο ήλιο και συνοδεύεται από ένα σύνολο βιοχημικών μεταβολών. Εκτός από την συμπύκνωση των σακχάρων, σχηματίζονται μέσω της αντίδρασης Maillard οι μελανοΐδινες με το χαρακτηριστικό καστανό χρώμα. Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η απομόνωση, ο χημικός χαρακτηρισμός και ο έλεγχος των βιολογικών ιδιοτήτων των μελανοΐδινών της Κουμανδαρίας. Η απομόνωση τους πραγματοποιήθηκε με την χρήση μεμβρανών κυτταρίνης με κατώφλι 3,5 kDa, 7 kDa, και 12-14 kDa. Για το χημικό χαρακτηρισμό τους πραγματοποιήθηκε φασματοσκοπική μελέτη (345 nm, 420 nm και 440 nm) και προσδιορισμός ολικών σάκχαρων και ολικών φαινολικών συστατικών. Ακόμη, εκτιμήθηκαν οι *in vitro* αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες με τις δοκιμές DPPH και FRAP και η αντιμικροβιακή ικανότητά τους έναντι των μικροοργανισμών *Listeria monocytogenes* ATCC23074, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis NCTC 5188 και *Escherichia coli* ATCC 11775. Τέλος, ελέγχθηκε η *in vitro* αντι-υπερτασική ικανότητα τους μέσω της αναστολής της δράσης του ενζύμου της αγγειοτενσίνης I.

Ο χημικός χαρακτηρισμός των απομονωμένων μελανοΐδινών έδειξε ότι το μοριακό τους βάρος είναι μεγαλύτερο από 12-14 kDa και ο σκελετός τους αποτελείται κυρίως από σάκχαρα. Ακόμη, σημαντικές ποσότητες φαινολικών ενώσεων είναι προσδεδεμένες στο σκελετό των μελανοΐδινών με τη συγκέντρωσή τους να κυμαίνεται από 47,1 έως 165,2 mg ισοδύναμων γαλλικού οξέος ανά g μελανοΐδινών. Επιπρόσθετα, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η δομή των μελανοΐδινών επηρεάζεται και από την παλαίωση της Κουμανδαρίας. Οι δοκιμές DPPH και FRAP έδειξαν ότι οι απομονωμένες μελανοΐδινες εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση, η οποία κυμαίνεται από 85 έως 216  $\mu\text{mol}$  ασκορβικού οξέος ανά g μελανοΐδινών και 49-130  $\mu\text{mol}$  ασκορβικού οξέος ανά g μελανοΐδινών, αντίστοιχα. Όσον αφορά την αντιμικροβιακή ικανότητα των μελανοΐδινών εμφανίζεται ισχυρότερη έναντι των gram-θετικών βακτηρίων σε σχέση με τα gram-αρνητικά. Η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) μελανοΐδινών έναντι των τριών βακτηρίων κυμαίνονται από 5-20  $\text{mg mL}^{-1}$ . Τέλος, στον έλεγχο αντι-υπερτασικής ικανότητας των απομονωμένων μελανοΐδινών, το ποσοστό παρεμπόδισης της αγγειοτενσίνης I φθάνει έως και 66 %, που είναι συγκρίσιμο με την εμπορική δραστική ουσία καπτοπρίλ.

**Λέξεις κλειδιά:** μελανοΐδινες, Κουμανδαρία, αντιοξειδωτική ικανότητα, αντιμικροβιακή ικανότητα, αντι-υπερτασική ικανότητα, φαινολικές ενώσεις, γλυκό κρασί

## ABSTRACT

Commandaria is an amber-coloured dessert wine produced in Cyprus since 4000 years ago, being considered a protected designation of origin (PDO) product. It is exclusively produced through the fermenting process of must obtained from sun-dried grapes of two indigenous grape cultivars, namely 'Xynisteri' and 'Mavro'. In general, a direct exposure to sunlight results to a significant water loss in the grape berry and several changes in its chemical composition. Among them, the formation of brown-colored melanoidins via Maillard reaction is carried out. The aim of the present study was to isolate and characterize melanoidins from Commandaria wine. In addition, functional properties such as *in vitro* antioxidant (DPPH and FRAP assays), antimicrobial (*Listeria monocytogenes* ATCC23074, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis NCTC 5188 and *Escherichia coli* ATCC 11775) and anti-hypertensive properties were evaluated.

Commandaria wines were dialyzed using three types of cellulose dialysis tubing that retain melanoidins bigger than 3.5 kDa, 7 kDa and 12-14 kDa, respectively. The chemical characterization of isolated melanoidins was performed by spectroscopic analysis as well as the determination of total sugars and total phenolic content. Results showed that their molecular weight was mostly bigger than 12-14 kDa; whereas sugars mainly compose the skeleton of melanoidins. In addition, significant amounts of phenolic compounds are attached to the skeleton; total phenolic content ranges from 47.1 to 165.2 mg gallic acid equivalents per g melanoidin. Results also highlight a great impact of wine aging on the structure of melanoidins. In a next step, the *in vitro* antioxidant potential of melanoidins were evaluated. The antioxidant activity of Commandaria melanoidins ranged between 85 and 216  $\mu\text{mol}$  ascorbic acid equivalents per g melanoidins and 49 to 130  $\mu\text{mol}$  ascorbic acid equivalents per g melanoidins for FRAP assay, respectively. Regarding to the antimicrobial capacity, melanoidins had higher potency against gram-positive bacteria than gram-negative; whereas the minimum inhibitory concentrations (MIC) values of melanoidins was between 5 and 20  $\text{mg mL}^{-1}$ . Finally, the angiotensin-converting enzyme (ACE) assay was used to determine the anti-hypertensive capacity of melanoidins. Results showed that the ACE-inhibitory activity of Commandaria melanoids reached up to 66 %.

**Keywords:** melanoidins, Comandaria, antioxidant activity, antimicrobial activity, anti-hypertensive activity, phenolic compounds, sweet wine