



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ - ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Εργαστήριο Χημείας, Φυσικοχημείας και Βιοχημείας Τροφίμων

Μπατζάκη Χριστίνα

Πτυχιακή Εργασία

**«Διατροφική αξιολόγηση τυπικών Ελληνικών
Σαλατών»**



Τριμελής Επιτροπή

Νικόλαος Καλογερόπουλος
Επίκουρος Καθηγητής
(Επιβλέπων)

Αντωνία Χίου
Επίκουρη Καθηγήτρια

Γεώργιος Μπόσκου
Επίκουρος Καθηγητής

ΑΘΗΝΑ 2011

Πρόλογος

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη «Διατροφική αξιολόγηση τυπικών Ελληνικών σαλατών» εκπονήθηκε από την Μπατζάκη Χριστίνα, φοιτήτρια του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας και Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Το εργαστηριακό κομμάτι της πτυχιακής μελέτης πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας, Φυσικοχημείας και Βιοχημείας Τροφίμων του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου κατά το ακαδημαϊκό έτος 2010- 2011, υπό την επίβλεψη του Επίκουρου Καθηγητή Νικόλαου Καλογερόπουλου.

Στον κύριο Καλογερόπουλο, εκφράζω τις θερμές μου ευχαριστίες για το αμείωτο ενδιαφέρον, τη συνεχή και πολύτιμη καθοδήγησή του καθ' όλη τη διάρκεια πραγματοποίησης της παρούσας πτυχιακής εργασίας καθώς και για τον πολύτιμο χρόνο που αφιέρωσε τόσο κατά την εκτέλεση του πειραματικού μέρους όσο και κατά τις διορθώσεις του τελικού κειμένου.

Ευχαριστώ επίσης θερμά τη Δρ. Αντωνία Χίου τόσο για την ενεργή συμμετοχή και για τον πολύτιμο χρόνο που αφιέρωσε κατά την εκτέλεση του πειραματικού μέρους όσο και για τις συμβουλές και τις υποδείξεις της για την ορθή διεκπαιρέωση της παρούσας πτυχιακής εργασίας. Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στην κ. Χρηστέα Μαργαρίτα για την συνδρομή της στις πειραματικές διαδικασίες.

Εν κατακλείδι, ευχαριστώ όλο το προσωπικό του εργαστηρίου για τη συνεργασία του και το Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο για την διάθεση των ερευνητικών χώρων και την παραχώρηση των οργάνων για την εκτέλεση του πειραματικού μέρους.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου, για τις θυσίες που έχουν κάνει για μένα και για την υποστήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια όπως και στους φίλους μου, που στάθηκαν επάξια δίπλα μου.

Περίληψη

Τα λαχανικά αποτελούν μαζί με τα φρούτα σημαντικά συστατικά της Ελληνικού τύπου Μεσογειακής δίαιτας. Θεωρούνται πλούσια πηγή βιταμινών, ιχνοστοιχείων, φυτικών ινών, και διαφόρων φυτοχημικών όπως πολυφαινόλων, τερπενίων, στερολών και καροτενοειδών, γεγονός το οποίο παράλληλα με την ευρεία κατανάλωση τους, έχει προκαλέσει το επιστημονικό ενδιαφέρον.

Στην παρούσα εργασία επιχειρήθηκε η διατροφική αξιολόγηση των συνηθέστερων Ελληνικών σαλατών: χωριάτικη, μαρούλι, και λάχανο/ καρότο. Για το σκοπό αυτό παρασκευάστηκαν οι σαλάτες κατά τον παραδοσιακό τρόπο με νωπά λαχανικά και με έξτρα παρθένο ελαιόλαδο, και προσδιορίστηκαν τα λιπαρά, το ενεργειακό περιεχόμενο και διάφορα βιοδραστικά μικροσυστατικά όπως πολυφαινόλες, τοκοφερόλες, καροτενοειδή, φυτοστερόλες, σκουαλένιο και τερπενικά οξέα. Επί πλέον εκτιμήθηκε η ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών και η αντιοξειδωτική ικανότητα εκχυλισμάτων των σαλατών. Τέλος, έγινε διατροφική αξιολόγηση της πρόσληψης των ωφέλιμων μικροσυστατικών από την κατανάλωση μίας μερίδας σαλάτας.

Βρέθηκε ότι οι σαλάτες περιέχουν 87,6- 91,9 % υγρασία και έχουν χαμηλή περιεκτικότητα λιπαρών (2- 4,8 %) προερχομένων κυρίως από το ελαιόλαδο, κατά συνέπεια έχουν χαμηλό ενεργειακό περιεχόμενο (50- 73,8kcal/ 100g). Επί πλέον οι σαλάτες περιέχουν αξιόλογες ποσότητες διαφόρων φυτοχημικών: (α) 22- 98mg/ 100g πολυφαινόλων - σημαντικό ποσοστό των οποίων είναι φλαβονοειδή και φαινόλες (β) 0,6- 1,3mg/ 100g τοκοφερόλες, κυρίως α-τοκοφερόλη, (γ) 2,1-3,4 mg/ 100g καροτενοειδή, (δ) 1,9 - 6,2mg/ 100g φυτοστερόλες, κυρίως β-σιτοστερόλη, (ε) 4,5- 5,5 mg/ 100g σκουαλένιο, (στ) 0,014- 4,84mg/ 100g τερπενικά οξέα. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις φυτοχημικών βρέθηκαν στη χωριάτικη σαλάτα. Από τα αποτελέσματα των αναλύσεων των σαλατών και του ελαιολάδου υπολογίσθηκε ότι σημαντικό ποσοστό του σκουαλενίου, των φυτοστερολών και των τοκοφερολών στις σαλάτες προέρχεται από το παρθένο ελαιόλαδο, ενώ οι πολυφαινόλες και τα καροτενοειδή προέρχονται και από τα άλλα συστατικά. Χοληστερόλη ανιχνεύθηκε μόνο στη χωριάτικη σαλάτα σε συγκέντρωση 4,6 mg/ 100g, προφανώς προερχομένη από την φέτα.

Η κατανάλωση μιας μερίδας από τις σαλάτες που μελετήθηκαν, υπολογίστηκε ότι καλύπτει σημαντικά ποσοστά των τυπικών ημερήσιων ή συνιστωμένων δόσεων πολυφαινόλων, σκουαλενίου, καροτενοειδών και τοκοφερολών.

Η παρουσία των προαναφερθέντων φυσικών αντιοξειδωτικών είχε ως αποτέλεσμα οι σαλάτες να παρουσιάζουν σημαντική ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών που κυμάνθηκε μεταξύ 11,8- 37,8 mmol Trolox®/ 100g και σημαντική αναγωγική δύναμη που κυμάνθηκε μεταξύ 4,4- 14,7 mmol ασκορβικού οξέος/ 100g.

Τα ευρήματα της μελέτης επιβεβαιώνουν τις πολύτιμες για την υγεία ιδιότητες που αποδίδονται στις σαλάτες.

Abstract

Vegetables together with fruit are major components of the Greek type Mediterranean Diet. They are considered a rich source of vitamins, minerals, fibers and several phytochemicals such as polyphenols, terpenes, sterols and carotenoids. These properties along with their widespread consumption worldwide have been at the forefront of scientific interest.

The subject of the present study was the nutritional assessment of the most common Greek salads: “Greek salad”, lettuce salad and cabbage/ carrot salad. For this purpose, these salads were prepared following the traditional culinary practice, with fresh vegetables and extra virgin olive oil. Salads were subsequently analysed for energy, fat content and bioactive micronutrients like polyphenols, tocopherols, carotenoids, phytosterols, squalene and terpenic acids. In addition, it was evaluated the free radical scavenging capacity and the antioxidant activity of salad extracts. Finally, the dietary intake of beneficial microconstituents by consuming a serving of each salad, was estimated.

Salads have a water content of 87.6- 91.9 % and low fat content (2- 4.8 %) originating mainly from olive oil and as a result, their energy content is quite low (50- 73.8 kcal/ 100g). In addition, salads contain significant amounts of several phytochemicals: (a) 22- 98 mg/ 100g polyphenols- a significant fraction of which being flavonoids, (b) 0.6-1.3 mg/ 100g tocopherols, mainly α -tocopherol, (c) 2.1- 3.4 mg/ 100g carotenoids, (d) 6.2- 11.9 mg/ 100g phytosterols, with β -sitosterol predominating, (e) 4.5- 5.5 mg/ 100g squalene, (f) 0.014- 4.84 mg/ 100g terpenic acids.

From the analyses of salads and virgin olive oil, it was estimated that a significant amount of squalene, phytosterols and tocopherols in salads derives from extra virgin olive oil while polyphenols and carotenoids derive also from other salads’ ingredients. Cholesterol, was detected only into “Greek salad” -at a concentration of 4.6 mg/ 100g – evidently originating from the feta cheese used for the preparation of the specific salad.

It was calculated that the consumption of one serving of the salads under concern will cover a significant fraction of the typical or recommended daily intake of polyphenols, squalene, carotenoids and tocopherols.

The presence of these natural antioxidants in salads results in a significant free radical scavenging activity, which ranged between 11.8- 37.8 mmol Trolox/ 100g, and a significant reducing power which ranged between 4.4- 4.17 mmol Ascorbic acid/ 100g.

The findings of present study confirm the health benefits that are attributed to salads.

Περιεχόμενα

Πρόλογος.....	2
Περίληψη	3
Abstract	5
Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή	10
1.1. Γενικά για την Μεσογειακή διατροφή	10
1.2. Λαχανικά.....	12
1.3. Σαλάτες.....	13
1.4. Ανάλυση Συστατικών Σαλατών	14
Κεφάλαιο 2. Πολυφαινόλες	18
2.1. Γενικά στοιχεία για τις Πολυφαινόλες.....	18
2.2. Δράσεις Πολυφαινολών	19
2.3. Διαιτητική πρόσληψη και Βιοδιαθεσιμότητα Πολυφαινολών	20
2.4. Φαινολικά οξέα	21
2.5. Φλαβονοειδή	22
Κεφάλαιο 3. Τερπένια.....	23
3.1. Κατάταξη Τερπενίων	23
3.2. Γενικά για τα Καροτενοειδή	23
3.2.1 Δράσεις Καροτενοειδών.....	25
3.3. Φυτοστερόλες.....	26
Κεφάλαιο 4. Αντιοξειδωτικά	27
4.1. Γενικά στοιχεία για τα αντιοξειδωτικά	27
4.2. Βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ).....	27
4.3. Βιταμίνη E και Τοκοφερόλες	29

Κεφάλαιο 5. Πειραματικό Μέρος	31
5.1. Προετοιμασία Σαλατών	31
5.1.1. Χωριάτικη Σαλάτα	31
5.1.2. Πράσινη Σαλάτα, Μαρουλι	33
5.1.3. Σαλάτα Λάχανο- Καρότο	34
5.2. Λυοφιλίωση	35
5.3. Προσδιορισμός υγρασίας στα δείγματα σαλατών	36
5.4. Προσδιορισμός τοκοφερολών με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης (HPLC)	38
5.5. Προσδιορισμός Λιπαρών Οξέων, Φυτοστερολών και Σκουαλενίου	40
5.6. Προσδιορισμός Πολυφαινολών	42
5.7.A. Προετοιμασία δειγμάτων για ανάλυση πολυφαινολών και τερπενικών οξέων με αέρια χρωματογραφία	43
5.7.B. Αέρια χρωματογραφία /φασματοσκοπία μάζας (GC/MS) για τον προσδιορισμό πολυφαινολών και τερπενικών οξέων	44
Κεφάλαιο 6. Φωτομετρικοί Προσδιορισμοί	47
6.1. Προσδιορισμός του συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin Ciocalteu	47
6.2. Αντιοξειδωτικά Τεστ	50
6.2.A. Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1-διφαινύλο-2-πικρυλο-υδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH*)	50
6.2.B. Προσδιορισμός αναγωγικής ικανότητας μέσω αναγωγής του Fe^{+3} σε Fe^{+2} (ferric reducing antioxidant power, FRAP)	54
6.3. Φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός καροτενοειδών	56
Κεφάλαιο 7. Αποτελέσματα	58
7.1. Υγρασία	58
7.2. Ενεργειακό περιεχόμενο σαλατών	59

7.3. Λίπος και λιπαρά οξέα σε Ελληνικές σαλάτες.....	60
7.4. Σκουαλένιο και Στερόλες σε Ελληνικές σαλάτες	63
7.5. Τοκοφερόλες στις Ελληνικές σαλάτες και στο Ελαιόλαδο.....	64
7.6 Καροτενοειδή στις Ελληνικές σαλάτες.....	64
7.7. Απλές Πολυφαινόλες (PP) σε σαλάτες και αγνό παρθένο ελαιόλαδο	65
7.8. Φωτομετρικοί προσδιορισμοί.....	69
7.8.A. Συνολικό Φαινολικό Περιεχόμενο (μέθοδος Folin Ciocalteu).....	69
7.8.B. Αποτελέσματα των αντιοξειδωτικών τεστ.....	71
7.8.B.1. Μέτρηση ικανότητας δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH	71
7.8.B.2. Μέτρηση αναγωγικής ικανότητας μέσω της μεθόδου FRAP	75
7.9. Συνολική διαιτητική πρόσληψη από την κατανάλωση μιας μερίδας σαλάτας	81
Συζήτηση	84
Βιβλιογραφία	86

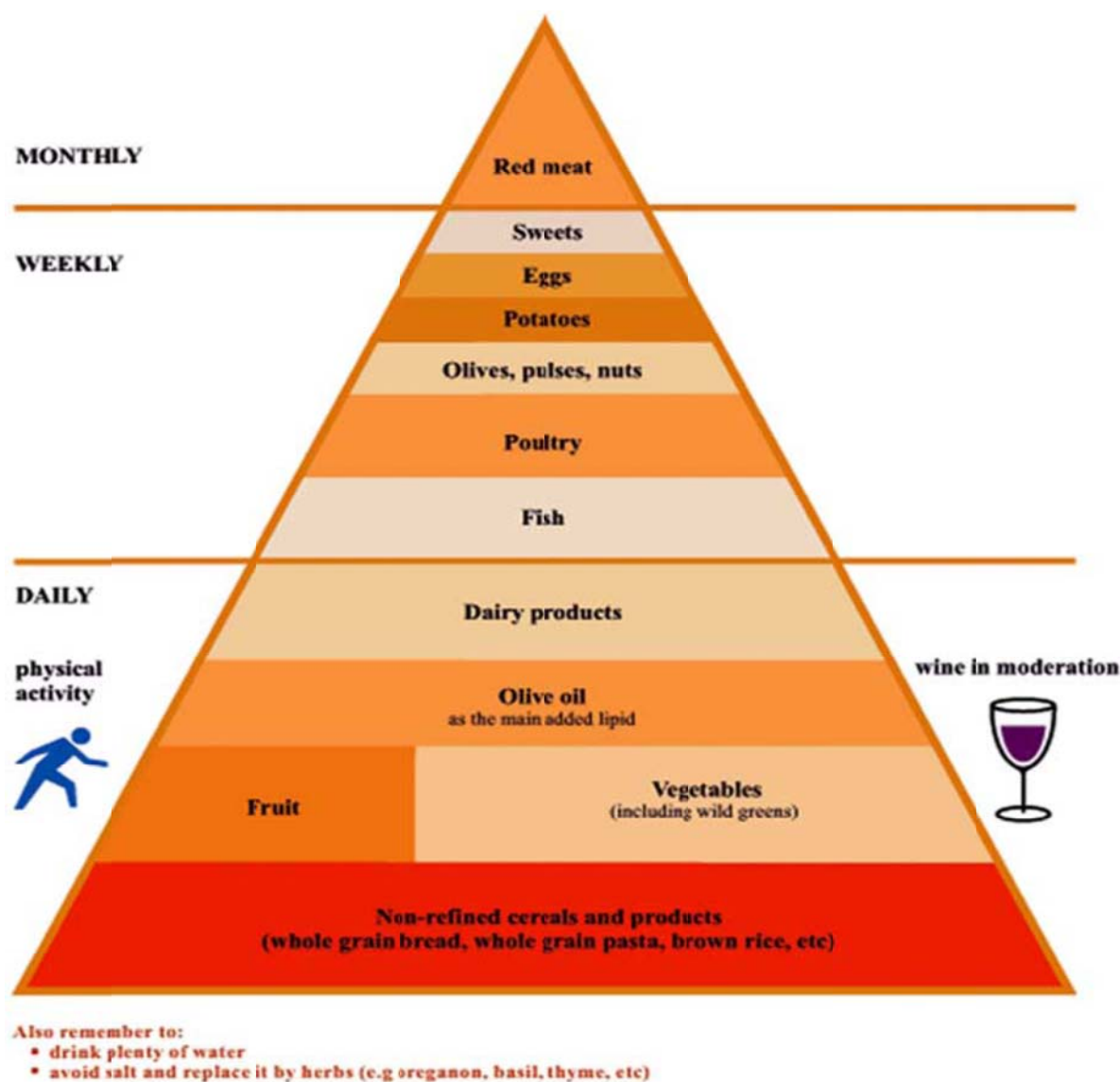
1.1.Μεσογειακή Διατροφή

Η διατροφή αποτελεί σημαντικό κομμάτι της ζωής του ανθρώπου και είναι συνδεδεμένη όχι μόνο με την ανάγκη για επιβίωση, αλλά και με τον πολιτισμό και τις θρησκευτικές πεποιθήσεις κάθε λαού. Ανάλογα με την γεωγραφική θέση, την κουλτούρα, τη θρησκεία και την εξέλιξη κάθε λαού έχουν διαμορφωθεί διάφορα διατροφικά πρότυπα τα οποία έχουν μελετηθεί ευρέως.

Όσον αφορά την περιοχή της Μεσογείου, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσίασε το λεγόμενο Μεσογειακό διατροφικό μοντέλο ή αλλιώς Μεσογειακή Διατροφή έπειτα από την ανακοίνωση των αποτελεσμάτων της προοπτικής μελέτης των επτά χωρών. Πιο ειδικά, η συγκεκριμένη μελέτη έδειξε ότι η θνησιμότητα από στεφανιαία νόσο ήταν δύο με τρεις φορές μικρότερη στις Μεσογειακές χώρες, δηλαδή όπου ακολουθούνταν η Μεσογειακή Διατροφή σε σχέση με την Βόρεια Ευρώπη ή τις Η.Π.Α.⁽¹⁾

Μελετώντας τη Μεσογειακή Διατροφή, αρχικά αξίζει να αναφερθούμε στα βασικά χαρακτηριστικά της που την διαφοροποιούν από την δίαιτα Δυτικού τύπου. Συγκεκριμένα, χαρακτηρίζεται από υψηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, δημητριακών, κυρίως ολικής άλεσης, υψηλή κατανάλωση οσπρίων, χαμηλή κατανάλωση κρέατος και των προϊόντων του, μέτρια κατανάλωση γάλακτος και των προϊόντων του, μέτρια κατανάλωση ψαριών και κοτόπουλου, μέτρια κατανάλωση αλκοόλ, κυρίως κρασιού, παράλληλα με τα γεύματα και γενικότερα από υψηλή περιεκτικότητα σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα σε σχέση με τα κορεσμένα λιπαρά οξέα. Τα τρόφιμα τα οποία επιλέγονται από την κάθε ομάδα τροφίμων είναι ανάλογα με την εποχή, κυρίως φρέσκα, με μερική ή καθόλου επεξεργασία. Η κύρια πηγή λίπους στο Μεσογειακό πρότυπο Διατροφής είναι το ελαιόλαδο, με την ολική πρόσληψη λίπους να είναι σχετικά αυξημένη φθάνοντας το 40 % της ενεργειακής πρόσληψης στην Ελλάδα ενώ στην Ιταλία το 30%. Εξαιτίας των τροφίμων και της ποικιλίας που περιλαμβάνει η Μεσογειακή Διατροφή, είναι πλούσια σε φυτικές ίνες, βιταμίνες, μέταλλα, ιχνοστοινεία, φυσικά αντιοξειδωτικά (καροτενοειδή, πολυφαινόλες, τοκοφερόλες, κτλ), μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, ισορροπημένη σε ω-3 και ω-6 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και φτωχή σε κορεσμένο λίπος.⁽²⁾

Τα βασικότερα χαρακτηριστικά της μεσογειακής Διατροφής συνοψίζονται στην Μεσογειακή πυραμίδα. Αξίζει να σημειωθεί ότι στα πλαίσια της Μεσογειακής διατροφής, σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η πραγματοποίηση φυσικής δραστηριότητας, μέτριας ή έντονης έντασης καθημερινά.



Source: Supreme Scientific Health Council, Hellenic Ministry of Health [105]

Μετά την μελέτη των επτά χωρών η Μεσογειακή Διατροφή αποτέλεσε το κέντρο πολλών μελετών και ερευνήθηκαν οι πιθανές ευεργετικές ιδιότητές της, στην υγεία του ανθρώπου.

Ενδεικτικά αναφέρεται ότι τα αντιοξειδωτικά συστατικά τα οποία περιέχονται σε αφθονία στα φρούτα, τα λαχανικά, το ελαιόλαδο και το κρασί, μπορούν να συμβάλουν στην πρόληψη της

καρδιαγγειακής νόσου, της παχυσαρκίας και πιθανόν διαφόρων τύπων καρκίνου. Η υψηλή περιεκτικότητα της Μεσογειακής Διατροφής σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και το μειωμένο κορεσμένο λίπος μπορούν εν μέρει να εξηγήσουν το χαμηλό ποσοστό καρδιαγγειακών και καρκίνου στους λαούς που ακολουθούν το συγκεκριμένο πρότυπο διατροφής.

Αναφέρεται ότι η Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία, συνέστησε το 2004 την κατανάλωση μιας ισορροπημένης δίαιτας, πλούσιας σε αντιοξειδωτικά, φρούτα, λαχανικά και δημητριακά, για τον γενικό πληθυσμό. Με αυτό τον τρόπο, όταν η δίαιτα παρέχει επαρκή ποσότητα αντιοξειδωτικών δεν είναι απαραίτητη η λήψη συμπληρωμάτων για την πρόληψη καρδιαγγειακών νοσημάτων.⁽³⁾

Επιπλέον, υπάρχουν πρόσφατα δεδομένα για την ευεργετική επίδραση της Μεσογειακής Διατροφής στην νοητική υγεία. Έρευνες στην Μεγάλη Βρετανία και την Ισπανία, βρήκαν ότι η Μεσογειακή Διατροφή συσχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο συμπτωμάτων κατάθλιψης, συγκρινόμενη με δίαιτα πλούσια σε κρέας, λίπος και γλυκά. Αναφέροντας χαρακτηριστικά τη φράση: “ The way we eat affects the way we feel”.⁽⁴⁾

1.2. Λαχανικά

Η Μεσογειακή Διατροφή περιλαμβάνει τη καθημερινή κατανάλωση ποικιλίας λαχανικών, τα οποία βρίσκονται σε αφθονία στην Ελλάδα. Τα λαχανικά περιέχουν κυρίως νερό και υδατάνθρακες. Αποτελούν πλούσια πηγή βιταμινών, μετάλλων και φυτικών ινών, ενώ περιέχουν ελάχιστη ποσότητα πρωτεΐνης και αμελητέα ποσότητα λίπους. Επιπλέον, περιέχουν μια σειρά από μη θρεπτικά στοιχεία, όπως πολυφαινόλες και καροτενοειδή τα οποία φαίνεται να έχουν πολλαπλά οφέλη για την υγεία. Η προσθήκη λαχανικών στο καθημερινό διαιτολόγιο προκαλεί αίσθημα κορεσμού, μειώνοντας το αίσθημα πείνας και την ενεργειακή πρόσληψη, συμβάλλοντας τελικά στην επίτευξη ενός υγιούς σωματικού βάρους και κατ' επέκταση στην πρόληψη της παχυσαρκίας, λαμβάνοντας υπόψιν το συνολικό διατροφικό μοντέλο που ακολουθεί ένα άτομο καθώς και το επίπεδο της σωματικής δραστηριότητάς του. Θεωρούνται πλούσια σε αντιοξειδωτικά γεγονός στο οποίο οφείλουν την προστατευτική τους δράση έναντι του καρκίνου και της στεφανιαίας νόσου. Ενδεικτικά, αναφέρεται μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Ιταλία, όπου παρατηρήθηκε ότι μόνο το μοντέλο διατροφής που

στηριζόταν στα λαχανικά και την αυξημένη κατανάλωση ωμών λαχανικών με ελαιόλαδο ως προστιθέμενο λίπος, είχε προστατευτικές ιδιότητες έναντι του καρκίνου του μαστού.⁽⁵⁾

Από την άλλη, το φυλλικό οξύ το οποίο βρίσκεται στα πράσινα φυλλώδη λαχανικά, στα όσπρια και τα φρούτα φαίνεται να μειώνει τον κίνδυνο καρδιαγγειακών παθήσεων, καθώς μειώνει τα επίπεδα ομοκυστεΐνης πλάσματος.⁽⁶⁾



1.3. Σαλάτες

Η κατανάλωση σαλάτας κυρίως με το μεσημεριανό γεύμα αποτελεί καθιερωμένη συνήθεια για το μεγαλύτερο ποσοστό του Ελληνικού πληθυσμού. Επιλέγονται κυρίως φρέσκα λαχανικά ανάλογα με την εποχή, και καταναλώνονται ωμά, εφόσον πρώτα πλυθούν και τεμαχιστούν. Υπάρχουν διάφορες σαλάτες αλλά και διάφορες παραλλαγές μιας συγκεκριμένης σαλάτας. Η πιο γνωστή σαλάτα στον Ελλαδικό χώρο είναι η χωριάτικη, η οποία υπάρχει σε πολλές παραλλαγές, έχοντας πάντα όμως ως κοινά χαρακτηριστικά την τομάτα, τη φέτα, το ελαιόλαδο, το αγγούρι και το κρεμμύδι. Άλλες τυπικές Ελληνικές σαλάτες είναι οι σαλάτες με μαρούλι και με λάχανο/καρότο. Το ελαιόλαδο αποτελεί βασικό συστατικό σε όλες τις σαλάτες, προστιθέμενο πάντα ωμό και στο τέλος της παρασκευής.

Στην παρούσα μελέτη, επιλέχθηκαν να μελετηθούν τρεις σαλάτες – χωριάτικη, λάχανο/καρότο, μαρούλι - οι οποίες καταναλώνονται σε όλη την Ελλάδα και αποτελούν τις πιο συνηθισμένες επιλογές που μπορεί να βρει κάποιος σε ένα ελληνικό εστιατόριο.

1.4. Ανάλυση συστατικών

Τομάτα

Η τομάτα καλλιεργείται στην Ελλάδα από τον 19^ο αιώνα. Η χώρα προέλευσης της θεωρείται το Περού. Από το 1920 και μετά, ξεκίνησε η βιομηχανική επεξεργασία της στην Αμερική και την Ευρώπη, που είχε ως αποτέλεσμα την δημιουργία πολλών νέων προϊόντων και την αύξηση της παραγωγής και της ζήτησης. Η τομάτα ανήκει στην ομάδα των λαχανικών, αποτελείται κυρίως από νερό και είναι καλή πηγή βιταμινών C, E, A (με την μορφή β-καροτενίου) και βιταμινών του συμπλέγματος B. Περιέχει ελάχιστη ποσότητα πρωτεΐνης, φυτικές ίνες, σχεδόν καθόλου λίπος και νάτριο, σημαντικές ποσότητες κιτρικών και οξαλικών οξέων. Αποτελεί καλή πηγή καλίου, φωσφόρου, σεληνίου, μαγνησίου και άλλων ιχνοστοιχείων. Στην τομάτα ανευρίσκονται επιπλέον πολυφαινόλες και καροτενοειδή με ιδιαίτερο ενδιαφέρον να παρουσιάζει κυρίως το λυκοπένιο, το οποίο ανευρίσκεται σε σημαντικές ποσότητες. Εκτιμάται, ότι το 85% της ποσότητας του λυκοπενίου που προσλαμβάνει ο άνθρωπος προέρχεται από την τομάτα.

Η τομάτα επομένως θεωρείται πλούσια σε αντιοξειδωτικά, τα επίπεδα των οποίων ποικίλουν ανάλογα με τις συνθήκες καλλιέργειας, τον βαθμό ωρίμανσης, την ποικιλία και τις συνθήκες αποθήκευσης. Εξαιτίας της σύστασης της σε αντιοξειδωτικά, η κατανάλωση της έχει συσχετιστεί με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης διαφόρων τύπων καρκίνου και καρδιαγγειακών νοσημάτων.⁽⁷⁾ Λόγου χάρη, σε μια μελέτη ασθενών- μαρτύρων βρέθηκε αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στην κατανάλωση τομάτας και γενικότερα λαχανικών με τον καρκίνο του θυρεοειδούς, τονίζοντας ότι απαιτείται επιπλέον έρευνα.⁽⁹⁾

Από την άλλη επισημαίνεται η ευρεία χρήση της τομάτας στην μαγειρική και η κατανάλωση της τόσο ωμής π.χ. σε σαλάτες, όσο και επεξεργασμένης. Ωστόσο, η επεξεργασία της τομάτας μπορεί να επιφέρει μεταβολές στην βιοδιαθεσιμότητα των διαφόρων συστατικών της. Λόγου χάρη αναφέρεται ότι το λυκοπένιο είναι περισσότερο βιοδιαθέσιμο στον πελτέ τομάτας από ότι στην ωμή τομάτα.⁽⁸⁾



Ελαιόλαδο

Το ελαιόλαδο αποτελεί την κύρια πηγή λίπους στο Μεσογειακό μοντέλο διατροφής. Για να γίνει αντιληπτή η σημασία της ελιάς στον ελλαδικό χώρο, αναφέρεται ότι η Ελλάδα καταλαμβάνει την τέταρτη θέση στην παραγωγή βρώσιμης ελιάς και την τρίτη θέση στην παραγωγή ελαιολάδου. Με τον όρο ελαιόλαδο εννοούμε το έλαιο το οποίο παράγεται από τον καρπό του δέντρου *Olea europaea* και το οποίο λαμβάνεται με μηχανικό ή άλλο φυσικό τρόπο.

Το ελαιόλαδο κατατάσσεται ανάλογα με την περιεκτικότητά του σε ελεύθερα λιπαρά οξέα (οξύτητα) και με κάποια ιδιαίτερα χαρακτηριστικά που προβλέπονται για την κάθε κατηγορία σε:

1. Παρθένο ελαιόλαδο

- Εξαιρετικό Παρθένο Ελαιόλαδο (οξύτητα $\leq 0,8\%$)
- Παρθένο Ελαιόλαδο (οξύτητα $\leq 2,0\%$)
- Ελαιόλαδο Λαμπάντε (οξύτητα $> 2,0\%$) (είναι ακατάλληλο για κατανάλωση ως έχει και προορίζεται για ραφινάρισμα ή για βιομηχανική χρήση).

2. Εξευγενισμένο ή ραφιναρισμένο ελαιόλαδο (οξύτητα $\leq 0,3\%$)

3. Γνήσιο ελαιόλαδο (μίγμα εξευγενισμένου και παρθένου, οξύτητα $\leq 1\%$)

4. Εξευγενισμένο πυρηνέλαιο

5. Πυρηνέλαιο (μίγμα ραφιναρισμένου πυρηνελαίου και παρθένου ελαιολάδου, οξύτητα $\leq 1,5\%$)/ www.efet.gr/elaiolado

Από θερμιδικής άποψης, το ελαιόλαδο, ως λιπαρή ύλη αποδίδει 9 θερμίδες ανά γραμμάριο. Όσον αφορά την σύσταση του, το κύριο συστατικό του είναι τα τριγλυκερίδια, δηλαδή μείγμα εστέρων της γλυκερίνης με ανώτερα λιπαρά οξέα. Επιπλέον, το ελαιόλαδο έχει υψηλή περιεκτικότητα σε

μονοακόρεστα λιπαρά οξέα με το ελαϊκό (18:1) να περιέχεται σε μεγαλύτερη ποσότητα, χαμηλή περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα περιέχοντας σε μεγαλύτερο ποσοστό το παλμιτικό (16:0) και το στεατικό (18:0) οξύ. Η συνήθης περιεκτικότητα του σε κορεσμένα λιπαρά οξέα είναι 13,8 g/ 100g ελαίου, σε μονοακόρεστα 72,96 g/ 100 g ελαίου και σε πολυακόρεστα 10,5 g/ 100g ελαίου (USDA).

Ακόμη, έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε απαραίτητα λιπαρά οξέα (λινελαϊκό και λινολενικό) και ποσότητες πολυφαινόλων, φυτοστερολών, και τοκοφερολών⁽¹⁰⁾. Τα συστατικά του διακρίνονται στο σαπωνοποιήσιμο κλάσμα (98,5- 99 %) που αποτελείται κυρίως από τριγλυκερίδια και το μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα (1- 1,5 %) που αποτελείται κυρίως από υδρογονάνθρακες, τερπενικές αλκοόλες, χρωστικές, και φυτοστερόλες. Παρατηρούμε επομένως ότι το ελαιόλαδο αποτελεί καλή πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών.

Άλλωστε η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και σε φυσικά αντιοξειδωτικά είναι εκείνη, η οποία έχει συσχετιστεί με τα οφέλη της κατανάλωσης ελαιολάδου στην υγεία του ανθρώπου, όπως μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων και καρκίνου του μαστού⁽¹⁴⁾.

Η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε ελεύθερα λιπαρά οξέα, διαφέρει από δείγμα σε δείγμα και εξαρτάται από το κλίμα, το γεωγραφικό πλάτος, την ποικιλία του ελαιόδενδρου και τον βαθμό ωριμότητας του ελαιοκάρπου. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα είναι υπεύθυνα για την οξύτητα του ελαιολάδου, ενώ τα μη γλυκεριδικά μόρια για την γεύση του και την σταθερότητα του.

Όσον αφορά τα μικροσυστατικά, περιέχει κυρίως α- τοκοφερόλη σε ποσοστό 95 % της συνολικής βιταμίνης Ε που υπάρχει στο έλαιο. Η συνολική περιεκτικότητα σε τοκοφερόλη εξαρτάται από την ποικιλία των καρπών και λαμβάνει τιμές από 5 έως 300 mg/ kg, με τα υψηλής ποιότητας παρθένα ελαιόλαδα να περιέχουν 100- 300mg / kg⁽¹¹⁾ συνολική ποσότητα τοκοφερολών. Για τα ελληνικά ελαιόλαδα, οι ποσότητες της α- τοκοφερόλης κυμαίνονται από 12 έως 430 mg/ kg ελαίου.

Η ποσότητα των στερολών στο ελαιόλαδο κυμαίνεται μεταξύ 113 και 265 mg/ 100g ελαίου, με την β- σιτοστερόλη να αποτελεί το 90- 95 % των συνολικών φυτοστερολών του ελαιολάδου,⁽¹²⁾ παρουσιάζοντας ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την πιθανή αντικαρκινική δράση τους.

Το σκουαλένιο είναι ο σημαντικότερος υδρογονάνθρακας που βρίσκεται στο ελαιόλαδο σε συγκεντρώσεις 200- 700 mg σκουαλένιο/ 100g παρθένο ελαιόλαδο, ενώ το ραφινάρισμένο ελαιόλαδο περιέχει ποσότητα μικρότερη κατά 25 %.⁽¹³⁾ Το σκουαλένιο αποτελεί αντικείμενο μελέτης για τις πιθανές αντικαρκινικές ιδιότητές του.



Υπόλοιπα Συστατικά των Σαλατών

Σχετικά με τα υπόλοιπα συστατικά που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των σαλατών, αναφέρονται τα εξής:

- το αγγούρι και τα κρεμμύδια είναι πλούσια σε νερό, κάλιο και φωσφόρο
- η πιπεριά είναι πλούσια σε βιταμίνη C και βιταμίνη K
- οι μαύρες ελιές είναι πλούσιες σε νάτριο, βιταμίνη A, μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, πολυφαινόλες και β- καροτένιο
- η φέτα είναι πλούσια σε πρωτεΐνη, ασβέστιο, νάτριο και κορεσμένα λιπαρά οξέα
- η κάπαρη είναι πλούσια σε νάτριο και φυτοστερόλες
- η ρίγανη είναι πλούσια σε ασβέστιο, μαγνήσιο, κάλιο και φυλλικό οξύ
- το μαρούλι είναι πλούσιο σε νερό, κάλιο και βιταμίνη A
- τα φρέσκα κρεμμυδάκια είναι πλούσια σε β- καροτένιο
- τα καρότα είναι πλούσια σε βιταμίνη C, βιταμίνη A, α- και β- καροτένιο
- το λάχανο είναι πλούσιο σε κάλιο, φώσφορο και φυτοστερόλες (USDA).

2.1. Γενικά στοιχεία για τις Πολυφαινόλες

Με τον όρο πολυφαινόλες (PP) εννοούμε μια μεγάλη ομάδα ενώσεων, οι οποίες υπάρχουν στην φύση και αντιτίθενται στην οξείδωση ή αναστέλλουν αντιδράσεις, οι οποίες προάγονται από το οξυγόνο ή τα υπεροξείδια. Έχουν το κοινό χαρακτηριστικό ότι φέρουν ένα ή περισσότερα υδροξύλια συνδεδεμένα απ' ευθείας σε ένα ή περισσότερους αρωματικούς ή ετεροκυκλικούς δακτυλίους⁽¹⁵⁾. Οι πολυφαινόλες παράγονται ως προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών και συναντώνται στην φύση συνήθως συνδεδεμένες με υδατάνθρακες μέσω των υδροξυλίων τους. Τα συζευγμένα σάκχαρα μπορεί να είναι είτε μονοσακχαρίτες, είτε δισακχαρίτες, ή ακόμα και ολιγοσακχαρίτες. Το πιο κοινό σάκχαρο με το οποίο απαντώνται είναι η γλυκόζη⁽¹⁶⁾. Σήμερα, είναι γνωστές περισσότερες από 8.000 πολυφαινόλες των οποίων η δομή μπορεί να ποικίλει από πολύ απλή (π.χ. φαινολικά οξέα) έως ιδιαίτερα πολύπλοκη (π.χ. ταννίνες).

Με βάση την χημική τους δομή, ο Harborne⁽¹⁷⁾ κατατάσσει τις πολυφαινόλες σε 10 κατηγορίες: απλές φαινόλες, βενζοκινόνες, φαινολικά οξέα, ακετοφαινόλες, φαινυλοξικά οξέα, φαινυλοπροπανοειδή, (Υδροξυ) κιναιμωμικά οξέα, κουμαρίνες- ισοκουμαρίνες, χρωμόνες, ναφθοκινόνες, ξανθόνες, στυλβένια, ανθρακινόνες, φλαβονοειδή, λιγνάνες- νεολιγνάνες- λιγνίνες.

Σχήμα. 2.1.1

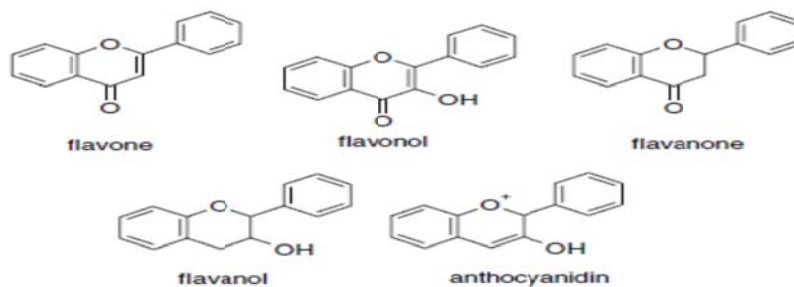


Fig. 3. Generic structure of major classes of flavonoids.

Ανεύρεση στα τρόφιμα

Οι πολυφαινόλες είναι ιδιαίτερα διαδεδομένες στα φυτικά τρόφιμα όπως: λαχανικά, φρούτα, ξηρούς καρπούς, δημητριακά και όσπρια, αλλά επίσης και στα ποτά π.χ. κρασί, μπύρα, κακάο, τσάι κτλ. Πιο συγκεκριμένα, η περιεκτικότητα των δημητριακών σε PP είναι συνήθως < 1 %, ενώ στα όσπρια, οι μαύρες ποικιλίες όπως τα μαύρα φασόλια παρουσιάζουν την υψηλότερη περιεκτικότητα σε PP. Επίσης, διευκρινίζεται ότι τα όσπρια περιέχουν κυρίως ισοφλάβονες, ενώ τα λαχανικά κυρίως φλαβονοειδείς γλυκοζίτες. Από την άλλη τα φρούτα, περιέχουν κυρίως φλαβονόλες, με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να απάνταται στον φλοιό. Ειδικότερα τα εσπεριδοειδή είναι πλούσια σε φαινολικά οξέα και φλαβονοειδή, οι ξηροί καρποί σε ταννίνες και το τσάι είναι πλούσιο σε κατεχίνες⁽¹⁸⁾. Τονίζεται ωστόσο ότι η συγκέντρωση των πολυφαινολών στα διάφορα τρόφιμα διαφέρει σημαντικά, καθώς υπάρχουν διαφορές ακόμα και μεταξύ καλλιεργειών του ίδιου είδους. Συγκεκριμένα, η συγκεντρωση των πολυφαινολών εξαρτάται από γενετικούς παράγοντες, περιβαλλοντικές συνθήκες, την ποικιλία, το βαθμό ωρίμανσης, την βλάστηση, την επεξεργασία και την αποθήκευση⁽¹⁹⁾.

2.2. Δράσεις Πολυφαινολών

Οι πολυφαινόλες είναι υπεύθυνες σε ένα ποσοστό για τις οργανοληπτικές ιδιότητες των τροφίμων⁽²⁷⁾. Η πικρή και στιφή γεύση των τροφίμων και των ποτών εξαρτάται από την περιεκτικότητά τους σε PP. Η οξείδωση των PP κατά την αποθήκευση ή την επεξεργασία τους έχει ανεπιθύμητα ή ωφέλιμα αποτελέσματα. Λόγου χάρη οξειδωτικές μεταβολές όπως η καστανύωση του κακάο έχουν ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη επιθυμητών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, ενώ αντιδράσεις μη- ενζυμικής αμαύρωσης, ευθύνονται για την ανεπιθύμητη γεύση και τον σχηματισμό ανεπιθύμητου χρώματος στα φρούτα και τα λαχανικά⁽²⁰⁾. Ωστόσο ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι ωφέλιμες ιδιότητες των PP στον ανθρώπινο οργανισμό και στην προαγωγή της υγείας. Πειράματα *in vitro* και *in vivo*, κυρίως σε πειραματόζωα, έχουν δείξει ότι αρκετά είδη PP των τροφίμων παρουσιάζουν μια σειρά από προστατευτικές δράσεις.

Συγκεκριμένα⁽³⁰⁾:

1. Προστασία έναντι καρδιοπαθειών^{(21),(22)}.
2. Αντιοξειδωτική δράση⁽²⁶⁾: προστασία της LDL από οξείδωση, που οδηγεί σε μείωση της αποτιθέμενης χοληστερόλης στους ιστούς και στην μείωση του ρυθμού παραγωγής αθηρωματικής πλάκας, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιοπαθειών^{(21),(22)}.
3. Αντικαρκινική δράση (στο παχύ έντερο- απόπτωση καρκινικών κυττάρων)^{(23),(24)}.
4. Επίδραση στην πέψη των μακροθρεπτικών συστατικών: κυρίως οι εκτενώς πολυμερισμένες ταννίνες συνδέονται και καταβυθίζουν πρωτεΐνες, έχοντας ως αποτέλεσμα καθυστέρηση της απορρόφησης τους.
5. Επίδραση στην απορρόφηση μεταλλικών κατιόντων: κυρίως τα φλαβονοειδή, μειώνουν την απορρόφηση Fe, Cu, Zn, Na, Al, μέσω της δημιουργίας συμπλόκων, παρεμποδίζοντας έτσι την δημιουργία ελεύθερων ριζών.
6. Μειώνουν τα επίπεδα σακχάρου και χοληστερόλης στο αίμα: οι ταννίνες αυξάνουν τα επίπεδα HDL και μειώνουν τα επίπεδα LDL.
7. Προστατεύουν τα επιθηλιακά κύτταρα του αναπνευστικού συστήματος.
8. Έχουν αντιαλλεργικές ιδιότητες: εμποδίζουν την συσσώρευση αιμοπεταλίων.
9. Αντιμικροβιακή και αντιβακτηριακή δράση.
10. Παρουσιάζουν αγγειοδιασταλτική δράση μέσω της παραγωγής ενδοκυτταρικού NO.
11. Προστατεύουν το DNA από ενδοκυτταρικές προσβολές.

2.3. Διαιτητική πρόσληψη και Βιοδιαθεσιμότητα Πολυφαινολών

Εκτιμάται ότι η μέση ημερήσια πρόσληψη PP στον δυτικό πληθυσμό είναι 150- 1000 mg/ ημέρα. Στις ΗΠΑ εκτιμάται ότι η μέση ημερήσια πρόσληψη φλαβονοειδών κυμαίνεται από 1 έως 1,1 g/ ημέρα, εξαρτώμενη από την εποχή, στην Ολλανδία 23 mg/ ημέρα και στην Δανία 28 mg/ ημέρα⁽³¹⁾.

Ενδεικτικά αναφέρεται ότι έχει δημοσιευθεί η άποψη ότι μια μέση ημερήσια δόση 10- 20 mg PP σε μακροχρόνια, πολυετή βάση, είναι κατάλληλη για την πρόληψη καρδιοπαθειών. Όσον αφορά την Ελλάδα, η πληροφορία αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική, καθώς το 50 % του ορίου αυτού καλύπτεται από την κατανάλωση ελαιολάδου.

Η βιολογική σημασία των PP εξαρτάται κατ' εξοχήν από την βιοδιαθεσιμότητα τους.

Οι κοινές πολυφαινόλες της διατροφής δεν είναι κατ' ανάγκη και οι δραστικές μορφές στον ανθρώπινο οργανισμό, είτε διότι έχουν χαμηλή εγγενή δράση, είτε διότι απορροφώνται σε μικρό ποσοστό από το έντερο, μεταβολίζονται σε σημαντικό βαθμό ή απομακρύνονται ταχέως. Μεταβολίτες που βρίσκονται στο αίμα και σε διάφορα όργανα, προερχόμενοι από πεπτική και ηπατική δραστηριότητα, μπορούν να διαφοροποιούνται σημαντικά ως προς τη βιολογική τους δράση από τις μητρικές ενώσεις⁽²⁵⁾.

Οι κυριότεροι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν την βιοδιαθεσιμότητα των PP είναι οι ακόλουθοι⁽²⁸⁾:

Εξωτερικοί παράγοντες	π.χ. έκθεση στον ήλιο, βαθμός ωρίμανσης
Παράγοντες που σχετίζονται με την κατεργασία των τροφίμων	Θερμικές διεργασίες, ομογενοποίηση, λυοφιλίωση, αποθήκευση, μαγείρεμα
Αντίδραση με άλλα συστατικά	Δεσμοί με πρωτείνες (π.χ. αλβουμίνη) ή με πολυφαινόλες με παρόμοιους μηχανισμούς απορρόφησης
Παράγοντες σχετιζόμενοι με τις πολυφαινόλες	Χημική δομή, συγκέντρωση στο τρόφιμο, προσλαμβανόμενη ποσότητα
Παράγοντες σχετιζόμενοι με τον ξενιστή	Εντερικοί παράγοντες (π.χ. μικροβιακή μικροχλωρίδα) Συστηματικοί παράγοντες (π.χ. φύλο, ηλικία, ασθένειες, γονίδια, φυσιολογική κατάσταση)

2.4. Φαινολικά Οξέα

Τα φαινολικά οξέα, είναι αρωματικά οξέα τα οποία είναι κυρίως υδροξυλιωμένα παράγωγα του βενζοϊκού οξέος ή του κινναμωμικού οξέος. Τα δεύτερα απαντούν συνήθως δεσμευμένα με την μορφή εστέρων ή γλυκοζιτών⁽³²⁾.

Σχετικά με την χημειοπροφυλακτική και την αντιοξειδωτική τους δράση, έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες, όμως κυρίως για το καφεϊκό, το χλωρογενικό, το φερουλικό, το πρωτοκατεχικό και το ελλαγικό οξύ.

2.5. Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή αποτελούν μια από τις πιο σημαντικές κατηγορίες πολυφαινολών. Περιλαμβάνουν τις φλαβανόλες (κατεχίνες), φλαβονόλες (π.χ. κερκετίνη), φλαβόνες, φλαβανόνες, ισοφλαβόνες, ανθοκυανιδίνες, προανθοκυανιδίνες, χαλκόνες και χρυσόνες⁽³³⁾.

Τα πολυμερή παράγωγα των φλαβονοειδών συνιστούν μια άλλη ομάδα PP, τις ταννίνες. Οι ταννίνες αποτελούν ενώσεις μεσαίου και υψηλού Μοριακού Βάρους, οι οποίες υποδιαιρούνται με βάση την δομή τους σε συμπυκνωμένες, στις οποίες υπάγονται οι κατεχίνες και οι λευκοκυανίνες και σε υδρολυμένες, εκ των οποίων κύριος εκπρόσωπος είναι το ταννικό οξύ⁽³²⁾.

Τα φλαβονοειδή απαντώνται κυρίως στα φυτά. Συγκεκριμένα, οι φλαβονόλες και οι φλαβόνες βρίσκονται κυρίως στα φύλλα, στα εξωτερικά τμήματα των φυτών και στα περισσότερα φρούτα και λαχανικά. Η κερκετίνη βρίσκεται σε υψηλή συγκέντρωση στο κρασί, στο τσάι και στο κρεμμύδι. Οι φλαβόνες είναι λιγότερο συχνές και βρίσκονται κυρίως στην κόκκινη πιπεριά και στο σέλινο. Οι ισοφλαβόνες από την άλλη απαντώνται κυρίως στη σόγια. Επιπλέον, φλαβονοειδή έχουν βρεθεί και σε σπέρματα φυτών, σε ελαιούχους καρπούς όπως τα φυστίκια, στη σόγια και στα προϊόντα της⁽³³⁾.

Εκτεταμένες μελέτες έχουν γίνει ως προς την αντικαρκινική και αντιοξειδωτική τους δράση.

Ενδεικτικά αναφέρεται ότι σε πολυάριθμες μελέτες *in vitro* βρέθηκε ότι οι PP του πράσινου και του μαύρου τσαγιού αναστέλλουν την καρκινογένεση προκαλούμενη από υπεριώδη ακτινοβολία και από χημικούς καρκινογόνους παράγοντες. Επίσης οι κατεχίνες του πράσινου τσαγιού βρέθηκε ότι εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση⁽³⁴⁾. Τονίζεται ωστόσο ότι απαιτείται περαιτέρω μελέτη, διότι υπάρχουν αντιφατικά αποτελέσματα τα οποία προκύπτουν από επιδημιολογικές μελέτες.

3.1. Κατάταξη Τερπενίων

Με τον όρο τερπένια αναφερόμαστε σε μια ομάδα ενώσεων, οι οποίες απαντούν στην φύση και έχουν ως κοινή αρχή βιοσύνθεσης μόρια ισοπρενίου. Ανάλογα με τον αριθμό των μορίων ισοπρενίου διακρίνονται σε μονοτερπένια, σесκιτερπένια, διτερπένια, τριτερπένια και πολυτερπένια⁽³²⁾. Στην ομάδα των τερπενίων ανήκουν τα καροτενοειδή, τα λιμονοειδή, τα τερπενικά οξέα, οι φυτοστερόλες και το σκουαλένιο, ενώσεις ιδιαίτερα σημαντικές οι οποίες έχουν μελετηθεί ευρέως.

3.2. Καροτενοειδή

Τα καροτενοειδή συνιστούν μια ομάδα έγχρωμων, πολυακόρεστων και λιπόφιλων φυτικών χρωστικών, τα οποία απαντώνται σε αφθονία στα φρούτα, τα λαχανικά και τα βότανα και μερικά αποτελούν πρόδρομα συστατικά των ρετινοειδών. Πιο ειδικά, πρόκειται για πολυτερπένια με 40 άτομα C και 8 ισοπρενοειδείς ομάδες, τα οποία αποτελούνται από υδρογονάνθρακες και οξυγονούχες ενώσεις. Οι υδρογονάνθρακες ονομάζονται καροτένια, τα οποία είναι πολυένια με 11 έως 13 συζυγιακούς διπλούς δεσμούς, που προκαλούν βαθυχρωμική μετατόπιση ώστε να εμφανίζονται με κόκκινο ή πορτοκαλί χρώμα. Στα καροτενοειδή επομένως, οφείλεται σε σημαντικό βαθμό το έντονο κόκκινο, κίτρινο ή πορτοκαλί χρώμα των φρούτων και των λαχανικών.

Τα καροτενοειδή υπάρχουν και στις δύο *trans*- και *cis*- μορφές ισομερών. Η *trans*- μορφή μπορεί να μετατραπεί στις *cis*- μορφές από την έκθεση στο φως, τη θερμότητα ή από κάποια χημική αντίδραση. Επιπλέον, τα καροτενοειδή κατατάσσονται σε δύο ομάδες, ανάλογα με την απουσία ή την παρουσία οξυγόνου α) υδρογονάνθρακες- καροτένια, β) υδροξυλιωμένα παράγωγα- τις ξανθοφύλλες⁽³⁵⁾.

Τα καροτενοειδή συντίθενται κυρίως από τα φυτά, στα οποία είναι απαραίτητα για την φωτοσύνθεση αλλά και για την προστασία από την καταστροφική φωτοοξειδωση, σε βακτήρια, μύκητες και άλγη⁽³⁶⁾. Ωστόσο δεν πραγματοποιείται σύνθεση τους στον ανθρώπινο οργανισμό και γενικότερα στο ζωικό βασίλειο, με αποτέλεσμα να προσλαμβάνονται μόνο μέσω της διατροφικής κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών.

Στη φύση απαντώνται περίπου 600 καροτενοειδή, εκ των οποίων 40 περιλαμβάνονται στην διατροφή του ανθρώπου. Τα κυριότερα καροτενοειδή που βρίσκονται στο ανθρώπινο πλάσμα είναι τα α- και β- καροτένιο, η λουτεΐνη, η β- κρυπτοξανθίνη, η ζεαξανθίνη και το λυκοπένιο. Στα φυσικά προϊόντα το πιο κοινό καροτενοειδές είναι το β-καροτένιο.

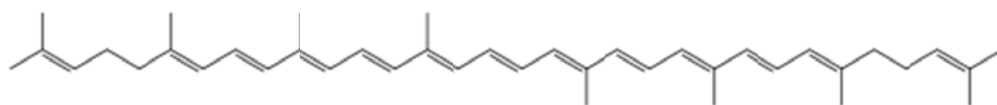
β- καροτένιο

Το β-καροτένιο είναι η χρωστική των καρότων, αποτελείται από μια πολυενική αλυσίδα με εννιά *trans*-(E) διπλούς δεσμούς, στα άκρα της οποίας συνδέονται δύο β-ιονονικοί δακτύλιοι.

Ισομερή του β-καροτενίου είναι το α-καροτένιο, με το διπλό δεσμό του ενός δακτυλίου σε θέση 3', 4', το γ-καροτένιο, με τον ένα δακτύλιο διανοιγμένο μεταξύ C1' και C2' και με δύο διπλούς δεσμούς στις θέσεις 2', 3' και 6', 1' και το λυκοπένιο, η χρωστική της τομάτας, με διανοιγμένους και τους δύο δακτυλίους. Χαρακτηριστικό του λυκοπενίου και του β-καροτενίου είναι ότι τα μόριά τους είναι συμμετρικά.

Το β-καροτένιο απαντά μερικές φορές στη φύση καθαρό, συνήθως όμως συνοδεύεται από το α- και γ-καροτένιο. Είναι ευρύτερα μελετημένο σε μελέτες παρέμβασης σε ανθρώπους ως χημειοπροστατευτικό απέναντι στον καρκίνο⁽³⁸⁾. Ωστόσο, τα αποτελέσματα των διαφόρων μελετών είναι αντικρουόμενα. Συγκεκριμένα σε κάποιες μελέτες προέκυψε ότι η χορήγηση β-καροτενίου συσχετίζεται με αύξηση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου ή δεν εμφανίζει καμία συσχέτιση. Αντίθετα, επιδημιολογικά στοιχεία υποστηρίζουν την συσχέτιση πρόσληψης β-καροτενίου με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης διαφόρων τύπων καρκίνου⁽³⁹⁾.

Λυκοπένιο



Σχήμα 3.2.1.

Το λυκοπένιο είναι το βασικό καροτενοειδές στη τομάτα (*Lycopersicon esculentum*). Το ποσοστό, αλλά και η σύσταση του εξαρτώνται από την ποικιλία της τομάτας και το βαθμό ωρίμανσης της. Είναι αδιάλυτο στο νερό, ενώ μπορεί να διαλυθεί σε οργανικούς διαλύτες και έλαια. Χρησιμοποιείται ευρύτατα ως χρωστική τροφίμων λόγω του έντονου χρώματος και της μη τοξικότητας του (E160d). Στο εμπόριο ανευρίσκονται ακόμη και συμπληρώματα διατροφής

με λυκοπένιο. Τοξικότητες για το λυκοπένιο δεν έχουν αναφερθεί, ωστόσο υψηλή πρόσληψη του από πλούσιες τροφές ή συμπληρώματα μπορεί να οδηγήσει σε λυκοπενοδερμία, κατάσταση η οποία χαρακτηρίζεται από ένα βαθύ πορτοκαλί χρωματισμό του δέρματος⁽³⁷⁾.

Όπως, αναφέρθηκε και παραπάνω ο ανθρώπινος οργανισμός δεν έχει την δυνατότητα σύνθεσης του λυκοπενίου με αποτέλεσμα η διατροφική πρόσληψη να αποτελεί την μοναδική πηγή του. Αναφέρεται ότι στο ανθρώπινο πλάσμα αποτελεί το κύριο καροτενοειδές και παρουσιάζεται σε μεγαλύτερες ποσότητες από το β-καροτένιο και τα άλλα καροτενοειδή. Όσον αφορά την βιολογική του δράση το λυκοπένιο εμφανίζει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Μπορεί να αντιδράσει με το μονοατομικό οξυγόνο και οι συζυγείς διπλοί δεσμοί του επιτρέπουν την αδρανοποίηση του. Σχετικά με την αντικαρκινική δράση του λυκοπενίου σε διάφορους τύπους καρκίνου (κυρίως των πνευμόνων, του προστάτη και του στομάχου), τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι το Νοέμβριο του 2005, η FDA (United States Food and Drug Administration), επισήμανε ότι δεν υπάρχουν επαρκή επιστημονικά δεδομένα που να υποστηρίζουν ότι η κατανάλωση ενός φλιτζανιού τομάτας την εβδομάδα μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο για καρκίνο του προστάτη⁽⁵⁰⁾.

3.2.1. Δράσεις Καροτενοειδών

Τα καροτενοειδή παρουσιάζουν μια σειρά από βιολογικές δράσεις οι οποίες έχουν προσελκύσει το ερευνητικό ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια. Πρόσφατα έχει αναγνωριστεί η προστατευτική τους δράση έναντι του καρκίνου, η αντιοξειδωτική τους δράση, η δράση τους ως ρυθμιστών του ανοσοποιητικού συστήματος, ως τροποποιητών του κυτοχρωμικού P- 450 ενζυμικού συστήματος⁽⁴¹⁾ καθώς και η δράση τους ως χημειοπροφυλακτικών παραγόντων έναντι της καρκινογένεσης.

Συγκεκριμένα, αναφέρεται ότι τα καροτενοειδή αποτελούν κύρια πηγή της βιταμίνης Α. Τα κυριότερα καροτενοειδή τα οποία λειτουργούν ως πρόδρομες ουσίες της βιταμίνης Α είναι τα α-καροτένιο, β-καροτένιο και β-κρυπτοξανθίνη. Το πρώτο βήμα στη βιοσύνθεση της βιταμίνης Α είναι η διάσπαση του κεντρικού διπλού δεσμού του καροτενίου που οδηγεί σε δύο μόρια ρετινάλης. Έπειτα, η ρετινάλη μετατρέπεται σε βιταμίνη Α (ρετινόλη). Κάποια αλλά καροτενοειδή όπως η λουτεΐνη, η ζεαξανθίνη, και το λυκοπένιο, λόγω έλλειψης ιονονικού

δακτυλίου, δεν μπορούν να μετατραπούν σε ρετινόλη άρα δεν έχουν Α προβιταμινική δραστηριότητα.

Όσον αφορά την προστατευτική δράση των καροτενοειδών έναντι του καρκίνου, μελέτες υποδηλώνουν ότι εκτός από την αντιοξειδωτική δράση, η οποία οφείλεται στην ικανότητα τους να δεσμεύουν ελεύθερες ρίζες και να αδρανοποιούν το μονοατομικό οξυγόνο, τα καροτενοειδή ασκούν ανασταλτική επίδραση στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση⁽⁴⁰⁾.

3.3. Φυτοστερόλες

Οι φυτοστερόλες αποτελούν ομάδα χημικών ενώσεων οι οποίες ανήκουν στην κατηγορία των τριτερπενίων και απαντώνται στους ιστούς των φυτών. Η χημική τους δομή παρουσιάζει πολλές ομοιότητες με εκείνη της χοληστερόλης, που απαντάται κατά κύριο λόγο στα ζωικά λίπη και σε πολύ μικρή ποσότητα στα φυτικά λιπαρά. Οι φυτοστερόλες διαφέρουν μεταξύ τους ως προς την δομή των πλευρικών τους αλυσίδων, με τις κορεσμένες μορφές τους να καλούνται φυτοστανόλες. Στην φύση υπάρχουν περισσότερα από 40 είδη φυτοστερολών με κυριότερους εκπρόσωπους: την φυτοστερόλη, την σιτοστερόλη, την στιγμαστερόλη, την καμπεστερόλη, την α- σπιναστερόλη⁽³²⁾ και την β- σιτοστερόλη, η οποία έχει μελετηθεί εκτεταμένα.

Όσον αφορά την δράση τους, πιστεύεται ότι συμβάλουν στην μείωση των επιπέδων της χοληστερόλης στο αίμα. Η δράση τους αυτή αποδίδεται πιθανότατα στην χημική τους δομή, που όπως προαναφέρθηκε παρουσιάζει πολλές ομοιότητες με εκείνη της χοληστερόλης, με αποτέλεσμα να μειώνεται η απορρόφηση της τελευταίας στο έντερο⁽⁴⁴⁾. Επιπλέον διάφορες μελέτες έχουν δείξει την συμβολή των φυτοστερολών στην θεραπεία της υπερπλασίας του προστάτη, του καρκίνου του παχέος εντέρου, της υπεργλυκαιμίας, καθώς και κάποιες αντιβακτηριακές και αντικαρκινικές δράσεις. Ενδεικτικά αναφέρεται μια μελέτη ασθενών-μαρτύρων, που διεξήχθη στην Ουρουγουάη και έδειξε ότι υπάρχει αντίστροφη σχέση ανάμεσα στην συνολική λήψη φυτοστερολών και στον καρκίνο του στομάχου⁽⁴⁵⁾.

Τέλος, αναφέρεται το ιδιαίτερο ενδιαφέρον που παρουσιάζουν οι φυτοστερόλες από βιομηχανική άποψη και χρησιμότητα. Ειδικότερα, γίνεται εκτεταμένη χρήση τους από τις ελαιουργικές βιομηχανίες, οι οποίες παράγουν φυτοστερόλες ως υποπροϊόντα και στην συνέχεια τα χρησιμοποιούν ως πρώτες ύλες για την παρασκευή υποχοληστεριναιμικών μαργαρινών.

4.1. Γενικά στοιχεία για τα Αντιοξειδωτικά

Με τον όρο αντιοξειδωτικά εννοούμε τις ουσίες οι οποίες παρεμποδίζουν τις αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών και των δραστικών μορφών του οξυγόνου. Η παρεμπόδιση αυτή έχει ευεργετικές ιδιότητες για τον ανθρώπινο οργανισμό και του παρέχει προστασία έναντι της επιβλαβούς δράσης των προϊόντων των αντιδράσεων.

Υπάρχουν αντιοξειδωτικά τα οποία παράγονται φυσιολογικά εντός του ανθρώπινου οργανισμού (ενδογενή) όπως, η δισμουτάση, η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και η καταλάση. Ωστόσο ένα πλήθος αντιοξειδωτικών, τα οποία δεν μπορούν να συντεθούν από τον ανθρώπινο οργανισμό (εξωγενή), μπορούν να προσληφθούν μέσω της τροφής. Σε αυτά τα αντιοξειδωτικά ανήκουν οι βιταμίνες E και C, τα καροτενοειδή (β- καροτένιο, λυκοπένιο, βιταμίνη A), οι πολυφαινόλες (φυτοστερόλες, φλαβονοειδή, φαιολικές ενώσεις), το σελήνιο και άλλα μέταλλα απαραίτητα για τη δράση αντιοξειδωτικών ενζύμων του οργανισμού.

Τα αντιοξειδωτικά έχουν μελετηθεί ευρέως και ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η δράση τους ως προστατευτικά του ανθρώπινου οργανισμού έναντι του καρκίνου αλλά και της αθηροσκλήρυνσης⁽⁴⁶⁾.

Επιπλέον έχει πραγματοποιηθεί κατάταξη των τροφίμων ανάλογα με το περιεχόμενο τους σε αντιοξειδωτικά και κατ' επέκταση ανάλογα με την αντιοξειδωτική τους ικανότητα- κλίμακα Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC, USDA ΗΠΑ)⁽⁴³⁾.

4.2. Βιταμίνη C (Ασκορβικό Οξύ)

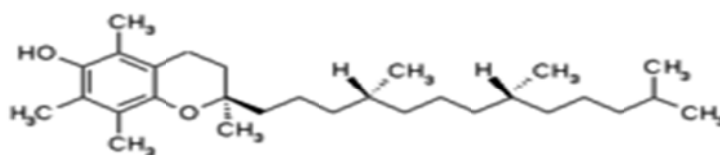
Τα πρωτεύοντα θηλαστικά, όπως ο άνθρωπος δεν έχουν την δυνατότητα σύνθεσης του ασκορβικού οξέος, αδυναμία η οποία οφείλεται στην έλλειψη του ενζύμου γουλονολακτονική οξειδάση. Οι καλύτερες διαιτητικές πηγές της βιταμίνης C είναι τα εσπεριδοειδή, τα σπαράγγια, το μπρόκολο, τα λαχανάκια Βρυξελλών, οι πράσινες πιπεριές, το λάχανο, το κουνουπίδι και οι φράουλες. Η απορρόφηση του ασκορβικού οξέος πραγματοποιείται στον ειλεό με ένα σύστημα ενεργούς μεταφοράς και ποικίλει από 16 % (πρόσληψη 12g) έως 98 % (πρόσληψη < 20g), ενώ η απέκκριση της πραγματοποιείται μέσω των ούρων. Παρά την απλή δομή της η βιταμίνη C, έχει έναν πολύπλοκο λειτουργικό ρόλο στον οργανισμό. Συγκεκριμένα, απαιτείται σε πολλές

αντιδράσεις διαφόρων λειτουργιών του οργανισμού, όπως η σύνθεση κολλαγόνου, η σύνθεση καρνιτίνης, η σύνθεση και ο καταβολισμός τυροσίνης και η σύνθεση νευροδιαβιβαστών. Επιπλέον του ρόλου της ως συμπαράγοντα, η βιταμίνη C δρά και ως σημαντικό αντιοξειδωτικό το οποίο αναστρέφει την οξείδωση στο σώμα. Οι κυριότερες δραστικές μορφές οξυγόνου τις οποίες η βιταμίνη C, μπορεί να ανάγει είναι: Ανιόν υπερυπεροξειδίου ($\text{O}_2^{\cdot-}$), Ρίζα υδροϋπεροξειδική ($\text{HO}_2^{\cdot}$), Ρίζα υδροξυλίου ($\text{OH}^{\cdot}$), Ρίζα αλκοξειδίου ($\text{RO}^{\cdot}$), Ρίζα υπεροξειδίου ($\text{ROO}^{\cdot}$). Πέρα από την αντιοξειδωτική της δράση, η βιταμίνη C είναι ιδιαίτερα γνωστή για τις φαρμακευτικές της ιδιότητες έναντι του κοινού κρυολογήματος, του καρκίνου, των καρδιαγγειακών νοσημάτων και του καταρράκτη. Πιο ειδικά, φαίνεται να υπάρχει ιδιαίτερα ισχυρή προστατευτική δράση λόγω υψηλής πρόσληψης βιταμίνης C για ορισμένους τύπους καρκίνου, όπως του καρκίνου της στοματικής κοιλότητας, του φάρυγγα, του οισοφάγου και του στομάχου. Η συσχέτιση ανάμεσα στην πρόσληψη βιταμίνης C και του καρκίνου των πνευμόνων, του εντέρου και του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας φαίνεται να είναι λιγότερο ισχυρή. Πολλές επιδημιολογικές και προοπτικές μελέτες αναφέρουν τη συσχέτιση της υψηλής πρόσληψης ασκορβικού οξέος ή της υψηλής συγκέντρωσής του στο πλάσμα με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Επίσης, αναφέρεται μια συσχέτιση ανάμεσα στα χαμηλά επίπεδα ασκορβικού οξέος και στην αυξημένη συγκέντρωση ολικής χοληστερόλης στο αίμα, ενώ υψηλές συγκεντρώσεις του στο πλάσμα σχετίζονται με χαμηλή πίεση αίματος και υψηλές συγκεντρώσεις λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας, παραγόντων προστατευτικών έναντι των καρδιακών νοσημάτων. Τονίζεται ωστόσο ότι οι μηχανισμοί με τους οποίους η βιταμίνη C μπορεί να προστατεύσει έναντι του καρκίνου και των καρδιαγγειακών νοσημάτων δεν έχουν διευκρινισθεί πλήρως.

Επιπρόσθετα, η βιταμίνη C αυξάνει την εντερική απορρόφηση του μη αιμικού σιδήρου ενώ μειώνει την απορρόφηση του χαλκού. Η συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη για ενήλικες είναι 60 mg/ ημέρα. Η έλλειψη βιταμίνης C, μπορεί να προκαλέσει σκορβούτο, το οποίο χαρακτηρίζεται από συμπτώματα όπως η αιμορραγία των ούλων, μικρές δυσχρωμίες της επιδερμίδας, εμφάνιση μωλώπων, ασθενή επούλωση τραυμάτων και πόνος αρθρώσεων. Μπορεί να είναι θανατηφόρα αν δεν θεραπευτεί με χορήγηση βιταμίνης C. Τέλος, παρατηρείται σπάνια τοξικότητα από την βιταμίνη C η οποία μπορεί να συμβεί λόγω διαφόρων μεγάλων δόσεων ($> 1 \text{ g}$) της βιταμίνης κατά τη διάρκεια της ημέρας⁽⁴⁷⁾.

4.3. Βιταμίνη E και Τοκοφερόλες⁽⁴⁷⁾

Ο όρος βιταμίνη E περιλαμβάνει οκτώ διαφορετικά μόρια (βιταμερή) τα οποία συντίθενται στα φυτά: τις τοκοφερόλες που έχουν κορεσμένες πλευρικές αλυσίδες με 16 άτομα άνθρακα και τις τοκοτριενόλες, που έχουν ακόρεστες πλευρικές αλυσίδες με 16 άτομα άνθρακα. Κάθε μία από τις δυο παραπάνω κατηγορίες αποτελείται από τέσσερα βιταμερή, τα οποία διαφέρουν στον αριθμό και την θέση των μεθυλικών ομάδων στον χρωμανολικό δακτύλιο. Τα βιταμερή και στις δυο κατηγορίες διακρίνονται σε α, β, γ ή δ. Όσον αφορά τις τοκοφερόλες η πλέον δραστική μορφή στο σώμα μας είναι η α- τοκοφερόλη.



Σχήμα 4.3.1. α- τοκοφερόλη

Οι κύριες πηγές της βιταμίνης E είναι τροφές φυτικής προέλευσης που περιλαμβάνουν τα έλαια (ελαιόλαδο, κραμβέλαιο, ηλιέλαιο κ.α), τα πράσινα μέρη φυτών, τα δημητριακά ολικής άλεσης, τα όσπρια, τα λαχανικά και τους σπόρους φυτών (π.χ. σπόροι τομάτας). Στα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, η α-τοκοφερόλη βρίσκεται κυρίως στο λιπώδη ιστό.

Η πέψη της βιταμίνης E ακολουθεί την πέψη των λιπιδίων ενώ η απορρόφηση της με τη μορφή ελεύθερων αλκοολών γίνεται στη νήστιδα με παθητική διάχυση. Ο βαθμός απορρόφησης της βιταμίνης ποικίλει από 20- 80 % (όσο η προσλαμβανόμενη ουσία αυξάνεται, τόσο το ποσοστό απορρόφησης μειώνεται). Η βιταμίνη E αποθηκεύεται κυρίως στο λιπώδη ιστό, στο ήπαρ, στους πνεύμονες, στην καρδιά, στα επινεφρίδια και στον εγκέφαλο με την συγκέντρωση της στο λιπώδη ιστό να αυξάνει γραμμικά με την ποσότητα της βιταμίνης που προσλαμβάνεται. Η κύρια οδός απέκκρισης της είναι τα κόπρανα μέσω της εντερο- ηπατικής κυκλοφορίας.

Η κύρια λειτουργία της βιταμίνης E είναι η διατήρηση της ακεραιότητας των μεμβρανών, συμπεριλαμβανομένης και της φυσικής σταθερότητας, στα σωματικά κύτταρα.

Επειδή η βιταμίνη E έχει την δυνατότητα να προλαμβάνει την οξείδωση, συνήθως αναφέρεται ως αντιοξειδωτικό συστατικό. Συγκεκριμένα, η βιταμίνη E αντιδρά εύκολα με τις ελεύθερες ρίζες των λιπαρών οξέων και ενώ οξειδώνεται η ίδια, αποτρέπει την οξείδωση των λιποειδών και την περαιτέρω καταστροφή των ιστών. Σε κλινικές μελέτες έχει δοθεί ως αντιοξειδωτικός

παράγων ενάντια στην αθηροσκλήρωση (μειώνει την οξείδωση της LDL), στον καταρράκτη, στον καρκίνο και στον Σακχαρώση Διαβήτη. Επιπλέον *in vivo* φαίνεται ότι η χορήγηση τοκοτριενολών μειώνει τη συγκέντρωση χοληστερόλης στο πλάσμα.

Σχετικά με την νόσο Alzheimer, οι τοκοφερόλες έχουν εξεταστεί τόσο για την πρόληψη όσο και για την θεραπεία της νόσου. Τα αποτελέσματα των μελετών ωστόσο είναι αμφιλεγόμενα. Ορισμένες μελέτες υποστηρίζουν ότι υψηλά επίπεδα βιταμίνης E στην διαίτα, μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο για ανάπτυξη της νόσου, ενώ άλλες μελέτες δεν βρίσκουν τέτοια συσχέτιση⁽³⁴⁾. Επίσης, το Μάιο του 2005, οι Etminanetal⁽⁴⁹⁾ πρότειναν ότι η βιταμίνη E μπορεί να δράσει προστατευτικά στην νόσο Parkinson, τονίζοντας ωστόσο ότι απαιτείται περαιτέρω μελέτη για να εξαχθούν σαφή συμπεράσματα.

Όσον αφορά τις αλληλεπιδράσεις της βιταμίνης E με άλλα θρεπτικά συστατικά υπάρχει στενή αλληλεπίδραση ανάμεσα στη βιταμίνη E και το σελήνιο, με τις δράσεις τους να είναι συμπληρωματικές. Η βιταμίνη C συμπληρώνει λειτουργίες της βιταμίνης E και μπορεί να αναγεννά τη βιταμίνη E που έχει υποστεί οξείδωση. Επιπλέον, η βιταμίνη E αναστέλλει την απορρόφηση του β -καροτένιου ή τη μετατροπή του σε ρετινόλη μέσα στο έντερο και μπορεί να επηρεάσει την απορρόφηση της βιταμίνης K.

Το DRI για την βιταμίνη E για ενήλικες γυναίκες και άντρες είναι 15 mg α- τοκοφερόλης.

Ανεπάρκεια της βιταμίνης E εμφανίζεται σπάνια, κυρίως σε άτομα με σύνδρομο δυσαπορρόφησης των λιπών. Συμπτώματα της ανεπάρκειας είναι: αιμολυτική αναιμία, εκφυλισμός του αμφιβληστροειδούς, αδυναμία των μυών, εκφυλισμός των νευρικών κυττάρων, αταξία κ.α. Αναφέρεται ότι η βιταμίνη E είναι η λιγότερο τοξική από τις λιποδιαλυτές βιταμίνες και σε δόσεις > 800 mg παρατηρήθηκαν συμπτώματα όπως αδυναμία μυών, διπλωπία, κόπωση και γαστρεντερικές διαταραχές.

5.1. Προετοιμασία Σαλατών

Για την παρασκευή των σαλατών χρησιμοποιήθηκαν υλικά προϊόντα τα οποία μπορεί κάποιος να βρεί σε supermarket και αντιπροσωπεύουν ουσιαστικά τα τρόφιμα που χρησιμοποιεί το κάθε νοικοκυριό, τόσο σε αγροτικές όσο και σε αστικές περιοχές. Στόχος μας ήταν η αξιολόγηση των τυπικών ελληνικών σαλατών, αλλά με τρόφιμα τα οποία ανευρίσκονται εύκολα και χρησιμοποιούνται από το μεγαλύτερο μέρος του Ελληνικού πληθυσμού. Σημειώνεται ότι προτιμήθηκε η προμήθεια προϊόντων οργανικής (βιολογικής) γεωργίας, όταν ήταν διαθέσιμα.

5.1.1 Χωριάτικη Σαλάτα (για 4 άτομα)

Υλικά

- Τομάτες
- Αγγούρι
- Κρεμμύδι
- Πράσινη Πιπεριά
- Τυρί Φέτα (Βαρέλι Καλαβρύτων)
- Ελιές (Καλαμών)
- Έξτρα Παρθένο Ελαιόλαδο (ποικιλία Κορωνέϊκο)
- Κάπαρη (τουρσί)
- Ρίγανη

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας
- Μίξερ

Εικόνα 5.1.1.



Πορεία

Μετά την προμήθεια των υλικών της χωριάτικης σαλάτας, πραγματοποιήθηκε ζύγιση του βάρους κάθε συστατικού. Επιπλέον, όπου χρειάστηκε, αφαιρέθηκαν τα μη βρώσιμα μέρη

(φλούδες, κοτσάνια, κουκούτσια) και πραγματοποιήθηκε δεύτερη ζύγιση. Η χωριάτικη σαλάτα που παρασκευάστηκε ήταν ανάλογη σε ποσότητα με αυτή ενός εστιατορίου για τέσσερα άτομα.

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η ποσότητα που χρησιμοποιήθηκε από κάθε υλικό:

Πίνακας 5.1.1.

Υλικά	Βάρος (g)
Τομάτες (χωρίς κοτσάνι)	606,14
Αγγούρι (χωρίς φλούδα)	175,21
Κρεμμύδι (χωρίς φλούδα)	85,95
Πράσινη Πιπεριά (χωρίς κοτσάνι)	108,98
Τυρί Φέτα	110
Ελιές (χωρίς κουκούτσια)	66,31
Έξτρα Παρθένο Ελαιόλαδο	19,13
Κάπαρη	11,37
Ρίγανη	1

Στη συνέχεια τεμαχίσθηκαν τα επιμέρους συστατικά έγινε και ανακάτεμα της σαλάτας σε μεγάλο μπώλ. Τέλος, η σαλάτα ομογενοποιήθηκε με μίξερ και καταψύχθηκε στους - 40°C. Το βάρος των δειγμάτων δίνεται στη συνέχεια.

Πίνακας 5.1.2.

Βάρος δειγμάτων (g)	Κατεργασία	Φύλαξη
1018,94	Λυοφιλίωση	Κατάψυξη στους -40°C
95,7	Φύλαξη	

5.1.2. Πράσινη Σαλάτα, Μαρούλι

Υλικά

- Μαρούλι
- Φρέσκο Κρεμμύδι
- Έξτρα Παρθένο Ελαιόλαδο (ποικιλία Κορωνέϊκο)
- Ξύδι (τύπου Ορλεάνης)

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας
- Μίξερ

Εικόνα 5.1.2.



Πορεία

Η πορεία παρασκευής της πράσινης σαλάτας ήταν όμοια με εκείνη της χωριάτικης σαλάτας. Συγκεκριμένα τα επιμέρους βάρη των συστατικών φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 5.1.3.

Υλικά	Βάρος (g)
Μαρούλι (χωρίς κοτσάνι και τα εξωτερικά φύλλα)	250,4
Φρέσκο Κρεμμύδι (χωρίς τη φλούδα)	48,6
Έξτρα Παρθένο Ελαιόλαδο	12,83
Ξύδι	10,06

Ακολουθεί ομογενοποίηση της σαλάτας με μίξερ και φύλαξη της στην κατάψυξη:

Πίνακας 5.1.4.

Βάρος δειγμάτων (g)	Κατεργασία	Φύλαξη
286,53	Λυοφιλίωση	Κατάψυξη στους -40°C
70,50	Φύλαξη	

5.1.3. Σαλάτα Λάχανο Καρότο

Υλικά

- Λάχανο
- Καρότο
- Χυμός Λεμονιού
- Σκόρδο
- Κάπαρη (τουρσί)
- Έξτρα Παρθένο Ελαιόλαδο (ποικιλία Κορωνέϊκο)



Όργανα

- Ζυγός ακριβείας
- Μίξερ

Εικόνα 5.1.3.

Πορεία

Η πορεία παρασκευής της σαλάτας ήταν όμοια με εκείνη της χωριάτικης και της πράσινης σαλάτας. Συγκεκριμένα τα επιμέρους βάρη των συστατικών φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 5.1.5.

Υλικά	Βάρος (g)
Λάχανο (χωρίς κοτσάνι και το εξωτερικό φύλλο)	393,2
Καρότο (χωρίς τη φλούδα)	97,46
Χυμός Λεμονιού	23,35
Έξτρα Παρθένο Ελαιόλαδο	13,36
Σκόρδο (χωρίς τη φλούδα)	4,26
Κάπαρη	20,92

Ακολουθεί ομογενοποίηση της σαλάτας με μίξερ και φύλαξη της στην κατάψυξη:

Πίνακας 5.1.6.

Βάρος δειγμάτων (g)	Κατεργασία	Φύλαξη
470	Λυοφιλίωση	Κατάψυξη στους -40°C
60,66	Φύλαξη	

5.2.Λυοφιλίωση

Υλικά-όργανα

- Συσκευή λυοφιλίωσης
- Ζυγός ακριβείας
- Ομογενοποιημένα δείγματα σαλατών (Χωριάτικη, Μαρούλι, Λάχανο- Καρότο)

Αναλυτική πορεία

Η λυοφιλίωση είναι μία μέθοδος αφυδάτωσης των τροφίμων σε ήπιες συνθήκες, που ελαχιστοποιεί τον κίνδυνο καταστροφής των ευαίσθητων συστατικών του δείγματος. Πλεονεκτεί των υπολοίπων μεθόδων αφυδάτωσης καθώς δεν καταστρέφει τα θρεπτικά συστατικά του τροφίμου, διατηρεί σε σημαντικό βαθμό τα πτητικά αρωματικά συστατικά του, συντηρεί καλύτερα τα χαρακτηριστικά της δομής και εμφάνισης του, καθώς η συρρίκνωση είναι αμελητέα. Επιπλέον τα δείγματα δεν αφρίζουν, δεν σκληραίνουν, δεν οξειδώνονται και δεν υφίστανται καμία μεταβολή στην μικροβιοχλωρίδα τους κατά την επεξεργασία αυτή.

Η μέθοδος της ξήρανσης των τροφίμων με λυοφιλίωση, συνίσταται στην κατάψυξη του υπό ξήρανση υλικού και κατόπιν την εξάχνωση του σχηματισθέντος πάγου μέσα στο κατεψυγμένο υλικό, ώστε να παραχθεί το αφυδατωμένο προϊόν. Η κλίση της τάσης των ατμών που είναι απαραίτητη για την εξάχνωση, επιτυγχάνεται με την διατήρηση ορισμένης ολικής πίεσης στον θάλαμο της ξήρανσης. Οι δημιουργούμενοι υδρατμοί απάγονται με ένα σύστημα συμπύκνωσης τους.

Η μέθοδος εφαρμόστηκε στα 3 είδη σαλάτας για την απομάκρυνση της υγρασίας. Προζυγισμένη ποσότητα του κάθε κατεψυγμένου δείγματος τοποθετήθηκε στο λυοφιλωτή και λυοφιλώθηκε. Η πίεση ήταν μικρότερη του 1 mbar και η θερμοκρασία - 50 °C έως - 40°C. Η όλη διαδικασία διήρκεσε 72 ώρες και η μεταβολή του βάρους πριν και μετά τη λυοφιλίωση αντιστοιχεί στην περιεχόμενη αρχικά υγρασία του κάθε δείγματος.

Συντήρηση των δειγμάτων

Τα λυοφιλωμένα δείγματα σαλατών ομογενοποιήθηκαν με μπλέντερ, μεταφέρθηκαν σε γυάλινα δοχεία που κλείνουν αεροστεγώς, σφραγίσθηκαν με parafilm και φυλάχθηκαν σε βαθειά ψύξη (- 40° C) μέχρι να αναλυθούν. Παράλληλα φυλάχθηκαν σε βαθειά ψύξη (- 40° C) νωπά ομογενοποιημένα δείγματα σαλατών χωρίς να λυοφιλωθούν.

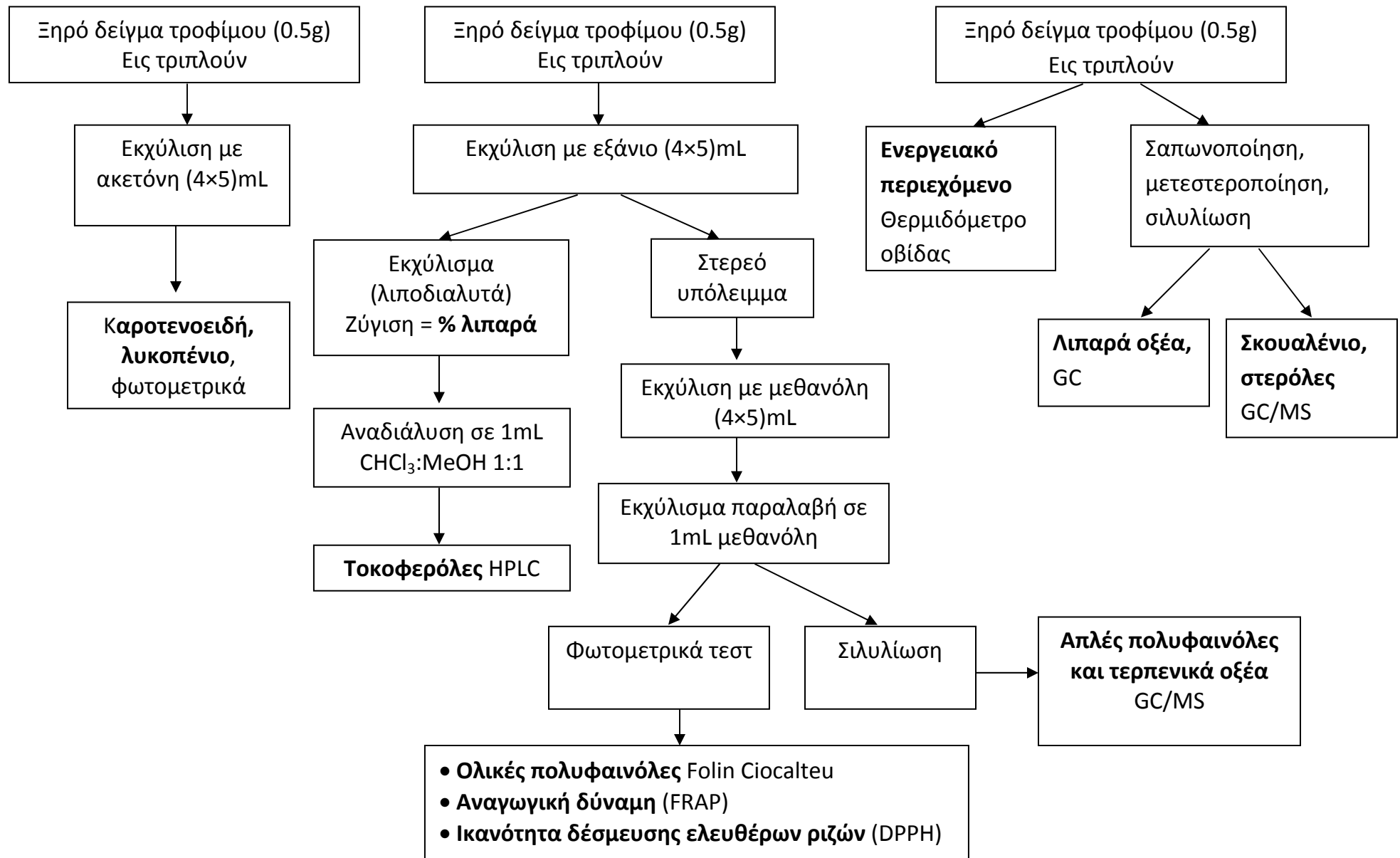
5.3.Προσδιορισμός υγρασίας στα δείγματα σαλατών

Το μεγαλύτερο μέρος της περιεχόμενης υγρασίας στα δείγματα σαλατών απομακρύνθηκε μέσω της λυοφιλίωσης. Ωστόσο, κατά τη διάρκεια της λυοφιλίωσης κάποιο μικρό ποσοστό υγρασίας παρέμεινε στα δείγματα. Αυτή η παραμένουσα υγρασία, προσδιορίστηκε με θέρμανση σε πυριαντήριο. Συγκεκριμένα, ζυγίστηκαν με ακρίβεια 4 δεκαδικών ψηφίων λυοφιλωμένα δείγματα από κάθε σαλάτα σε κάψες πορσελάνης και τοποθετήθηκαν για ξήρανση σε φούρνο στους 105° C και ζυγίζονταν μέχρι σταθερού βάρους. Από την απώλεια βάρους υπολογίστηκε η παραμένουσα υγρασία.



Εικόνα 5.3.1.

Σχηματική παράσταση της αναλυτικής πορείας που ακολουθήθηκε μετά τη λυοφιλίωση των δειγμάτων



5.4.Προσδιορισμός Τοκοφερολών με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης (HPLC)

Υλικά- αντιδραστήρια

1. Λυοφιλιωμένα τρόφιμα
2. Διαλύτες: Εξάνιο, μεθανόλη, ακετονιτρίλιο αναλυτικής καθαρότητας, χλωροφόρμιο και ισοπροπανόλη χρωματογραφικής καθαρότητας (HPLC, Merck).
3. Υλικά εργαστηρίου: Δοκιμαστικοί σωλήνες, ογκομετρικοί κύλινδροι, ογκομετρικές φιάλες, ποτήρια ζέσεως, σιφόνια, πιπέττες Pasteur, ρυθμιζόμενες πιπέττες, vials.
4. Αντιδραστήρια:
 - BHT (Butylated Hydroxytoluene), (Sigma)
 - α-τοκοφερόλη, δ-τοκοφερόλη (Sigma)
 - Σιλυλιωτικό αντιδραστήριο BSTFA bis-(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide
 - Εσωτερικό πρότυπο, Internal Standard (IS): 3-(4-Υδροξυφαινυλο)-1-προπανόλη (Aldrich)
 - Αέριο άζωτο (N₂)

Όργανα

- HPLC Χρωματογράφος (HP 1050, ανιχνευτές UV-Vis και φθορισμομετρικός HP1046A)
- Φυγόκεντρικός συμπυκνωτής Speed Vac
- Ζυγός
- Υδρόλουτρο
- Φυγόκεντρος
- Κυκλοαναδευτήρας (Vortex)

Πειραματική Πορεία

1. Ζυγίστηκε δείγμα σαλάτας (0,5 g) με ακρίβεια 4 δεκαδικών ψηφίων σε δοκιμαστικό σωλήνα με βιδωτό πώμα. Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε τρεις φορές για κάθε σαλάτα.
2. Προστέθηκαν 5 mL διάλυμα εξανίου που περιέχει αντιοξειδωτικό BHT.
3. Το μίγμα τροφίμου/ διαλύτη αναδεύτηκε σε Vortex για 2 λεπτά και κατόπιν τοποθετήθηκε στη φυγόκεντρο (3000 rpm) για 10 λεπτά.

4. Έγινε παραλαβή της οργανικής φάσεως με πιπέτα Pasteur σε νέο σωληνάκι προζυγισμένο.
5. Τα στάδια 2- 4 επαναλήφθηκαν 3 φορές με προσθήκη στο δοκιμαστικό σωλήνα με το τρόφιμο, εκ νέου, διαλύτη για ποσοτική παραλαβή. Έγιναν δηλαδή επί συνόλου 4 εκχυλίσσεις (5×4 mL).
6. Οι οργανικές φάσεις συλλέχθηκαν και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με εξάτμιση στο Speed Vac (μέχρι ξηρού).
7. Ζυγίσθηκε το σωληνάκι με το ξηρό εκχύλισμα για υπολογισμό λίπους.
8. Τα δείγματα των λιπαρών μεταφέρθηκαν ποσοτικά, με επαναλαμβανόμενες προσθήκες διαλύτη (χλωροφόρμιο/ μεθανόλη 1: 1), σε ογκομετρική φιάλη του 1 mL και συμπληρώθηκε μέχρι όγκου με χλωροφόρμιο/ μεθανόλη 1: 1. Στη συνέχεια μεταφέρθηκαν σε φιαλίδια GC, σφραγίσθηκαν και φυλάχθηκαν στους -40°C μέχρι να αναλυθούν.
9. Μετά τη μέτρηση των τοκοφερολών το εκχύλισμα μπορεί να χρησιμεύσει για προσδιορισμό λιπαρών οξέων, φυτοστερολών και σκουαλενίου.
10. Το στερεό απολιπασμένο υπόλειμμα του αρχικού δείγματος, αφού απομακρυνθεί τελείως το εξάνιο στο speed vac, θα χρησιμεύσει για την παραλαβή και προσδιορισμό των πολυφαινολών και για τα φωτομετρικά τεστ.

Εικόνα 5.4.1.



Μέτρηση των τοκοφερολών

Για τον προσδιορισμό των τοκοφερολών, τα εξανικά εκχυλίσματα των δειγμάτων που αναδιαλύθηκαν σε χλωροφόρμιο: μεθανόλη όπως περιγράφηκε στην παράγραφο 5.4, υποβλήθηκαν σε υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης ανάστροφης φάσης (RP- HPLC) σε ένα σύστημα της Agilent model HP 1050 (Wallbronn, Germany), εφοδιασμένο με αυτόματο δειγματολήπτη, ανιχνευτή πολλαπλών φωτοδίοδων HP-1050 και φθορισμομετρικό ανιχνευτή HP 1046A. Χρησιμοποιήθηκε τετραπλό σύστημα διαλυτών αποτελούμενο από νερό οξινισμένο (pH=3) με ο-φωσφορικό οξύ, μεθανόλη, ακετονιτρίλιο και προπανόλη -2. Έγινε βαθμωτή έκλουση σε στήλη Nucleosil C18 100-5 (125 mm × 4.6 mm) (MZ, Wöhlerstr., Mainz, Germany) με ρυθμό ροής 1 ml/ min ως ακολούθως:

Αρχικά: από 90 % μεθανόλη 10% και νερό (pH 3), μέχρι 95 % μεθανόλη και 5 % νερό (pH=3) σε 10 min. Στη συνέχεια 100 % μεθανόλη σε 10 min, όπου και κρατήθηκε ισοκρατικά επί 5 min. Στη συνέχεια 20 % ακετονιτρίλιο, 20 % μεθανόλη και 60 % προπανόλη -2 σε 1 min, και ισοκρατικά επί 10 min. Τελικά επιστροφή στις αρχικές συνθήκες σε 4 min.

Η ποσοτικοποίηση έγινε με τη βοήθεια καμπυλών αναφοράς που κατασκευάστηκαν από την σειρά 5 προτύπων διαλυμάτων με διαφορετικές συγκεντρώσεις α- γ- και δ- τοκοφερόλης. Η β- και η γ- τοκοφερόλη που συνεκλούνται ποσοτικοποιήθηκαν ως β+γ-τοκοφερόλη, βάσει της καμπύλης αναφοράς της γ- τοκοφερόλης.

5.5. Προσδιορισμός Λιπαρών Οξέων, Φυτοστερολών και Σκουαλενίου

Ο προσδιορισμός έγινε σε ομογενοποιημένα λυοφιλιωμένα δείγματα.

Πειραματική Πορεία

1. Ζυγίζονται περίπου 100 mg από το λυοφιλιωμένο δείγμα τροφίμου σε δοκιμαστικό σωλήνα με βιδωτό πώμα καλυμμένο εσωτερικά με Teflon.
2. Προσθήκη 2 mL διαλ/τος KOH/ MeOH 0.5 M.
3. Καλή ανακίνηση στο Vortex.
4. Παραμονή σε υδατόλουτρο στους 95°C για 20 min.
5. Ψύξη των σωλήνων με νερό βρύσης.
6. Προσθήκη 1.5 mL BF₃/ MeOH.

7. Καλή ανακίνηση στο Vortex.
8. Παραμονή σε υδατόλουτρο στους 95° C για 3 min.
9. Κρύωμα των σωλήνων με νερό βρύσης.
10. Προσθήκη 4 mL κορεσμένου διαλ/τος NaCl.
11. Προσθήκη 2.0 mL εξανίου που περιέχει αντιοξειδωτικό BHT 100 ppm.
12. Καλή ανακίνηση στο Vortex .
13. Φυγοκέντρωση στις 2500 στρ/ min για ~ 5 min.
14. Λήψη από την υπερκείμενη στοιβάδα:
 - 1 mL για σκουαλένιο/ φυτοστερόλες και τοποθετησή τους σε φιαλίδια του GC
 - 0.5 mL για λιπαρά οξέα

Φυτοστερόλες/σκουαλένιο

15. Στα φιαλίδια που περιέχουν το 1 mL, προσθήκη εσωτερικού προτύπου 200μL 5α-χολεστανίου 1:1 (200.1 mg 5-α-χολεστανίου σε 200 mL εξάνιο)
16. Εξάτμιση του περιεχομένου των φιαλιδίων μέχρι ξηρού σε ρεύμα N₂.
17. Προσθήκη 250 μL BSTFA και σφράγισμα των φιαλιδίων.
18. Παραμονή στο υδατόλουτρο για 20 min στους 70° C για να ολοκληρωθεί η σιλυλίωση.
19. Ανάλυση των δειγμάτων με GC/ MS.

Αεριοχρωματογραφικός προσδιορισμός σκουαλενίου και στερολών

Οι φυτοστερόλες και το σκουαλένιο διαχωρίστηκαν και προσδιορίστηκαν με GC/MS. Ο αέριος χρωματογράφος ήταν ένα σύστημα της Agilent (Wallbronn, Germany) HP Series 6890 N εφοδιασμένος με ανιχνευτή HP 5973 MS (EI, ηλεκτρονιακού ιονισμού 70 eV), εισαγωγέα split – splitless και αυτόματο δειγματολήπτη HP 7683. Για τον διαχωρισμό χρησιμοποιήθηκε τριχοειδής στήλη HP-5 MS με επικάλυψη 5 % phenyl–95 % methyl siloxane, μήκους 30 m, με εσωτερική διάμετρο 0,25 mm και πάχος εσωτερικής επίστρωσης 0,25 μm. Ο εισαγωγέας τέθηκε στους 250°C και η γραμμή μεταφοράς του δείγματος από την αεριοχρωματογραφική στήλη στον ανιχνευτή μάζας (MSD transfer line) στους 300 °C. Η εισαγωγή 1 μL δείγματος έγινε με σχάση δείγματος 20:1 (split ratio 20:1). Η θερμοκρασία του εισαγωγέα και της γραμμής μεταφοράς ρυθμίσθηκαν στους 140°C και 290°C αντίστοιχα. Η θερμοκρασία φούρνου αυξήθηκε από τους 100 στους 300°C με ρυθμό 20°C / min και διατηρήθηκε στους 300°C για 15 min. Η ποσοτικοποίηση έγινε με χρήση εσωτερικού προτύπου 5-α-χολεστανίου

και κατασκευή καμπυλών αναφοράς με χρήση διαλυμάτων προτύπων ουσιών αναφοράς για σκουαλένιο, χοληστερόλη, β-σιτοστερόλη, καμπεστερόλη και στιγμαστερόλη.

Λιπαρά οξέα

20. Μεταφέρονται τα 0.5mL της υπερκείμενης εξανικής στιβάδας (του σταδίου 14) σε φιαλίδια GC, τα φιαλίδια σφραγίζονται και τα δείγματα είναι έτοιμα για μέτρηση με GC/ FID.

Αεριοχρωματογραφικός προσδιορισμός λιπαρών οξέων

Τα λιπαρά οξέα προσδιορίσθηκαν υπό τη μορφή των μεθυλεστέρων τους σε αεριοχρωματογράφο Agilent HP-6890 (Avondale, PA, USA) εφοδιασμένο με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας, διάταξη εισαγωγή δείγματος split-splitless και αυτόματο δειγματολήπτη HP 6890. Ο όγκος δείγματος ήταν 1 μ L, φέρον αέριο υψηλής καθαρότητας ήλιο με ροή 0,8 mL/min, τριχοειδής στήλη BPX70 (μήκος 50 m, εσωτερική διάμετρος 0,25 mm και εσωτερική επικάλυψη πάχους 0.25 μ m από κυανοπροπυλσιλικόνη). Ο χώρος εισαγωγής δείγματος και ο ανιχνευτής ήταν στους 230 και 290 °C αντίστοιχα. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα του χρωματογράφου ήταν: 130 °C αρχικά, στη συνέχεια αύξηση στους 250 °C με ρυθμό 3 °C/min και παραμονή στην τελική θερμοκρασία επί 5 min. Οι χρόνοι κατακράτησης των λιπαρών οξέων επιβεβαιώθηκαν με χρήση πολυπροτύπου 37 μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων της Sigma (Sigma L9405, St Louis, MO, USA).

5.6. Προσδιορισμός Πολυφαινολών

Πειραματική Πορεία

1. Στους δοκιμαστικούς σωλήνες με το απολιπασμένο στερεό υπόλειμμα από την παραλαβή των λιποειδών προστέθηκε μεθανόλη (5 mL).
2. Το μίγμα υπολείμματος/ διαλύτη αναδεύτηκε σε Vortex για 2 λεπτά και κατόπιν τοποθετήθηκε σε φυγόκεντρο (3000 rpm) για 10 λεπτά.
3. Έγινε παραλαβή της οργανικής φάσεως σε νέους σωλήνες.

4. Τα στάδια 1-3 επαναλήφθηκαν 3 φορές με προσθήκη εκ νέου, διαλύτη για ποσοτική παραλαβή. Έγιναν δηλαδή επί συνόλου 4 εκχυλίσαις (4 × 5 mL).
5. Οι οργανικές φάσεις συνενώθηκαν και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με εξάτμιση στο Speed Vac στους 45° C (μέχρι ξηρού).
6. Το ξηρό υπόλειμμα αναδιαλύθηκε σε 1.0 mL μεθανόλης και μετά από ανάδευση το δείγμα φυλάχθηκε για περαιτέρω ανάλυση.

5.7.A. Προετοιμασία δειγμάτων για ανάλυση πολυφαινόλων και τερπενικών οξέων με αέρια χρωματογραφία.

Αντίδραση Σιλυλίωσης

Αντιδραστήρια

- Μεθανολικά εκχυλίσματα (από δείγματα σαλάτας)
- Εσωτερικό πρότυπο 3-(4- υδροξυφαινυλο)-1-προπανόλη (19,2 µg/mL)
- Διάλυμα αντιδραστηρίου σιλυλίωσης BSTFA (bis-(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide, δις-τριμεθυλσιλυλ-τριφθοροακεταμίδιο) σε πυριδίνη
- Αέριο άζωτο (N₂)

Όργανα - υλικά

- Φιαλίδια (vials)
- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Ρυθμιζόμενες πιπέτες 100-1000 µL και 10-100 µL
- Υδατόλουτρο
- Εξαρτημα για σφράγιση των vials

Πειραματική πορεία- Αντίδραση σιλυλίωσης

1. Λαμβάνονται 50µL από κάθε εκχύλισμα και μεταφέρονται σε φιαλίδια (vials) για σιλυλίωση.
2. Σε κάθε vial προστέθηκαν 50 µl εσωτερικού προτύπου (Internal Standard).
3. Στη συνέχεια τα vials τοποθετούνται στον εξατμιστήρα Speed Vac για εξάτμιση μέχρι ξηρού.
4. Μετά το πέρας της εξάτμισης, στα ξηρά εκχυλίσματα προστίθενται 250 µL σιλυλιωτικού αντιδραστηρίου BSTFA, το οποίο μετατρέπει τις πολυφαινόλες και τα τυχόν τερπενικά

οξέα σε πτητικά παράγωγα, και συγκεκριμένα στους τριμεθυλσιλυλιωμένους αιθέρες (TMS) τους.

5. Τέλος, τα vials σφραγίστηκαν και τοποθετήθηκαν σε υδρόλουτρο για 20 λεπτά στους 70 °C, ώστε να ολοκληρωθεί η αντίδραση σιλυλίωσης.
6. Στη συνέχεια, τα δείγματα αφού ψυχθούν, είναι έτοιμα να μετρηθούν με GC/ MS.

5.7.B. Αέρια Χρωματογραφία/ φασματοσκοπία μάζας (GC/ MS) για τον προσδιορισμό πολυφαινολών και τερπενικών οξέων

Όργανα και αντιδραστήρια

- Αέριος χρωματογράφος (GC) (6890N Agilent Technologies)
- Σιλυλιωμένα εκχυλίσματα δειγμάτων σαλατών σε μεθανόλη

Πειραματική Πορεία

Ο διαχωρισμός των πολυφαινολικών συστατικών και των τερπενικών οξέων των εκχυλισμάτων έγινε με αέρια χρωματογραφία, ενώ η ανίχνευση και ο ποσοτικός προσδιορισμός τους έγινε με φασματογράφο μάζας

Για την ανάλυση 1 μL από τα σιλυλιωμένα δείγματα εισαγόταν με ένεση στον αέριο χρωματογράφο. Ο αέριος χρωματογράφος ήταν ένα σύστημα της Agilent (Wallbronn, Germany) HP Series 6890 N εφοδιασμένος με ανιχνευτή HP 5973 MS (EI, ηλεκτρονιακού ιονισμού 70 eV), εισαγωγέα split – splitless και αυτόματο δειγματολήπτη HP 7683.

Για τον διαχωρισμό χρησιμοποιήθηκε τριχοειδής στήλη HP-5 MS με επικάλυψη 5 % phenyl– 95 % methyl siloxane, μήκους 30 m, με εσωτερική διάμετρο 0.25 mm και πάχος εσωτερικής επίστρωσης 0,25 μm . Ο εισαγωγέας τέθηκε στους 250 °C και η γραμμή μεταφοράς του δείγματος από την αεριοχρωματογραφική στήλη στον ανιχνευτή μάζας (MSD transfer line) στους 300 °C. Η εισαγωγή 1 μL δείγματος έγινε με σχάση δείγματος 20:1 (split ratio 20:1). Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε He με ροή 0.6 mL/ min. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα του φούρνου του αεριοχρωματογράφου που εφαρμόστηκε για τον διαχωρισμό ήταν : 70°C για 5 min, 70- 130 °C με ρυθμό ανόδου 15 °C/ min, 130- 160°C με ρυθμό ανόδου 4°C/ min και παραμονή για 15 min και τέλος άνοδος από 160- 300 °C με ρυθμό 10 °C/ min και παραμονή στην τελική θερμοκρασία για 15 min.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των πολυφαινολικών και τερπενικών συστατικών έγινε με την τεχνική της εκλεκτικής παρακολούθησης ιόντων (Selective Ion Monitoring). Κατ'αυτή την μέθοδο, η ανίχνευση των πολυφαινολών και των τερπενικών οξέων (ποιοτικός προσδιορισμός) βασίζεται στην παρουσία στο δείγμα τριών χαρακτηριστικών για κάθε συστατικό ιόντων (θραυσμάτων), με ανοχή $\pm 0.05 \times RT$ όπου RT είναι ο αναμενόμενος χρόνος κατακράτησης των συστατικών από πρότυπα διαλύματα, και ο ποσοτικός προσδιορισμός βασίζεται σε ένα από τα τρία ιόντα που ορίζεται ως «ιόν στόχος» (target), ενώ επιβεβαιώνεται από τους λόγους της έντασης απόκρισης των άλλων 2 ιόντων (qualifiers) προς την ένταση απόκρισης του ιόντος στόχου στο δείγμα.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός έγινε με την μέθοδο εσωτερικού προτύπου. Ως τέτοιο επελέγη η 3-(4- υδρόξυ – φαινυλο) -1- προπανόλη. Μια σειρά προτύπων διαλυμάτων – μιγμάτων των συστατικών που προσδιορίζονται – οδήγησε στην κατασκευή μιας καμπύλης αναφοράς για κάθε συστατικό σε περιοχή συγκεντρώσεων από 80– 3500 ng/ mL. Οι καμπύλες αναφοράς ήταν γραμμικές με καλούς συντελεστές γραμμικής συσχέτισης ($R^2 > 0.996$) για όλες τις ουσίες που προσδιορίστηκαν. Οι ποσοτικοί υπολογισμοί έγιναν βάσει των ιόντων στόχων (target ions) ενώ χρησιμοποιήθηκαν και 1-2 ιόντα επιβεβαίωσης (qualifier ions) η αναλογία των σημάτων των οποίων επιβεβαιώνει ή απορρίπτει την υπόθεση ταυτοποίησης του κάθε συστατικού. Στον πίνακα που ακολουθεί δίνονται οι τιμές m/z των ιόντων- στόχων (T) και των ιόντων επιβεβαίωσης (Q1 και Q2):

Πίνακας. Απλές πολυφαινόλες και τερπενικά οξέα που προσδιορίστηκαν με GC/MS

Ένωση	Ιόν-στόχος (target ion) (m/z) ^a	Ιόντα επιβεβαίωσης (qualifier ions) (m/z) ^a
<i>Πολυφαινόλες</i>		
Βανιλίνη	194	209
Κινναμωμικό οξύ	205	220
Τυροσόλη	179	267, 282
<i>p</i> -Υδροξυβενζοϊκό οξύ	267	223, 193
<i>p</i> -Υδροξυφαινυλοξικό οξύ	252	296, 281
3-(4-Υδροξυφαινυλ)-1-προπανόλη (εσωτερικό πρότυπο)	206	191, 179
Φλορετικό οξύ	192	310
Βανιλικό οξύ	297	267, 312
Ομοβανιλικό οξύ	326	267, 311
<i>o</i> -Κουμαρικό οξύ	293	308, 147
Προτοκατεχικό οξύ	193	355, 370
3,4-Διυδροξυφαινυλοξικό οξύ	384	267, 179
Συριγλικό οξύ	327	342, 312
<i>p</i> -Κουμαρικό οξύ	308	293, 219
Γαλλικό οξύ	281	458, 443
Φερουλικό οξύ	338	323, 308
Καφεϊκό οξύ	396	219, 381
Σιναπικό οξύ	368	353, 338
Ρεσβερατρόλη	444	445, 443
Χρυσίνη	383	384
Επικατεχίνη	368	355, 474
Ναριγκενίνη	473	296
Κατεχίνη	368	355, 474
Γενισταΐνη	473	
Καμπφερόλη	559	560
Χλωρογενικό οξύ	345	307, 324
Κερκετίνη	647	559, 575
Μυρισετίνη	735	647, 575
Λουτεολίνη	559	471, 399
<i>Τερπενικά οξέα</i>		
Ολεανολικό οξύ	203	320, 482
Ουρσολικό οξύ	203	320
Μασλινικό οξύ	203	320

a: αφορούν τους τριμεθυλσιλυλαιθέρους των συστατικών

6.1.Προσδιορισμός του συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο FolinCiocalteu

Αρχή της Μεθόδου

Η μέθοδος βασίζεται σε χρωματομετρική οξειδοαναγωγική αντίδραση με την οποία προσδιορίζεται το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο του δείγματος, χωρίς διάκριση μεταξύ μονομερών, διμερών και πολυμερών φαινολικών συστατικών. Το αντιδραστήριο FolinCiocalteu είναι διάλυμα σύνθετων πολυμερών ιόντων που σχηματίζονται από φωσφο-μολυβδαινικά και φωσφο-βολφραμικά ετεροπολυμερή οξέα. Τα φαινολικά ιόντα οξειδώνονται με ταυτόχρονη αναγωγή των ετεροπολυμερών οξέων. Το προϊόν της αντίδρασης είναι σύμπλεγμα μολυβδαινίου-βολφραμίου (Mo- W) χαρακτηριστικής μπλε χρώσης, το οποίο απορροφά στο ορατό (750 nm).

Η αλκαλικότητα ρυθμίζεται με κορεσμένο διάλυμα Na_2CO_3 (20 % w/ v), το οποίο δεν διαταράσσει την σταθερότητα του αντιδραστήριου και του προϊόντος της αντίδρασης.

Υλικά- Αντιδραστήρια

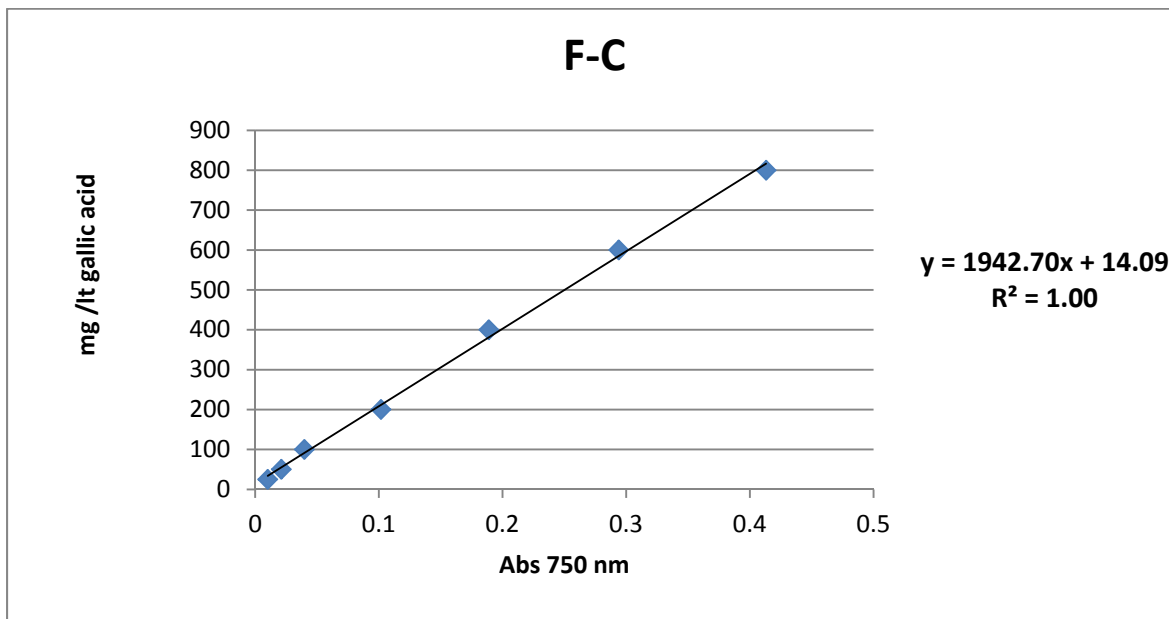
- Αντιδραστήριο FolinCiocalteu
- Απιονισμένο νερό
- Κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3 , 20 % w/ v)
- Δείγματα: μεθανολικά εκχυλίσματα σαλατών (3 δείγματα για κάθε σαλάτα)

Όργανα

- Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης
- Αναδευτήρας (Vortex)
- Eppendorf 1,5 ml
- Πιπέτες: 1000 μL , 100 μL

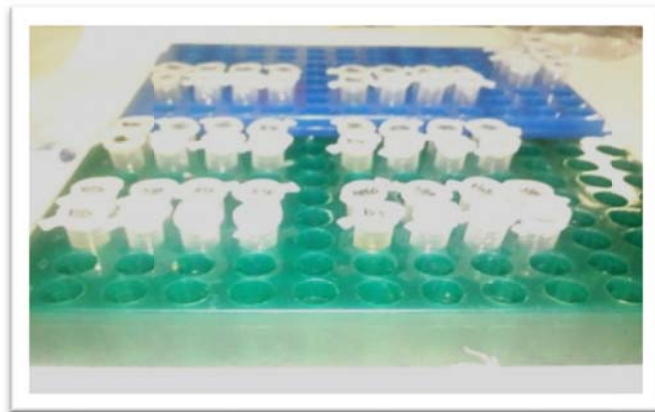
Πειραματική Πορεία

1. Σε Eppendorf 1,5 ml τοποθετούνται 790 μL απιονισμένο νερό, 10 μL μεθανολικού εκχυλίσματος σαλατών και 50 μL αντιδραστήριο Folin Ciocalteu. Παράλληλα παρασκευάζονται και τυφλά δείγματα τα οποία περιέχουν 800 μL απιονισμένο νερό και 50 μL αντιδραστήριο Folin Ciocalteu.
2. Ανάδευση σε Vortex και αναμονή για 1 min.
3. Προστίθεται διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3 , 20 % w/ v).
4. Ακολουθεί ανάδευση σε Vortex. Τα δείγματα παραμένουν στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου για 120 min. (Απαραίτητος χρόνος για την πραγματοποίηση της αντίδρασης)
5. Μετά το πέρας των 120 min, τα δείγματα φωτομετρούνται σε φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης στα 750 nm.
6. Τέλος, η συγκέντρωση των πολυφαινόλων στα δείγματα υπολογίζεται μέσω πρότυπης καμπύλης αναφοράς γαλλικού οξέος και εκφράζεται ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος.



Παρατηρήσεις

- Το αντιδραστήριο Folin Ciocalteu πρέπει να είναι εκτός ψυγείου 1 ώρα πριν την χρήση του, όπου παραμένει στο σκοτάδι, καθώς είναι ιδιαίτερα φωτοευαίσθητο και οξειδώνεται εύκολα.
- Το διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3 ,20 % w/ v), παρασκευάζεται μια ημέρα πριν την εκτέλεση του προσδιορισμού , ώστε να είναι κορεσμένο.
- Το τελικό προϊόν της αντίδρασης αναμένουμε να έχει χρώμα από μπλέ ανοιχτό έως μπλε σκούρο.
- Το φωτόμετρο τίθεται σε λειτουργία τουλάχιστον 20 min πριν την μέτρηση:
 - ✓ Αν $A > 1,2 \rightarrow$ Επανάληψη της μέτρησης μετά από αραιώση του δείγματος
 - ✓ Αν $A < 0,1 \rightarrow$ Επανάληψη της μέτρησης μετά από συμπύκνωση του δείγματος



Εικόνα 6.1.1.

6.2. Αντιοξειδωτικά Τεστ

6.2.A. Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλο-υδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH[•])

Αρχή της Μεθόδου

Η μέθοδος DPPH (1,1-διφαινυλο-2-πικρυλο-υδράζυλο), αποτελεί μια μέθοδο εκτίμησης του πολυφαινολικού περιεχομένου που βασίζεται στην μέτρηση της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών. Στην ικανότητα αυτή των πολυφαινολών αποδίδεται η αντιοξειδωτική τους δράση, με αποτέλεσμα η συγκεκριμένη μέθοδος να δίνει την ικανότητα εκτίμησης της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των πολυφαινολών του εκάστοτε εκχυλίσματος. Αποτελεί *in vitro* τεχνική η οποία έχει το πλεονέκτημα να μην είναι χρονοβόρα. Οι φωτομετρήσεις πραγματοποιούνται στα 515 nm. Μεγαλύτερη απορρόφηση σημαίνει μεγαλύτερη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών του DPPH, επομένως και μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση.

Πρώτη Μέτρηση

Υλικά- Αντιδραστήρια

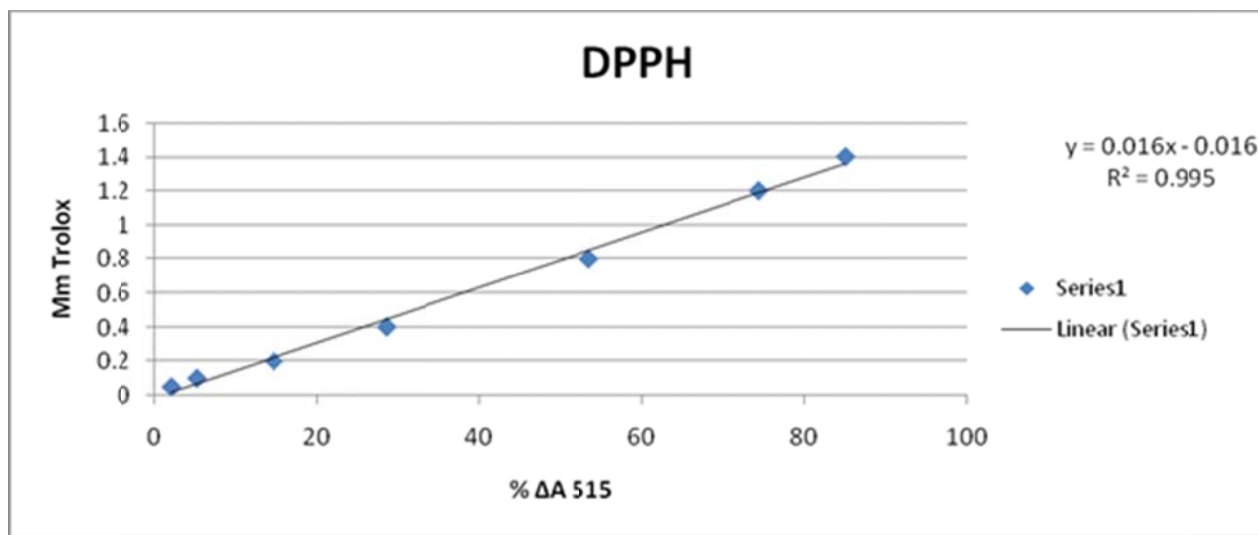
- Διάλυμα DPPH (100 μ M σε Μεθανόλη)
- Μεθανόλη
- Δείγματα: μεθανολικά εκχυλίσματα σαλατών (3 δείγματα για κάθε σαλάτα)

Όργανα

- Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης
- Αναδευτήρας (Vortex)
- Eppendorf 1,5 ml (3 για το κάθε δείγμα → Συνολο:27 και 2 για τα τυφλά)
- Πιπέτες: 1000 μ L, 100 μ L

Πειραματική Πορεία

1. Σε Eppendorf 1,5 ml τοποθετούνται 25 μL μεθανολικού εκχυλίσματος (δείγμα) και 975 μL διαλύματος DPPH (100 μM σε μεθανόλη). Παράλληλα παρασκευάζονται και 2 τυφλά δείγματα τα οποία περιέχουν 1000 μL μεθανόλη και 1 δείγμα το οποίο περιέχει μόνο 1000 μL διαλύματος DPPH (100 μM σε Μεθανόλη).
2. Ανάδευση σε Vortex και αναμονή για 1 min.
3. Τα δείγματα παραμένουν στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου για 30min. (Απαραίτητος χρόνος για την πραγματοποίηση της αντίδρασης)
4. Μετά το πέρας των 30min, τα δείγματα τοποθετούνται σε κυψελίδες και ακολουθεί φωτομέτρηση σε φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης στα 515 nm.
5. Παράλληλα κατασκευάζουμε καμπύλη αναφοράς Trolox (ανάλογο της Βιταμίνης E με ικανότητα δέσμησης της ελεύθερης ρίζας DPPH) και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα Trolox.



Παρατηρήσεις

- Η αντιοξειδωτική ικανότητα προσδιορίστηκε από τον τύπο:

$$A_{AR} = 0.018 \times \% \Delta A_{515} + 0.017 \quad (R^2 = 0.993)$$

$$\text{και } \% \Delta A_{515} = \left(\frac{A_{515}^0 - A_{515}^{30}}{A_{515}^0} \right) \times 100$$

- Όσο αυξάνει η αντιοξειδωτική δράση τόσο το DPPH αποχρωματίζεται.
- Στον χρόνο $t = 0 \text{ min}$ γίνεται φωτομέτρηση του δείγματος το οποίο περιέχει μόνο DPPH.
- Το Διάλυμα DPPH (100 μM σε Μεθανόλη) παρασκευάζεται ως εξής:

Υπολογισμοί: Τελικός όγκος διαλύματος: 100 mL και $MB_{\text{DPPH}} = 394,32$

Στα 100 mL διαλύματος περιέχονται 100 μmol DPPH

Στα 100 mL διαλύματος περιέχονται x ; μmol DPPH

Άρα: $x = 10 \mu\text{mol}$ DPPH

$n = m / MB$ άρα $m = n * MB = 10 \mu\text{mol} * 394,32 \text{ g/mol} = 0,0039432 \text{ g}$ DPPH

Στη συνέχεια σε ζυγό ακριβείας σε ποτηράκι ζέσεως, 4 δεκαδικών ψηφίων ζυγίζεται ποσότητα ίση με 0,0039432g DPPH (στερεό- μώβ χρώμα). Έπειτα προστίθεται στο ποτηράκι ζέσεως μεθανόλη και πραγματοποιείται μεταφορά σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL και γέμισμα έως την χαραγή με μεθανόλη.

Το διάλυμα μεταφέρεται σε σωληνάκια με βιδωτό πώμα τυλιγμένα με αλουμινόχαρτο και αποθηκεύεται στο ψυγείο, διότι είναι ευαίσθητο στο φως, την θερμοκρασία και τον αέρα.

Διατηρείται έως και 1 και $\frac{1}{2}$ εβδομάδα μετά την παρασκευή του.

Δεύτερη Μέτρηση

Πραγματοποίηση εκχύλισης σε αρχικά δείγματα με χλωροφόρμιο (CHCl_3), και καθαρισμός για απομάκρυνση της χλωροφύλλης.

Πειραματική Πορεία

1. Ζυγίστηκε δείγμα σαλάτας (0,5 g) με ακρίβεια 4 δεκαδικών ψηφίων σε δοκιμαστικό σωλήνα με βιδωτό πώμα. Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε τρεις φορές για κάθε σαλάτα (στην χωριάτικη 2 δείγματα).
2. Προστέθηκαν 5 mL διάλυμα χλωροφορμίου που περιείχει αντιοξειδωτικό BHT
3. Το μίγμα τροφίμου/ διαλύτη αναδεύτηκε σε Vortex για 2 λεπτά και κατόπιν τοποθετήθηκε στη φυγόκεντρο (3000 rpm) για 10 λεπτά.
4. Έγινε παραλαβή της οργανικής φάσεως με πιπέτα Pasteur σε νέο σωληνάκι προζυγισμένο.

5. Τα στάδια 2-4 επαναλήφθηκαν 3 φορές με προσθήκη στο δοκιμαστικό σωλήνα με το τρόφιμο, εκ νέου, διαλύτη για ποσοτική παραλαβή. Έγιναν δηλαδή επί συνόλου 4 εκχυλίσεις (5×4 mL).
6. Οι οργανικές φάσεις συλλέχθηκαν και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με εξάτμιση στο Speed Vac (μέχρι ξηρού).
7. Τα δείγματα των λιπαρών μεταφέρθηκαν ποσοτικά, με επαναλαμβανόμενες προσθήκες διαλύτη (χλωροφόρμιο/ μεθανόλη 1:1), σε ογκομετρική φιάλη του 1 mL και συμπληρώθηκε μέχρι όγκου με χλωροφόρμιο/ μεθανόλη 1:1. Στη συνέχεια μεταφέρθηκαν σε φιαλίδια GC, σφραγίσθηκαν και φυλάχθηκαν στους -40°C μέχρι να αναλυθούν.
8. Το στερεό απολιπασμένο υπόλειμμα του αρχικού δείγματος, αφού απομακρύνθηκε τελείως το χλωροφόρμιο στο speed vac, χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο DPPH.

Στην συνέχεια ακολουθήθηκε ίδια πορεία με την πρώτη μέτρηση για την πραγματοποίηση του αντιοξειδωτικού τεστ.



Εικόνα 6.2.1.

6.2.B. Προσδιορισμός αναγωγικής ικανότητας μέσω αναγωγής του Fe^{+3} σε Fe^{+2} (ferric ion reducing antioxidant power, FRAP)

Υλικά- Αντιδραστήρια

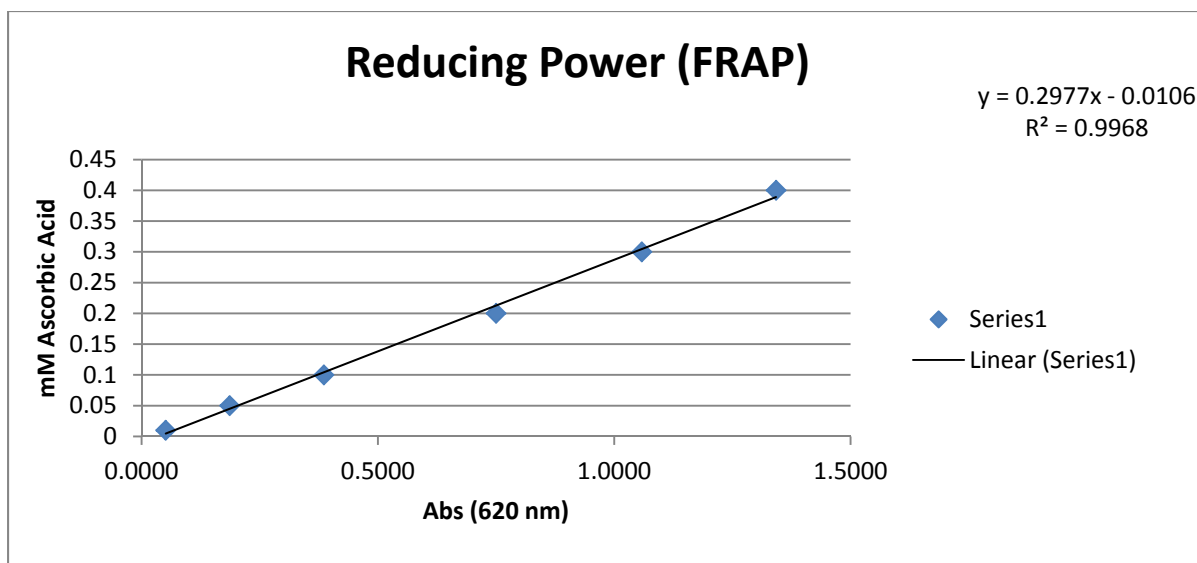
- Διάλυμα FeCl_3 (3 mM σε 5 mM HCl)
- Διάλυμα TPTZ (1 mM σε 0.05 M HCl)
- Απεσταγμένο νερό
- Δείγματα: μεθανολικά εκχυλίσματα σαλατών (3 δείγματα για κάθε σαλάτα)

Όργανα

- Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης
- Αναδευτήρας (Vortex)
- Eppendorf 1,5 ml (3 για το κάθε δείγμα → Συνολο:27 και 2 για τα τυφλά)
- Πιπέτες: 1000 μL , 100 μL

Πειραματική Πορεία

1. Σε Eppendorf 1,5 ml τοποθετούνται 50 μL μεθανολικού εκχυλίσματος (δείγμα) και 50 μL FeCl_3 (3 mM σε 5 mM HCl). Παράλληλα παρασκευάζονται τα τυφλά δείγματα, συγκεκριμένα για κάθε εκχύλισμα παρασκευάζονται 2 λευκά δείγματα, όπου στην θέση του FeCl_3 τοποθετείται απεσταγμένο νερό.
2. Ανάδευση σε Vortex και αναμονή για 1 min.
3. Αφήνουμε το μείγμα να αντιδράσει για 30 min σε υδρόλουτρο στους 37°C .
4. Προστίθενται 900 μL διαλύματος TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine, 1 mM σε 0.05 M HCl), και ακολουθεί ανάδευση σε Vortex. Ο Fe^{+2} που παράγεται σχηματίζει έγχρωμο (μπλέ) σύμπλοκο με το TPTZ.
5. Τα δείγματα παραμένουν για 10 min στο σκοτάδι και στην συνέχεια τοποθετούνται σε κυψελίδες και ακολουθεί φωτομέτρηση σε φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης στα 620 nm.
6. Παράλληλα κατασκευάζεται καμπύλη αναφοράς Βιταμίνης C (η Βιταμίνη C ανάγει το Fe^{3+} σε Fe^{2+}) και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα ασκορβικού οξέος.



Παρατηρήσεις

•Όσο αυξάνει η αντιοξειδωτική δράση τόσο πιο έντονο μπλέ χρώμα παρατηρείται.

•Το Διάλυμα 0.05 M HCl παρασκευάζεται ως εξής:

Αρχικό Πυκνό HCl 11,5 N

Υπολογισμοί: Τελικός όγκος διαλύματος: 250 mL και $MB_{HCl} = 36.5$

Άρα: $C_{αρχ} * V_{αρχ} = C_{τελ} * V_{τελ}$ άρα $V_{αρχ} = 1.1$ mL και 248.9 mL απεσταγμένο νερό

•Το Διάλυμα 0.005 M HCl παρασκευάζεται από το διάλυμα 0.05 M HCl:

$C_{αρχ} * V_{αρχ} = C_{τελ} * V_{τελ}$ άρα $V_{αρχ} = 0.005 * 100 / 0.05 = 10$ mL και 90 mL απεσταγμένο νερό

•Από τα παραπάνω διαλύματα παρασκευάζονται στην συνέχεια το διάλυμα $FeCl_3$ (3 mM in 5 mM HCl) και το διάλυμα TPTZ (1 mM 0.05 M HCl).

•Τα διαλύματα μεταφέρονται σε ειδικά σωληνάκια τυλιγμένα με αλουμινόχαρτο και αποθηκεύεται στο ψυγείο, διότι είναι ευαίσθητα στο φως, την θερμοκρασία και τον αέρα.

•Διατηρούνται έως και 1 και ½ εβδομάδα μετά την παρασκευή τους.

6.3. Φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός καροτενοειδών

Υλικά- Αντιδραστήρια

- Αιθανόλη: εξάνιο 4:3 v/ v
- β- καροτένιο πρότυπη ουσία
- Απεσταγμένο νερό
- Δείγματα: αφυδατωμένα δείγματα σαλατών (3 δείγματα για κάθε σαλάτα)

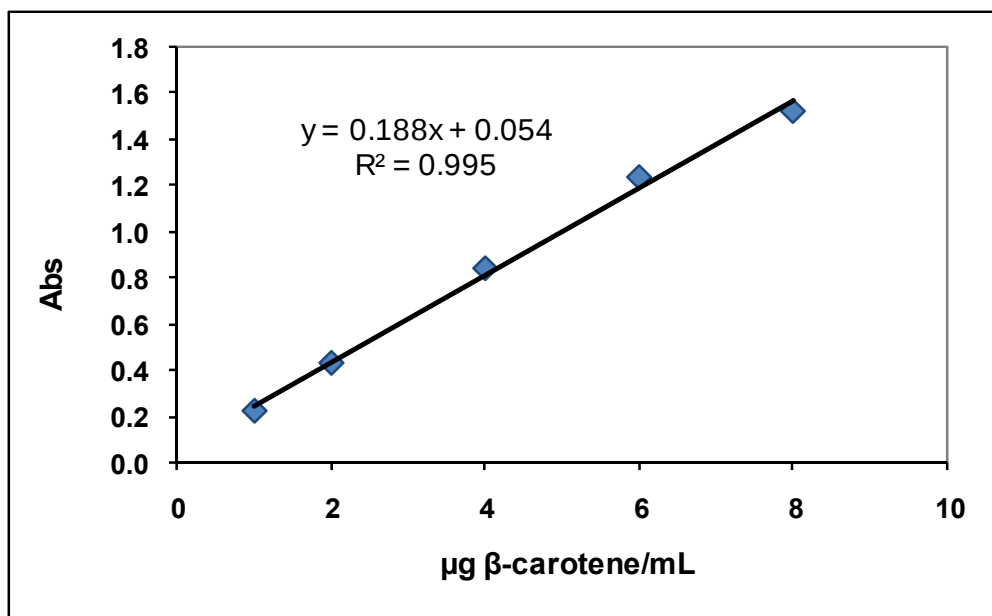
Όργανα

- Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης
- Αναδευτήρας (Vortex)
- Πιπέτες: 1000 μ L, 100 μ L

Πειραματική Πορεία

Τα δείγματα εκχυλίσθηκαν με αιθανόλη: εξάνιο 4:3 v/ v, που σύμφωνα με τους Lin&Chen (2003) ήταν το αποτελεσματικότερο σύστημα διαλυτών για την ποσοτική παραλαβή των καροτενοειδών. Η εκχύλιση έγινε σε 100 mg αφυδατωμένων δειγμάτων με συνολικά 10 mL διαλύτη ($4 \times 2,5$ mL). Τα εκχυλίσματα διηθήθηκαν με σύριγγα σε ηθμούς μεμβράνης 0.25 μ m και στη συνέχεια φωτομετρήθηκαν στα 470 nm. Για αποφυγή της έκθεσης των δειγμάτων σε φως, η όλη εργασία έγινε σε χώρο μειωμένου φωτισμού, με δοκιμαστικούς σωλήνες καλυμμένους εξωτερικά με αλουμινόχαρτο και μειώνοντας όσο το δυνατόν το συνολικό χρόνο της ανάλυσης.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός έγινε με καμπύλη αναφοράς από πρότυπα διαλύματα β-καροτενίου σύμφωνα με τους Lin & Chen (2003).



(Lin & Chen (2003).Determination of carotenoids in tomato juice by liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1012, 103–109)

Κεφάλαιο 7⁰

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

7.1. Υγρασία

Η συνολική υγρασία υπολογίζεται προσθέτοντας την υγρασία που απομακρύνθηκε κατά τη διάρκεια της λυοφιλίωσης και αυτήν που είχε παραμείνει μετά την λυοφιλίωση και απομακρύνθηκε με ξήρανση στους 105° C.

Πίνακας 7.1. Υγρασία και τέφρα (% επί νωπού) των Ελληνικών σαλατών

Δείγμα	Κωδικός	Τέφρα	Υγρασία μέσω λυοφιλίωσης	Υγρασία λυοφιλωμένων	Συνολική υγρασία
Χωριάτικη σαλάτα	T1	1,167			87,61
	T2	1,147			87,63
	T3	1,076			87,62
	M.O.	1,13	87,01	0,61	87,62
Μαρούλι	M1	0,300			95,19
	M2	0,215			95,22
	M3	0,310			95,16
	M.O.	0,275	94,86	0,33	95,19
Λάχανο- καρότο	Λ1	0,697			89,21
	Λ2	0,677			89,23
	Λ3	0,677			89,32
	M.O.	0,684	88,22	1,03	89,25

Παρατηρούμε ότι και οι τρεις σαλάτες περιέχουν σημαντικές ποσότητες υγρασίας με την ακόλουθη σειρά: Μαρούλι > Λάχανο- Κάροτο> Χωριάτικη. Επιπλέον, όσον αφορά την τέφρα η χωριάτικη σαλάτα περιέχει συγκριτικά με τις υπόλοιπες την μεγαλύτερη ποσότητα κυρίως λόγω των αλάτων της φέτας, των ελιών και της κάπαρης.

7.2. Ενεργειακό Περιεχόμενο Σαλατών

Πίνακας 7.2.Ενεργειακό περιεχόμενο των Ελληνικών σαλατών

Δείγμα	H_o (kJ/100g fw)	H_o (kcal/100g fw)	Υπολογισμένα από πίνακες του USDA (kcal/100gfw)
Χωριάτικη Σαλάτα	308,96	73,78	62,13
Σαλάτα Μαρούλι	125,84	30,5	52,29
Σαλάτα Λάχανο	227,18	54,25	51,53

H_o: Ενέργεια, fw: επί νωπού βάρους

Παρατηρώντας τα αποτελέσματά μας παρατηρούμε ότι την μικρότερη ενέργεια (τις λιγότερες θερμίδες) παρέχει η πράσινη σαλάτα (30,5 kcal/ 100g), ακολουθεί η σαλάτα λάχανο (54,25 kcal/ 100g) και τέλος η χωριάτικη σαλάτα με τις περισσότερες θερμίδες (73,78 kcal/ 100g), κάτι αναμενόμενο δεδομένου ότι η χωριάτικη περιέχει πέραν των λαχανικών και του ελαιολάδου, φέτα και ελιές.

Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε κατά προσέγγιση υπολογισμός του Ενεργειακού περιεχομένου σε kcal των σαλατών, με βάση τα επιμέρους συστατικά τους, από τη βάση δεδομένων του USDA. Στόχος ήταν η σύγκριση των αποτελεσμάτων μας με μια έγκυρη βάση δεδομένων, και εφόσον δεν υπάρχει αντίστοιχη ελληνική χρησιμοποιήθηκε η βάση δεδομένων της USDA (StandardreleaseNo 23). Παρατηρούμε ότι τα αποτελέσματα των μετρήσεων μας, με εξαίρεση την πράσινη σαλάτα, είναι συγκρίσιμα με αυτά που υπολογίσθηκαν από τα δεδομένα των πινάκων του USDA.

7.3. Λίπος και λιπαρά οξέα σε Ελληνικές σαλάτες

Πίνακας 7.3.1.Περιεχόμενα λιπαρά (%) σε Ελληνικές σαλάτες

Δείγμα	Κωδικός	Λίπος (% dw)	Λίπος (% fw)	M.O. ±SD (% fw)
Χωριάτικη Σαλάτα	T1	39,45	4,88	4,85±0,035
	T2	39,28	4,86	
	T3	38,90	4,82	
Σαλάτα Μαρούλι	M1	43,52	2,09	2,09±0,008
	M2	43,19	2,08	
	M3	43,35	2,09	
Σαλάτα Λάχανο-	Λ1	19,70	2,12	2,15±0,026
	Λ2	20,05	2,16	
	Λ3	20,17	2,17	

dw: επί ξηρού βάρους, fw: επί νωπού βάρους

Παρατηρούμε ότι τα περισσότερα λιπαρά επί νωπού βάρους, περιέχει η χωριάτικη λόγω της παρουσίας της φέτας και των ελιών. Ακολουθεί η πράσινη σαλάτα και έπειτα η σαλάτα λάχανο-καρότο, με μικρή διαφορά μεταξύ τους.

Πίνακας 7.3.2. Πίνακας των κύριων τάξεων λιπαρών οξέων σε Ελληνικές σαλάτες και εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) εκφρασμένων ως g/ 100g λιπαρών οξέων

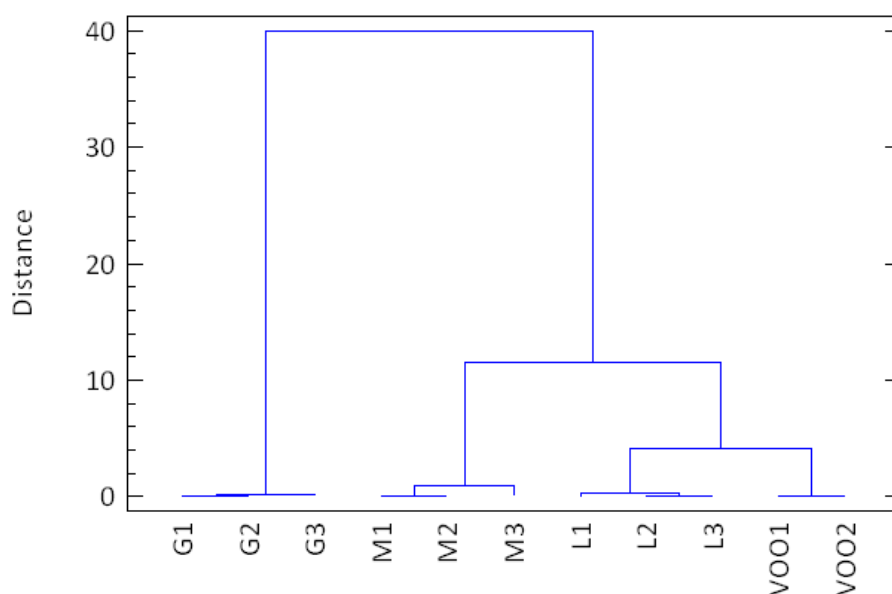
Δείγμα	SFA	MUFA	PUFA	trans	ω6	ω3	ω6/ω3
Χωριάτικη (Greek, G)	34,33	52,49	9,84	0,96	7,92	1,32	6,02
	34,29	52,36	9,83	1,05	7,93	1,30	6,08
	34,09	52,40	9,82	1,12	7,88	1,35	5,85
	15,58	75,73	7,54	0,02	6,43	1,11	5,80
Μαρούλι (M)	15,74	75,55	7,49	0,01	6,41	1,08	5,91
	15,57	75,75	7,69	0,02	6,47	1,23	5,26
	15,57	74,70	8,15	0,04	7,12	1,03	6,91
	15,99	73,88	8,37	0,09	7,36	1,01	7,27
Λάχανο (L)	16,16	74,67	7,95	0,05	6,99	0,96	7,28
	14,25	78,53	6,33	0,00	5,50	0,83	6,65
EVOO (VOO)	14,23	78,52	6,31	0,00	5,50	0,81	6,78

SFA: κορεσμένα λιπαρά οξέα, MUFA: μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, PUFA: πολυακόρεστα λιπαρά οξέα

Στον Πίνακα 7.3.2 δίνονται οι κύριες τάξεις των λιπαρών οξέων. Παρατηρείται διαφοροποίηση των λιπαρών οξέων κυρίως στη χωριάτικη σαλάτα, λόγω της παρουσίας της φέτας, το λίπος της

οποίας είναι πιο πλούσιο σε κορεσμένα και *trans* λιπαρά οξέα και πιο φτωχό σε μονοακόρεστα, κάτι το οποίο δεν παρατηρείται στις υπόλοιπες σαλάτες. Οι ομοιότητες/ διαφορές των σαλατών μεταξύ τους και με το παρθένο ελαιόλαδο είναι εμφανείς και στο δενδρόγραμμα του σχήματος 7.3.

Σχημα 7.3. Ομοιότητα των δειγμάτων σαλάτας (G, M, L) και του παρθένου ελαιολάδου (VOO) βάσει των κύριων τάξεων των λιπαρών οξέων



Πίνακας 7.3.3. Πίνακας των κύριων τάξεων λιπαρών οξέων σε Ελληνικές σαλάτες και παρθένο ελαιόλαδο εκφρασμένων ως g/ 100gνωπού τροφίμου.

Δείγμα	SFA	MUFA	PUFA	<i>trans</i>	ω6	ω3	ω6/ω3
Χωριάτικη	1,59	2,43	0,46	0,04	0,37	0,06	6,02
	1,59	2,43	0,46	0,05	0,37	0,06	6,08
	1,58	2,43	0,46	0,05	0,37	0,06	5,85
Μαρούλι	0,31	1,51	0,15	0,00	0,13	0,02	5,80
	0,31	1,51	0,15	0,00	0,13	0,02	5,91
	0,31	1,51	0,15	0,00	0,13	0,02	5,26
Λάχανο	0,32	1,54	0,17	0,00	0,15	0,02	6,91
	0,33	1,52	0,17	0,00	0,15	0,02	7,27
	0,33	1,53	0,16	0,00	0,14	0,02	7,28
EVOO	13,08	72,07	5,81	0,00	5,05	0,76	6,65
	13,06	72,06	5,79	0,00	5,04	0,74	6,78

SFA: κορεσμένα λιπαρά οξέα, MUFA: μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, PUFA: πολυακόρεστα λιπαρά οξέα

Στον **πίνακα 7.3.3**, παρουσιάζονται οι κύριες τάξεις λιπαρών οξέων εκφρασμένες ως g/ 100g σαλάτας. Παρατηρούμε ότι την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα την έχει η χωριάτικη σαλάτα ανά 100g νωπού τροφίμου και ακολουθούν οι άλλες δυο σαλάτες, οι οποίες κυμαίνονται περίπου στα ίδια επίπεδα. Η χωριάτικη σαλάτα έχει επίσης, την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε μονοακόρεστα και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, ενώ ανευρίσκονται και trans λιπαρά οξέα για τους λόγους που αναφέρθηκαν παραπάνω.

Επιπλέον, παρατηρούμε ότι σε κάθε περίπτωση, οι λόγοι $\omega 6/ \omega 3$ είναι κοντά στην τιμή του 5 που θεωρείται ως επιθυμητή από τους Budowski & Crawford (1985). Αναφέρεται ο συγκεκριμένος λόγος καθώς φαίνεται ότι μια μικρή αύξηση της αναλογίας του λόγου $\omega 6/ \omega 3$ σχετίζεται με σημαντικά μικρότερη πιθανότητα να παρατηρηθούν χαμηλά επίπεδα CRP και IL-6.

Παρατηρήσεις

Για τη μετατροπή των % λιπαρών οξέων από g/ 100g λιπαρών οξέων σε g/ 100g νωπού τροφίμου, χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής 0,956 διότι πρακτικά το περιεχόμενο λίπος της κάθε σαλάτας προέρχεται από το ελαιολαδο. Το μόνο δείγμα το οποίο διαφέρει είναι εκείνο της χωριάτικης σαλάτας καθώς περιέχει φέτα (γαλακτοκομικό προϊόν). Ωστόσο, και τα γαλακτοκομικά προϊόντα έχουν παρεμφερή συντελεστή, ίσο με 0,945, επομένως χρησιμοποιήθηκε ένας κοινός συντελεστής για την μετατροπή, ίσος με 0,956 για όλες τις σαλάτες.

7.4. Σκουαλένιο και στερόλες σε Ελληνικές σαλάτες

Πίνακας 7.4.1 Σκουαλένιο και στερόλες σε Ελληνικές σαλάτες και παρθένο ελαιόλαδο (mg/100g fw)

Δείγμα	Σκουα- λένιο	Χολη- στερό- λη	Καμπε- στερόλη	Στιγμα- στερό-λη	β-Σιτο- στερόλη	Δ5-αβena- στερόλη	Ολικές φυτοστερόλες
	5,43	4,03	1,14	1,01	3,67	1,16	6,98
Χωριάτικη	5,26	4,71	1,31	1,20	4,13	1,30	7,93
	5,39	5,02	1,64	1,43	4,56	1,61	9,24
	5,36	-	0,81	1,09	2,72	0,92	5,54
Μαρούλι	5,59	-	0,90	1,27	3,65	1,10	6,92
	5,68	-	0,78	1,16	3,36	0,98	6,28
	5,02	-	2,33	1,06	7,86	1,23	12,48
Λάχανο	3,99	-	1,98	1,15	5,91	1,21	10,25
	4,75	-	2,47	1,29	7,77	1,48	13,01
EVOO	226,78	-	47,65	46,08	130,72	60,15	284,60
	225,87	-	60,62	58,32	131,25	71,88	322,08

Παρατηρούμε ότι όλες οι σαλάτες περιέχουν σκουαλένιο και φυτοστερόλες, ενώ μόνο η χωριάτικη περιέχει χοληστερόλη η οποία προφανώς προέρχεται από τη φέτα. Βάσει της περιεκτικότητας σκουαλενίου και φυτοστερολών στο ελαιόλαδο και στα δείγματα σαλάτας υπολογίσθηκε ότι το σκουαλένιο και οι φυτοστερόλες στις σαλάτες προέρχονται κυρίως από το ελαιόλαδο. Επομένως, η τελική τους συγκέντρωση στις σαλάτες εξαρτάται από την ποσότητα του προστιθέμενου ελαιολάδου.

7.5. Τοκοφερόλες στις ελληνικές σαλάτες και στο ελαιόλαδο

Τα αποτελέσματα των προσδιορισμών των επιμέρους τοκοφερολών φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 7.5. Τοκοφερόλες σε ελληνικές σαλάτες και σε παρθένο ελαιόλαδο (mg/ 100g fw)/ (μέσοι όροι $\pm$ SD από 3-6 αναλύσεις)

Δείγμα	α - τοκοφερόλη	β + γ - τοκοφερόλη	δ - τοκοφερόλη
Χωριάτικη	1,17 $\pm$ 0,17	0,09 $\pm$ 0,00	0,006 $\pm$ 0,003
Μαρούλι	0,64 $\pm$ 0,02	0,14 $\pm$ 0,00	0,003 $\pm$ 0,001
Λάχανο- Καρότο	0,60 $\pm$ 0,02	0,02 $\pm$ 0,00	0,001 $\pm$ 0,004
EVOO*	21,47 $\pm$ 3,83	0,42 $\pm$ 0,04	ND

*EVOO: εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο, ND: δεν ανιχνεύθηκε

Παρατηρούμε ότι τόσο στο ελαιόλαδο όσο και στις σαλάτες η α -τοκοφερόλη είναι η επικρατούσα τοκοφερόλη, με την χωριάτικη σαλάτα να παρουσιάζει μεγαλύτερη συγκέντρωση συγκριτικά με τις υπόλοιπες.

7.6. Καροτενοειδή στις ελληνικές σαλάτες

Πίνακας 7.6. Καροτενοειδή σε ελληνικές σαλάτες (εκφρασμένα ως mg β - καροτενίου /100g fw)

Τρόφιμο	Δείγμα	Καροτενοειδή	Μ. Όρος	SD
Χωριάτικη	T1	3.28	3.42	0.20
	T2	3.56		
Μαρούλι	M1	2.77	2.80	0.03
	M2	2.82		
Λάχανο- Καρότο	L1	1.95	2.12	0.25
	L2	2.30		

Παρατηρούμε ότι η υψηλότερη συγκέντρωση καροτενοειδών βρέθηκε στην χωριάτικη σαλάτα προφανώς λόγω της τομάτας, ακολουθεί η πράσινη σαλάτα και η σαλάτα λάχανο-καρότο.

7.7. Απλές πολυφαινόλες (PP) σε σαλάτες και αγνό παρθένο ελαιόλαδο

Τονίζεται ότι για τον προσδιορισμό των απλών πολυφαινολών σιλυλιώθηκαν 50 μL ή 100 μL από τα 2 mL μεθανολικού διαλύματος του εκχυλίσματος και έγινε ανάλυση με GC/ MS.

Τα δείγματα που μετρήθηκαν προέκυψαν ως ακολούθως:

Κωδικός	Περιγραφή	Βάρος (mg)	Όγκος εκχυλίσματος (mL)	Όγκος προς ανάλυση (μL)	Συντελεστής «αραίωσης»
T1050	χωριάτικη	495,6	2,00	50	40
T1100	χωριάτικη	495,6	2,00	100	20
T2050	χωριάτικη	502,5	2,00	50	40
T2100	χωριάτικη	502,5	2,00	100	20
T3050	χωριάτικη	500,5	2,00	50	40
T3100	χωριάτικη	500,5	2,00	100	20
M1050	μαρούλι	498,4	2,00	50	40
M1100	μαρούλι	498,4	2,00	100	20
M2050	μαρούλι	497,1	2,00	50	40
M2100	μαρούλι	497,1	2,00	100	20
M3050	μαρούλι	498,5	2,00	50	40
M3100	μαρούλι	498,5	2,00	100	20
Λ1050	λάχανο	498,6	2,00	50	40
Λ1100	λάχανο	498,6	2,00	100	20
Λ2050	λάχανο	501,8	2,00	50	40
Λ2100	λάχανο	501,8	2,00	100	20
Λ3050	λάχανο	497,3	2,00	50	40
Λ3100	λάχανο	497,3	2,00	100	20

Από τις αναλύσεις με GC/ MS προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα

ΠΙΝΑΚΑΣ 7.7.1. Απλές πολυφαινόλες και τερπενικά οξέα σε ελληνικές σαλάτες και σε παρθένο ελαιόλαδο

(μg/ 100g νωπού τροφίμου)

Ένωση	Χωριάτικη		Λάχανο		Μαρούλι		Παρθένο ελαιόλαδο	
	Μ Όρος	SD	Μ Όρος	SD	Μ Όρος	SD	Μ Όρος	SD
Βανιλίνη	2.32	0.87	0.03	0.08	0.17	0.12	6.53	1.07
Κινναμικό οξύ	3.71	1.72	1.05	0.64	0.15	0.03	2.41	0.63
Τυροσόλη	167.95	24.45	9.09	0.90	4.39	0.88	527.19	45.00
OH-Τυροσόλη	2130.48	41.58	13.29	0.28	21.69	0.42	580.81	35.27
P-OH βενζοϊκό οξύ	9.79	1.83	10.09	1.84	0.66	0.23	1.06	0.14
P-OH Φαινυλοξικό οξύ	5.78	1.25	3.45	4.60	10.52	1.88	1.95	0.14
Ομοβανιλλική αλκοόλη	6.39	1.29	0.84	0.77	0.54	0.13	18.19	1.38
Φλωρετικό οξύ	35.90	13.21	0.49	0.60	0.28	0.68	0.19	0.32
Βανιλλικό οξύ	24.28	9.49	7.00	1.10	1.23	0.35	6.31	0.02
Πρωτοκατεχουικό οξύ	52.54	15.02	13.49	7.29	1.33	1.07	0.18	0.31
3-4 Διδροξυ- Φαινυλοξικό οξύ	3.36	5.37	0.24	0.42	0.01	0.03	ND	ND
Συρινγικό οξύ	2.51	1.40	1.35	0.70	1.34	0.71	0.35	0.09
p- Κουμαρικό οξύ	86.88	20.35	24.40	6.29	3.52	1.82	2.98	0.17
Γαλλικό οξύ	44.49	24.98	30.11	11.37	5.25	2.97	3.87	0.71
Φερουλικό οξύ	8.12	1.06	12.97	1.43	1.93	0.30	0.70	0.07
Καφεϊκό οξύ	37.92	6.48	53.33	39.03	71.33	6.45	0.83	0.31
Σιναπικό οξύ	7.03	4.58	85.79	11.43	1.77	0.11	0.52	0.60
Ρεσβερατρολη	2.55	0.60	1.02	0.64	0.29	0.08	0.13	0.04
Χρυσίνη	138.09	27.13	149.32	37.21	16.44	2.62	12.46	2.49
Επικατεχίνη	6.61	4.34	4.95	2.03	0.74	0.46	0.24	0.12
Ναριγκενίνη	22.24	9.00	0.77	1.20	1.05	0.13	6.73	0.13
Κατεχίνη	6.56	4.09	4.95	2.50	0.75	0.46	0.01	0.01
Γενιστεΐνη	ND	ND	ND	ND	0.06	0.07	4.45	0.26
Καμφερόλη	43.49	21.74	141.31	60.95	2.55	0.45	1.98	0.19
Χλωρογενικό οξύ	44.45	19.61	169.51	77.49	93.17	12.59	ND	ND
Κερκετίνη	35.17	11.12	38.54	13.78	20.25	2.29	3.53	6.12
Λουτεολίνη	79.95	32.07	9.76	5.74	16.74	3.13	5.07	5.79
Ολεανολικό οξύ	3359.39	1151.28	33.16	7.32	8.05	4.60	4690.40	439.36
Ουρσολικό οξύ	1422.28	607.74	31.04	19.14	3.99	4.92	4134.83	445.14
Μασλινικό οξύ	61.56	7.30	23.73	19.92	2.15	1.84	93.94	6.31

*ND: notdetected, δενανιχνεύτηκε

ΠΙΝΑΚΑΣ 7.7.2. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα απλών πολυφαινολών και τερπενικών οξέων σε ελληνικές σαλάτες και σε παρθένο ελαιόλαδο (μg/ 100g νωπού τροφίμου)

Αθροιστικά αποτελέσματα	Χωριάτικη		Λάχανο		Μαρούλι		Παρθένο ελαιόλαδο	
	Μ Ορος	SD	Μ Ορος	SD	Μ Ορος	SD	Μ Ορος	SD
Φαινολικά οξέα	139.99	48.44	62.88	19.46	10.35	5.39	29.96	2.10
Κινναμωμικά οξέα	224.02	53.14	347.55	63.91	172.14	15.70	7.63	0.74
Φαινόλες	2321.11	54.67	22.61	0.87	27.11	0.65	1114.53	16.22
Φλαβονοειδή	332.12	60.42	349.60	100.93	58.59	4.22	34.48	8.71
Ολικές απλές πολυφαινόλες	3008.58	76.11	787.16	134.19	278.15	23.92	1188.67	10.08
Ολικά τερπενικά οξέα	4843.24	1634.98	87.94	27.12	14.19	9.41	8919.17	733.89
OH-Τυροσόλη % απλών πολυφαινολών	70.38	2.15	1.54	0.07	7.41	0.52	48.88	3.36

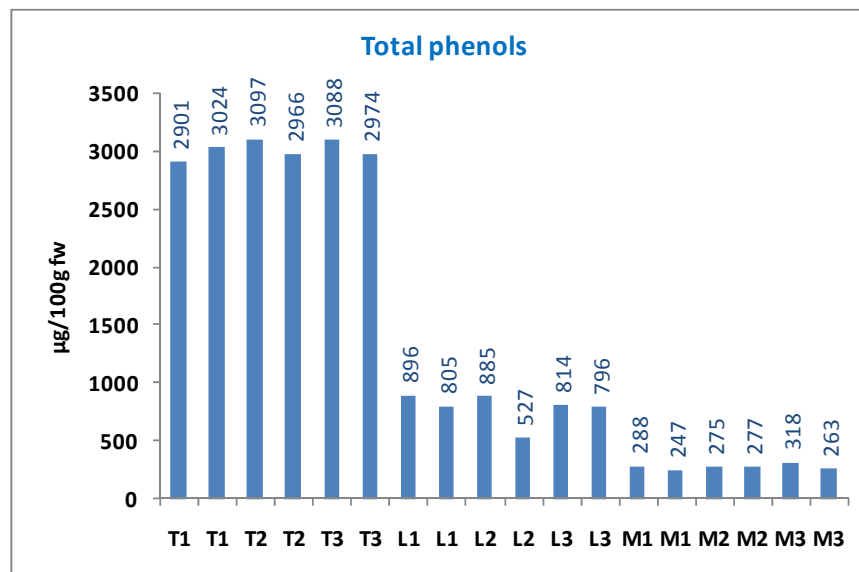
Φαινολικά οξέα: Βανιλλικό οξύ, Ομοβανιλλικό οξύ, Ομοβανιλλική αλκοόλη, Γαλλικό οξύ, Συρινγικό οξύ, P-OHβενζοϊκό οξύ, Πρωτοκατεχικό οξύ

Κινναμωμικά οξέα: Κινναμικό οξύ, Φερουλικό οξύ, ο- και p- Κουμαρικό οξύ, Φλωρετικό οξύ, Καφεϊκό οξύ, Χλωρογενικό

Φαινόλες: Τυροσόλη, OH- Τυροσόλη, Βανιλίνη

Φλαβονοειδή: Κερκετίνη, Καμφερόλη

Τερπενικά οξέα: Ολεανολικό οξύ, Ουρσολικό οξύ, Μασλινικό οξύ



Στον **Πίνακα 7.7.2.** παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα των απλών πολυφαινολών και τερπενικών οξέων σε ελληνικές σαλάτες και σε παρθένο ελαιόλαδο εκφρασμένα ως mg/ 100g νωπού τροφίμου. Παρατηρούμε ότι η χωριάτικη σαλάτα παρουσιάζει τις μεγαλύτερες τιμές στις περισσότερες επιμέρους κατηγορίες πολυφαινολών συγκριτικά με τις υπόλοιπες σαλάτες. Πιο ειδικά, σχετικά με τα Φαινολικά οξέα στην χωριάτικη σαλάτα ανιχνεύθηκε ποσότητα $139,99 \pm 48,44$ με το Πρωτοκατεχικό οξύ σε μεγαλύτερη συγκέντρωση ($52,54 \pm 15,02$), στην σαλάτα λάχανο- καρότο $62,88 \pm 19,46$ με κυρίαρχο το Γαλλικό οξύ ($30,11 \pm 11,37$) και στην σαλάτα μαρούλι ποσότητα ίση με $10,35 \pm 5,39$ με το Γαλλικό οξύ στην μεγαλύτερη ποσότητα $5,25 \pm 2,97$. Επιπλέον, παρατηρούμε ότι η συγκέντρωση των φαινολών, των ολικών φαινολών και των ολικών τερπενικών οξέων είναι μεγαλύτερη στην χωριάτικη σαλάτα, ακολουθεί η σαλάτα λάχανο- καρότο και τέλος η σαλάτα μαρούλι. Όσον αφορά τα Κινναμωμικά οξέα, η σαλάτα λάχανο- καρότο παρουσιάζει την μεγαλύτερη συγκέντρωση ($347,55 \pm 63,91$) με κυρίαρχο το Χλωρογενικό οξύ ($169,51 \pm 77,49$), ακολουθεί η χωριάτικη ($224,02 \pm 53,14$) με κυρίαρχο το p- Κουμαρικό οξύ ($86,88 \pm 20,35$) και τέλος η σαλάτα μαρούλι ($172,14 \pm 15,70$) με κυρίαρχο το Χλωρογενικό οξύ ($93,17 \pm 12,59$). Επιπλέον, σχετικά με τις φαινόλες παρατηρούμε ότι στην χωριάτικη σαλάτα η OH- Τυροσόλη ($2130,48 \pm 41,58$) έχει την υψηλότερη συγκέντρωση. Παρατηρούμε, ωστόσο ότι η υψηλή συγκέντρωση OH- Τυροσόλης στη χωριάτικη σαλάτα οφείλεται στην ύπαρξη των ελιών, στις οποίες αποτελεί την κυριότερη από τις απλές πολυφαινόλες. Συγκεκριμένα, σε ελληνικές ελιές έχουν αναφερθεί συγκεντρώσεις OH- Τυροσόλης μεταξύ 21- 114 mg/ 100 g (Boskou et al, 2006). Βάσει των συγκεντρώσεων OH- Τυροσόλης που προσδιορίσαμε στο ελαιόλαδο και τη χωριάτικη σαλάτα, υπολογίστηκε ότι μόνο το 0,5% της OH-τυροσόλης της χωριάτικης σαλάτας προέρχεται από το ελαιόλαδο. Επομένως, το υπόλοιπο πρέπει να προέρχεται από τις ελιές, οι οποίες σύμφωνα με τους υπολογισμούς μας πρέπει να περιέχουν περίπου 38 mg OH- Τυροσόλης/ 100g, που είναι εντός του εύρους των τιμών που αναφέρουν οι Boskou et al (2006) για τις ελληνικές ελιές.

Σχετικά με τα τερπενικά οξέα και στις τρεις σαλάτες βρέθηκε ότι το Ολεανολικό οξύ ήταν εκείνο με την μεγαλύτερη συγκέντρωση. Τέλος, αναφέρεται ότι η σαλάτα μαρούλι παρουσιάζει σχεδόν σε όλες τις πολυφαινόλες τις μικρότερες τιμές συγκριτικά με τις άλλες δυο σαλάτες οι οποίες μελετήθηκαν.

Όσον αφορά το παρθένο ελαιόλαδο παρατηρούμε από τον **Πίνακα 7.7.1** ότι έχουμε μεγαλύτερη συγκέντρωση σε OH- Τυροσόλη ($580,81 \pm 35,27$), Ολεανολικό οξύ ($4690,40 \pm 439,36$) και Ουρσολικό οξύ ($4134,83 \pm 445,14$) εκφρασμένα σε mg/ 100g ελαιολάδου.

7.8. Φωτομετρικοί Προσδιορισμοί

7.8.A. Συνολικό φαινολικό περιεχόμενο (μέθοδος Folin-Ciocalteu)

Η απορρόφηση των προς μέτρηση δειγμάτων φαίνεται στον πίνακα:

Δείγμα	Βάρος (mg)	Όγκος δείγματος (μL)	Απορρόφηση στα 750 nm*	Απορρόφηση στα 750 nm*	Μέση Απορρόφηση στα 750 nm
T1	495,6	10	0,9233	1,01	0,9666
T2	502,5	10	0,93	0,8735	0,9017
T3	500,5	10	0,9428	0,9984	0,9706
M1	498,4	10	0,5982	0,5583	0,5783
M2	497,1	10	0,4761	0,5458	0,5109
M3	498,5	10	0,5332	0,5712	0,5522
Λ1	498,6	10	0,7997	0,8049	0,8023
Λ2	501,8	10	0,7498	0,7719	0,7608
Λ3	497,3	10	0,7384	0,7849	0,7616

*Οι μετρήσεις αποτελούν Μ.Ο. τριών μετρήσεων για το κάθε δείγμα. Συνολικά έξι μετρήσεις για κάθε δείγμα.

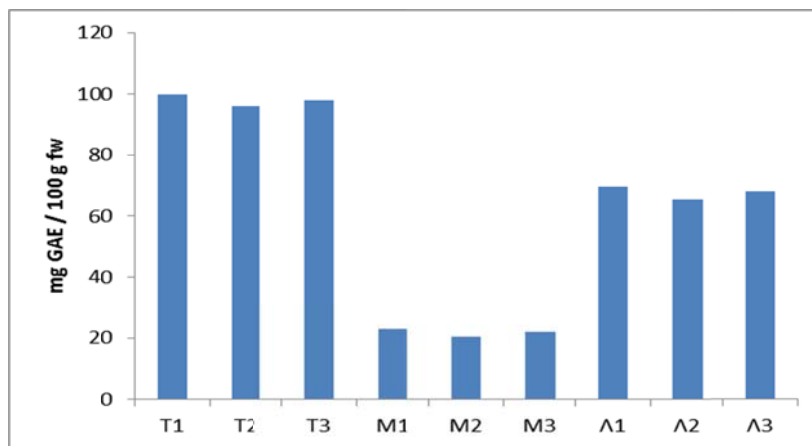
Μετρήσεις ελαιολάδου για τον προσδιορισμό ολικών πολυφαινολών:

Δείγμα	Βάρος (g)	Όγκος Ανάλυσης (μL)	Απορρόφηση στα 750 nm
EVOO1	3,0538	50	0,2269
EVOO2	3,0475	50	0,2199
EVOO3	3,0349	50	0,2144

Με βάση την εξίσωση της καμπύλης αναφοράς γαλλικού οξέος υπολογίστηκε η ποσότητα των πολυφαινολών στα δείγματα η οποία εκφράζεται ως mg GAE.

Τρόφιμο	Δείγμα	Ολικές πολυφαινόλες (mgGAE/ 100g FW)
Χωριάτικη	T1	99,89
	T2	96,04
	T3	97,95
Μαρούλι	M1	23,08
	M2	20,45
	M3	22,04
Λάχανο	Λ1	69,32
	Λ2	65,41
	Λ3	68,10
Παρθένο ελαιόλαδο	EVOO1	43,94
	EVOO2	42,67
	EVOO3	41,79

Διαγραμματική Απεικόνιση των αποτελεσμάτων μεθόδου Folin-Ciocalteu



Παρατηρούμε ότι το ολικό φαινολικό περιεχόμενο κυμαίνεται από 99,89- 41,79 mg GAE/ 100g νωπού τροφίμου στις διάφορες σαλάτες ενώ στο παρθένο ελαιόλαδο από 41,79- 43,94 mg GAE/ 100g FW. Πιο συγκεκριμένα παρατηρούμε την μεγαλύτερη συγκέντρωση στην χωριάτικη σαλάτα (96,04- 99,89 mg GAE/ 100g FW), ακολουθεί η σαλάτα λάχανο-καρότο (65,41- 69,32 mg GAE/ 100g FW) και τέλος η σαλάτα μαρούλι (20,45- 23,08mg GAE/ 100g FW).

7.8.B. Αποτελέσματα των Αντιοξειδωτικών Τεστ

7.8.B.1. Μέτρηση ικανότητας δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH[•]

Πρώτη Μέτρηση

Δείγμα	Βάρος (mg)	Όγκος ανάλυσης (μL)	Απορρόφηση στα 515 nm*, t= 0min	Απορρόφηση στα 515 nm*, t=30min, 1Μέτρηση	Απορρόφηση στα 515 nm*, t=30min, 2Μέτρηση	Απορρόφηση στα 515 nm*, t=30min, 3Μέτρηση
T1	495,6	25	1,0716	0,0429	0,0396	0,0389
T2	502,5	25	1,0716	0,0387	0,0381	0,0393
T3	500,5	25	1,0716	0,0437	0,0406	0,0424
M1	498,4	25	1,0716	0,2600	0,2978	0,2332
M2	497,1	25	1,0716	0,2531	0,2702	0,2359
M3	498,5	25	1,0716	0,2091	0,2112	0,2183
Λ1	498,6	25	1,0716	0,0621	0,0405	0,0414
Λ2	501,8	25	1,0716	0,0403	0,0423	0,0422
Λ3	497,3	25	1,0716	0,0385	0,0368	0,0413

Δεύτερη Μέτρηση- Απομάκρυνση Χλωροφύλλης με CHCl₃

Δείγμα	Βάρος (mg)	Όγκος ανάλυσης (μL)	Απορρόφηση στα 515 nm*, t= 0min	Απορρόφηση στα 515 nm*, t=30min, 1Μέτρηση	Απορρόφηση στα 515 nm*, t=30min, 2Μέτρηση	Απορρόφηση στα 515 nm*, t=30min, 3Μέτρηση
T1	506,4	25	0,7485	0,0400	0,0329	0,0333
T2	497,2	25	0,7485	0,0314	0,0315	0,0313
M1	500,7	25	0,7485	0,1670	0,2097	0,1509
M2	503,3	25	0,7485	0,2340	0,1945	0,1890
M3	498,2	25	0,7485	0,1919	0,1532	0,1560
Λ1	501,5	25	0,7485	0,0444	0,0359	0,0332
Λ2	497,6	25	0,7485	0,0369	0,0299	0,0296
Λ3	502,4	25	0,7485	0,0286	0,0284	0,0282

Δείγματα ελαιολάδου:

Δείγμα	Βάρος (mg)	Όγκος ανάλυσης (μL)	Απορρόφηση στα 515 nm*, t= 0min	Απορρόφηση στα 515 nm*, t=30min, 1 ^η Μέτρηση	Απορρόφηση στα 515 nm*, t=30min, 2 ^η Μέτρηση	Απορρόφηση στα 515 nm*, t=30min, 3 ^η Μέτρηση
EVOO1	305,38	25	0,7485	0,4630	0,4525	0,4480
EVOO2	304,75	25	0,7485	0,4674	0,4680	0,4583
EVOO3	303,49	25	0,7485	0,4880	0,4566	0,4728

•Η αντιοξειδωτική ικανότητα προσδιορίστηκε από τον τύπο:

$$A_{AR}=0.018 \times \% \Delta A_{515} + 0.017 \quad (R^2=0,993)$$

$$Et \left(\frac{A_{515}^0 - A_{515}^{30}}{A_{515}^0} \right) \times 100 \quad \% \Delta A_{515} =$$

Και με βάση την εξίσωση της καμπύλης αναφοράς Trolox υπολογίστηκε η ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών από τα συνολικά αντιοξειδωτικά του κάθε δείγματος, η οποία εκφράζεται ως ισοδύναμο Trolox.

Πρώτη Μέτρηση

Δείγμα	(%ΔA515) 1 ^η Μέτρηση	(%ΔA515) 2 ^η Μέτρηση	(%ΔA515) 3 ^η Μέτρηση	mmolTrolox Equiv./ 100g F.W. 1 ^η Μέτρηση	mmolTrolox Equiv./ 100g F.W. 2 ^η Μέτρηση	mmolTrolox Equiv./ 100g F.W. 3 ^η Μέτρηση	M.O. mmolTrolox Equiv./ 100g F.W.
T1	95,997	96,305	96,370	37,97	38,09	38,12	38,06
T2	96,389	96,445	96,333	37,60	37,62	37,58	37,60
T3	95,922	96,211	96,043	37,57	37,68	37,61	37,62
M1	75,737	72,210	78,238	11,54	11,00	11,93	11,49
M2	76,381	74,785	77,986	11,67	11,42	11,92	11,67
M3	80,487	80,291	79,629	12,27	12,24	12,14	12,22
Λ1	94,205	96,221	96,137	32,15	32,85	32,82	32,61
Λ2	96,239	96,053	96,062	32,64	32,58	32,58	32,60
Λ3	96,407	96,566	96,146	33,00	33,05	32,91	32,99

Δεύτερη Μέτρηση- Απομάκρυνση Χλωροφύλλης με CHCl₃

Δείγμα	(%ΔΑ515) 1 ^η Μέτρηση	(%ΔΑ515) 2 ^η Μέτρηση	(%ΔΑ515) 3 ^η Μέτρηση	mmolTrolox Equiv. / 100g F.W. 1 ^η Μέτρηση	mmolTrolox Equiv./ 100g F.W. 2 ^η Μέτρηση	mmolTrolox Equiv./ 100g F.W. 3 ^η Μέτρηση	M.O. mmolTrolox Equiv./ 100g F.W.
T1	94,656	95,605	95,551	36,63	37,00	36,98	36,87
T2	95,805	95,792	95,818	37,77	37,76	37,77	37,77
M1	77,689	71,984	79,840	11,79	10,91	12,12	11,61
M2	68,737	74,015	74,749	10,36	11,16	11,28	10,93
M3	74,362	79,532	79,158	11,33	12,13	12,07	11,85
Λ1	94,068	95,204	95,564	31,92	32,31	32,43	32,22
Λ2	95,070	96,005	96,045	32,52	32,84	32,85	32,74
Λ3	96,179	96,206	96,232	32,59	32,59	32,60	32,59

Δείγματα ελαιολάδου:

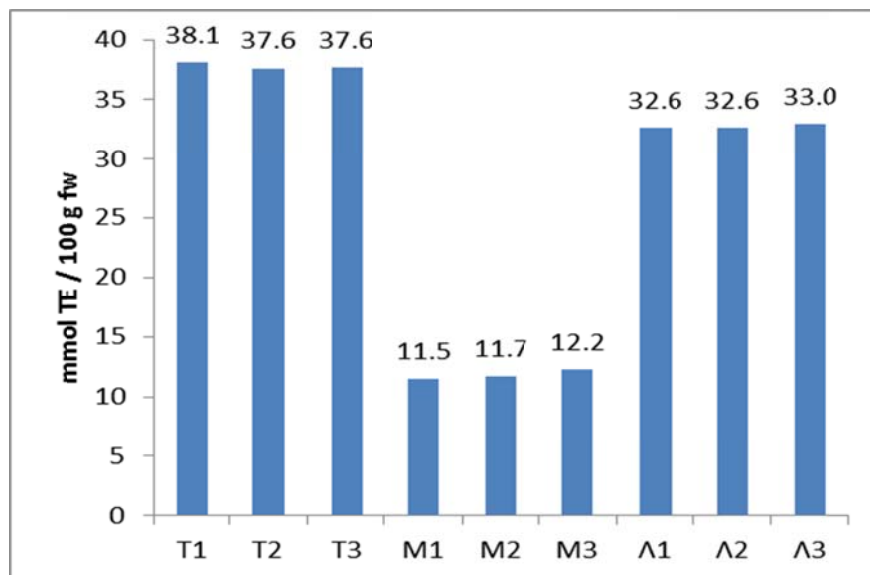
Δείγμα	(%ΔΑ515) 1 ^η Μέτρηση	(%ΔΑ515) 2 ^η Μέτρηση	(%ΔΑ515) 3 ^η Μέτρηση	mmolTrolox Equiv./ 100g F.W. 1 ^η Μέτρηση	mmolTrolox Equiv./ 100g F.W. 2 ^η Μέτρηση	mmolTrolox Equiv./ 100g F.W. 3 ^η Μέτρηση	M.O. mmolTrolox Equiv./ 100g F.W.
EVOO1	38,143	39,546	40,147	19,46	20,20	20,51	20,06
EVOO2	37,555	37,475	38,771	19,19	19,15	19,83	19,39
EVOO3	34,803	38,998	36,834	17,82	20,03	18,89	18,91

Τελικά είχαμε τα εξής αποτελέσματα:

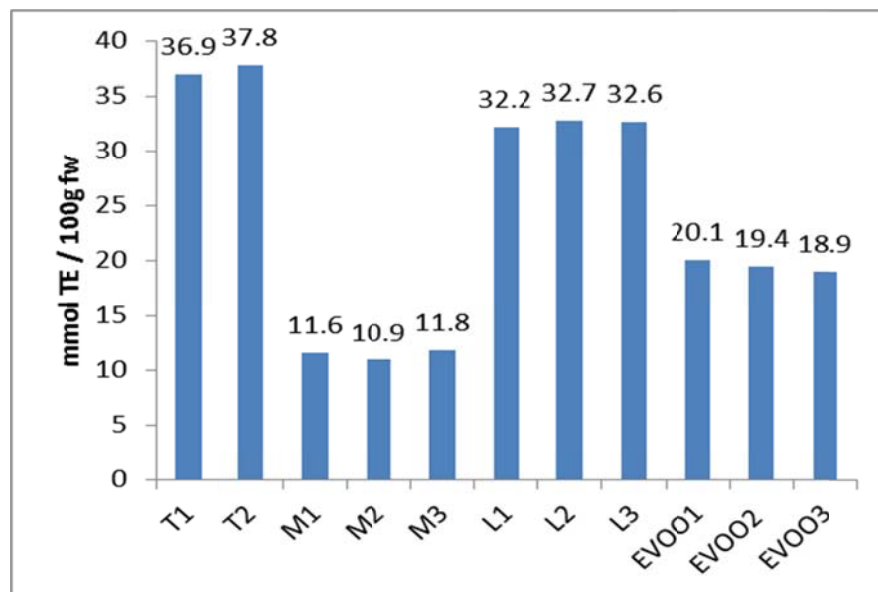
Δείγμα	mmolTroloxEquiv. / 100g F.W.	
	Πρώτη μέτρηση	Δεύτερη Μέτρηση
Χωριάτικη	37,76±0,26	37,32±0,51
Μαρούλι	11,79±0,38	11,46±0,61
Λάχανο	32,73±0,22	32,52±0,28
Παρθένο ελαιόλαδο		19,45±0,81

Διαγραμματική Απεικόνιση των αποτελεσμάτων

Πρώτη Μέτρηση



Δεύτερη Μέτρηση- Απομάκρυνση Χλωροφύλλης με CHCl_3 / Ελαιόλαδο



Τελικά, παρατηρούμε μια πολύ καλή συμφωνία τιμών ανάμεσα στα δυο διαφορετικά πειράματα, επομένως είμαστε περισσότερο βέβαιοι για το αποτέλεσμα των μετρήσεων μας.

7.8.B.2. Μέτρηση αναγωγικής ικανότητας μέσω της μεθόδου FRAP.

Δείγματα Χωριάτικης Σαλάτας

Δείγμα	Βάρος (mg)	Όγκος διαλύματος (mL)	Απορρόφηση στα 620 nm*	mM AAE*	mM AAE/100g fw	M.O. mM AAE/100g fw
T1α	506,4	2,0	1,7913	0,522	12,76	
T1β	506,4	2,0	1,8324	0,534	13,06	12,91
T1γ	506,4	2,0	1,8121	0,528	12,91	
T2α	506,4	2,0	1,8139	0,529	12,93	
T2β	506,4	2,0	1,7782	0,518	12,67	12,97
T2γ	506,4	2,0	1,8679	0,545	13,32	
Αραίωση 1:1 δηλαδή 500μl δείγμα:500μl TPTZ						
T1α	510,0	2,0	1,02	0,29	14,33	
T1β	510,0	2,0	1,14	0,33	15,99	14,97
T1γ	510,0	2,0	1,04	0,30	14,59	
T2α	510,0	2,0	1,00	0,29	14,10	
T2β	510,0	2,0	1,00	0,29	13,99	14,35
T2γ	510,0	2,0	1,06	0,31	14,97	

AAE: ascorbic acid equivalents

Δείγματα Πράσινης Σαλάτας- Μαρούλι

Δείγμα	Βάρος (mg)	Όγκος διαλύματος (mL)	Απορρόφηση στα 620 nm*	mM AAE*	mM AAE/100g fw	M.O. mM AAE/100g fw
M1α	500,7	2,0	1,5338	0,446	4,28	
M1β	500,7	2,0	1,4404	0,418	4,01	4,39
M1γ	500,7	2,0	1,7418	0,507	4,87	
M2α	503,3	2,0	1,5434	0,448	4,29	
M2β	503,3	2,0	1,5749	0,458	4,37	4,26
M2γ	503,3	2,0	1,4861	0,431	4,12	
M3α	498,2	2,0	1,4500	0,421	4,06	
M3β	498,2	2,0	1,4449	0,419	4,05	4,19
M3γ	498,2	2,0	1,5946	0,464	4,48	
Αραίωση 1:1 δηλαδή 500μl δείγμα:500μl TPTZ						
M1α	500,0	2,0	0,81	0,23	4,40	
M1β	500,0	2,0	0,76	0,22	4,17	4,57
M1γ	500,0	2,0	0,93	0,27	5,14	
M2α	500,0	2,0	0,81	0,23	4,42	
M2β	500,0	2,0	0,83	0,24	4,50	4,39
M2γ	500,0	2,0	0,78	0,22	4,26	
M3α	500,0	2,0	0,75	0,21	4,09	
M3β	500,0	2,0	0,74	0,21	4,08	4,27
M3γ	500,0	2,0	0,84	0,24	4,64	

AAE: ascorbic acid equivalents

Δείγματα Σαλάτας Λάχανο

Δείγμα	Βάρος (mg)	Όγκος διαλύματος (mL)	Απορρόφηση στα 620 nm*	mM AAE*	mM AAE/100g fw	M.O. mM AAE/100g fw
Λ1α	501,5	2,0	2,0284	0,592	12,70	
Λ1β	501,5	2,0	2,0392	0,596	12,77	12,67
Λ1γ	501,5	2,0	2,0018	0,585	12,53	
Λ2α	497,6	2,0	2,0333	0,594	12,83	
Λ2β	497,6	2,0	2,0389	0,596	12,87	12,87
Λ2γ	497,6	2,0	2,0441	0,597	12,90	
Λ3α	502,4	2,0	2,0396	0,596	12,75	
Λ3β	502,4	2,0	2,0465	0,598	12,79	12,77
Λ3γ	502,4	2,0	2,0424	0,597	12,77	
Αραίωση 1:1 δηλαδή 500μl δείγμα:500μl TPTZ						
Λ1α	500,0	2,0	1,05	0,30	12,97	
Λ1β	500,0	2,0	1,09	0,32	13,51	13,14
Λ1γ	500,0	2,0	1,05	0,30	12,95	
Λ2α	500,0	2,0	1,42	0,41	17,80	
Λ2β	500,0	2,0	1,12	0,32	13,97	15,32
Λ2γ	500,0	2,0	1,14	0,33	14,19	
Λ3α	500,0	2,0	1,09	0,31	13,37	
Λ3β	500,0	2,0	1,10	0,32	13,50	13,48
Λ3γ	500,0	2,0	1,10	0,32	13,57	

AAE: ascorbic acid equivalents

Δείγματα παρθένου ελαιολάδου

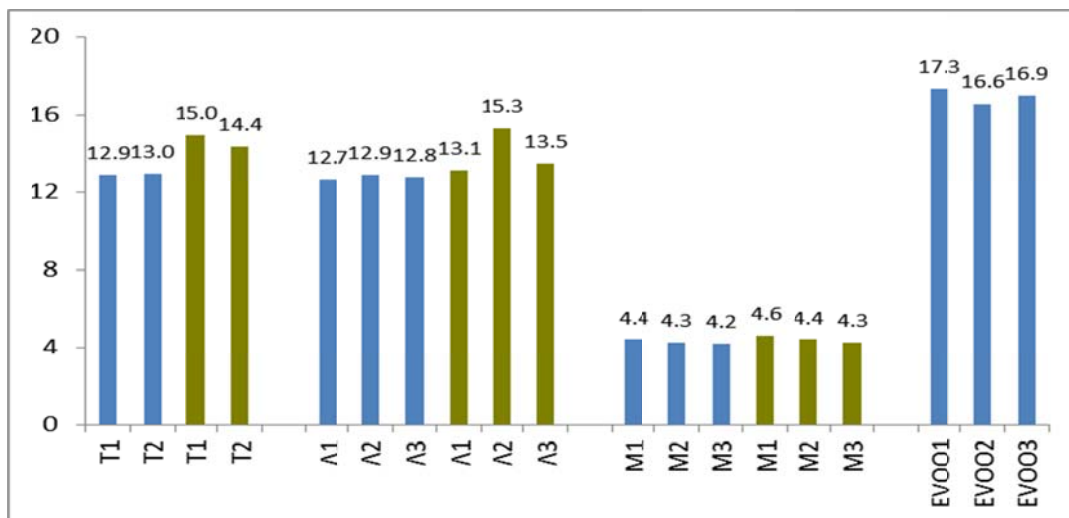
Δείγμα	Βάρος (mg)	Όγκος διαλύματος (mL)	Απορρόφηση στα 620 nm*	mM AAE*	mM AAE/100g fw	M.O. mM AAE/100g fw
EVOO1	305,38	2,0	1,8376	0,536	17,54	
EVOO1	305,38	2,0	1,8428	0,537	17,59	17,57
EVOO1	305,38	2,0	1,8396	0,536	17,56	
EVOO2	304,75	2,0	1,8342	0,535	17,55	
EVOO2	304,75	2,0	1,8730	0,546	17,93	17,80
EVOO2	304,75	2,0	1,8734	0,546	17,93	
EVOO3	303,49	2,0	1,7737	0,517	17,03	
EVOO3	303,49	2,0	1,8212	0,531	17,49	17,37
EVOO3	303,49	2,0	1,8297	0,533	17,58	
Αραίωση 1:1 δηλαδή 500μl δείγμα:500μl TPTZ						
EVOO1	305,0	2,0	0,91	0,26	17,02	
EVOO1	305,0	2,0	0,93	0,27	17,44	17,29
EVOO1	305,0	2,0	0,93	0,27	17,40	
EVOO2	305,0	2,0	0,86	0,24	16,05	
EVOO2	305,0	2,0	0,89	0,26	16,77	16,56
EVOO2	305,0	2,0	0,90	0,26	16,85	
EVOO3	303,0	2,0	0,85	0,24	16,03	
EVOO3	303,0	2,0	0,91	0,26	17,18	16,92
EVOO3	303,0	2,0	0,93	0,27	17,56	

AAE: ascorbic acid equivalents

Συνολικά αποτελέσματα αναγωγικής ικανότητας μέσω της μεθόδου FRAP:

	Δείγμα	M.O. (mM AAE/100g fw)	Συνολικός M.O. (mM AAE/100g fw)
Χωριάτικη Σαλάτα	T1	12,91	12,94±0,13
	T2	12,97	
	T1(αραιωμένο δείγμα)	14,97	14,66±0,25
	T2(αραιωμένο δείγμα)	14,35	
	M1	4,39	4,28±0,16
Σαλάτα Μαρούλι	M2	4,26	
	M3	4,19	
	M1(αραιωμένο δείγμα)	4,57	4,41±0,19
	M2(αραιωμένο δείγμα)	4,39	
	M3(αραιωμένο δείγμα)	4,27	
Σαλάτα Λάχανο	Λ1	12,67	12,77±0,05
	Λ2	12,87	
	Λ3	12,77	
	Λ1(αραιωμένο δείγμα)	13,14	13,98±1,13
	Λ2(αραιωμένο δείγμα)	15,32	
	Λ3(αραιωμένο δείγμα)	13,48	
Ελαιόλαδο	EVOO1	17,29	16,92±0,28
	EVOO2	16,56	
	EVOO3	16,92	

Διαγραμματική Απεικόνιση των αποτελεσμάτων



Όπου με μπλε χρώμα απεικονίζονται οι αρχικές τιμές, ενώ με πράσινο οι απεικονίζονται οι τιμές μετά την αραιώση των δειγμάτων.

Με βάση τον παραπάνω πίνακα και το σχεδιάγραμμα παρατηρούμε ότι οι σαλάτες παρουσιάζουν σημαντική αναγωγική δύναμη, με την χωριάτικη να καταλαμβάνει την πρώτη θέση ($14,66 \pm 0,25$ mmol ασκορβικού οξέος/ 100g FW), να ακολουθεί η σαλάτα λάχανο- καρότο ($13,98 \pm 1,13$ mmol ασκορβικού οξέος/ 100g FW) και τέλος η σαλάτα μαρούλι ($4,41 \pm 0,19$ mmol ασκορβικού οξέος/ 100g FW). Επιπλέον, και το παρθένο ελαιόλαδο παρουσιάζει σημαντική αναγωγική δύναμη ($16,92 \pm 0,28$ mmol ασκορβικού οξέος/ 100g ελαιολάδου).

7.9. Συνολική διαιτητική πρόσληψη από την κατανάλωση μιας μερίδας σαλάτας

Πίνακας 7.9.1. Ποσότητες συστατικών σε μια μερίδα σαλάτας. Με μικρά γράμματα σημειώνονται οι βιβλιογραφικές παραπομπές που δίνονται στο κάτω μέρος του πίνακα

Τρόφιμο	Βάρος Μερίδας (g)	Ενέργεια (kcal)	Λιπαρά (g)	Σκουαλένιο (mg)	Χοληστερόλη (mg)	Φυτοστερόλες (mg)	Ολικές τοκοφερόλες (mg)	Καροτενοειδή (mg)	Πολυφαινόλες (mg)
Χωριάτικη	200	147,6	9,7	10,7	9,2	16,1	2,5	6,8	195,9
Μαρούλι	150	75,5	3,0	8,3	0,0	9,4	1,2	4,2	32,8
Λάχανο	150	81,5	3,2	6,9	0,0	17,9	0,9	3,2	101,4
Daily Intake	-	2000 ^a	65 ^a	30 ^b	230 ^c	250 ^d	15 ^c	6,3 ^c	23- 28 ^c 118,6 ^e

^a USDA Food Guide (Dietary Guidelines for a Americans, 2005).

^b USA daily intake (Smith, 2000).

^c Daily intake in Denmark and Netherlands (Ross & Kasum, 2002).

^d Typical daily intake (Law, 2000).

^e Intake in plant- based traditional diet (Vasilopoulou et al., 2005).

Πίνακας 7.9.2.Ποσοστό % της Τυπικής Ημερήσιας ή Συνιστώμενης δόσης το οποίο καλύπτεται από την κατανάλωση μίας μερίδας σαλάτας

Τρόφιμο	Ενέργεια	Λιπαρά	Σκουαλένιο	Χοληστερόλη	Ολικές φυτοστερόλες	Ολικές τοκοφερόλες	Καροτενοειδή	Ολικές πολυφαινόλες
Χωριάτικη	7,4	14,9	35,7	4,0	6,4	16,9	108,6	768,3 ^c 165,2 ^e
Μαρούλι	3,8	4,6	27,7	0,0	3,7	7,8	66,7	128,6 ^c 27,6 ^e
Λάχανο	4,1	5,0	22,9	0,0	7,1	6,2	50,5	397,7 ^c 85,5 ^e

Στον **Πίνακα 7.9.2** παρατηρούμε ότι η κατανάλωση μιας μερίδας χωριάτικης σαλάτας (200g) θα μπορούσε να συνεισφέρει στο- 7,4 % της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης, 14,9 % του λίπους, 35,7 % του σκουαλενίου, 4 % της χοληστερόλης, 6,4 % των ολικών φυτοστερολών, 16,9 % των ολικών τοκοφερολών και 108,6 % των καροτενοειδών. Ομοίως, η κατανάλωση μιας μερίδας σαλάτας μαρούλι (150g) θα μπορούσε να συνεισφέρει στο- 3,8 % της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης, 4,6 % του λίπους, 27,7 % του σκουαλενίου, 3,7 % των ολικών φυτοστερολών, 7,8 % των ολικών τοκοφερολών και 66,7 % των καροτενοειδών ενώ μια μερίδα σαλάτα λάχανο- καρότο (150g) 4,1 % της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης, 5,0 % του λίπους, 22,9 % του σκουαλενίου, 7,1 % των ολικών φυτοστερολών, 6,2 % των ολικών τοκοφερολών και 50,5 % των καροτενοειδών.

Παρατηρούμε επομένως πως συγκριτικά με τις τυπικές ημερήσιες δόσεις οι οποίες προέρχονται από μια δίαιτα δυτικού τύπου ή από μια δίαιτα των Σκανδιναβικών χωρών, η κατανάλωση μιας μερίδας σαλάτας προσφέρει μικρό ποσοστό ενέργειας το οποίο κυμαίνεται από 3,8- 7,4% ανάλογα με την σαλάτα η οποία καταναλώνεται, σε μία δίαιτα 2000 kcal. Επιπλέον, προσφέρει μια σημαντική ποσότητα της ημερήσιας κατανάλωσης σκουαλενίου αλλά κυρίως καροτενοειδών με κάλυψη πάνω από το 50% την συνιστώμενης πρόσληψης από την κατανάλωση οποιασδήποτε σαλάτας.

Αναφέρεται επίσης ότι μόνο η κατανάλωση μιας μερίδας χωριάτικης σαλάτας καλύπτει ένα μικρό ποσοστό της συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης χοληστερόλης εξαιτίας της φέτας που περιλαμβάνει στα συστατικά της.

Από την άλλη, οι ολικές πολυφαινόλες οι οποίες προέρχονται από την κατανάλωση μιας μερίδας σαλάτας θα μπορούσαν να καλύψουν το 128,6- 768,3 % της συνολικής τυπικής ημερήσιας αντιοξειδωτικής πρόσληψης συγκρινόμενο με την τυπική ημερήσια πρόσληψη 23- 28 mg ολικών πολυφαινολών, η οποία αναφέρεται για την Δανία και την Ολλανδία. Αντίθετα, συνεισφέρει στο 27,6- 165,2% σε σύγκριση με την τυπική ημερήσια ή συνιστώμενη πρόσληψη 118,6 mg ολικών πολυφαινολών, η οποία αναφέρεται σε μια παροδοσιακή φυτοφαγική Ελληνική δίαιτα. Επομένως, παρατηρούμε μεγάλες διακυμάνσεις ανάμεσα στις διάφορες χώρες, ανάλογα με το διατροφικό πρότυπο το οποίο ακολουθούν. Ωστόσο, και στις δυο περιπτώσεις παρατηρούμε ότι η κατανάλωση μιας μερίδας σαλάτας αποτελεί καλή πηγή πολυφαινολών.

Συζήτηση

Οι ελληνικές σαλάτες οι οποίες μελετήθηκαν, παρασκευάστηκαν με φρέσκα υλικά, σύμφωνα με τις ελληνικές συνταγές. Από τις αναλύσεις μας, παρατηρήσαμε ότι περιέχουν σημαντική ποσότητα υγρασίας και ότι αποτελούν τρόφιμα χαμηλού ενεργειακού περιεχομένου. Όσον αφορά τα κύρια λιπαρά οξέα τα οποία περιέχονται στις σαλάτες, αναφέρεται ότι προέρχονται κατά κύριο λόγο από το ελαιόλαδο το οποίο έχει προστεθεί. Ωστόσο, τονίζεται ότι στην χωριάτικη σαλάτα βρέθηκε ότι υπάρχει χοληστερόλη και trans λιπαρά οξέα, εξαιτίας της φέτας που αποτελεί χαρακτηριστικό συστατικό της. Επιπλέον, και στις τρεις σαλάτες που μελετήθηκαν, βρέθηκαν ποσότητες σκουαλενίου και φυτοστερολών. Δεδομένου ότι το ελαιόλαδο αποτελεί πηγή των ενώσεων αυτών, φαίνεται ότι η περιεκτικότητα τους στις σαλάτες προέρχεται κυρίως από το ελαιόλαδο και εξαρτάται από την προστιθέμενη ποσότητα.

Από την άλλη, οι σαλάτες οι οποίες μελετήθηκαν έχουν ως βάση τα λαχανικά. Πληθώρα ερευνών έχει πραγματοποιηθεί σχετικά με την πιθανή προστατευτική δράση της κατανάλωσης λαχανικών, εξαιτίας της περιεκτικότητας τους σε αντιοξειδωτικά. Στην παρούσα μελέτη, βρέθηκε ότι οι σαλάτες αποτελούν καλή πηγή καροτενοειδών, υπό τη μορφή β-καροτενίου, με την χωριάτικη σαλάτα να παρουσιάζει την μεγαλύτερη συγκέντρωση, εξαιτίας της τομάτας που περιέχει.

Επιπλέον, στις σαλάτες εντοπίστηκε ένας μεγάλος αριθμός πολυφαινόλων σε διάφορες συγκεντρώσεις. Τονίζεται, ότι οι πολυφαινόλες έχουν μελετηθεί ευρέως, διότι παρουσιάζουν μια σειρά από δράσεις όπως αντιοξειδωτική, που είναι ιδιαίτερα ωφέλιμες για την υγεία του ανθρώπου. Επομένως, η ανάλυση τους αποτέλεσε σημαντικό κομμάτι της παρούσας μελέτης, δεδομένου ότι είναι άφθονες στα λαχανικά. Τονίζεται ότι στη χωριάτικη σαλάτα βρέθηκε η υψηλότερη συγκέντρωση φυτοχημικών.

Η παρουσία φυσικών αντιοξειδωτικών είχε ως αποτέλεσμα οι σαλάτες να παρουσιάζουν σημαντική ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών που κυμάνθηκε μεταξύ 11.8 και 37.8 mmol Trolox / 100g και σημαντική αναγωγική δύναμη που κυμάνθηκε μεταξύ 4.4 και 14.7 mmol Ασκορβικού οξέος.

Για να ολοκληρώσουμε την παρούσα μελέτη, θεωρήσαμε ότι ήταν σημαντικός ο υπολογισμός του ποσοστού των τυπικών ημερήσιων ή συνιστωμένων δόσεων πολυφαινόλων, σκουαλενίου, καροτενοειδών και τοκοφερολών το οποίο αποδίδεται στην κατανάλωση μιας μερίδας σαλάτας.

Παρατηρήσαμε λοιπόν, ότι συγκριτικά με τις τυπικές ημερήσιες ή συνιστώμενες τιμές μιας δίαιτας δυτικού τύπου ή μιας δίαιτας των Σκανδιναβικών χωρών, η κατανάλωση μιας μερίδας σαλάτας προσφέρει μικρό ποσοστό ενέργειας το οποίο κυμαίνεται από 3,8 έως 7,4% (ανάλογα με την σαλάτα η οποία καταναλώνεται), σε μία δίαιτα 2000 kcal. Επιπλέον, προσφέρει μια σημαντική ποσότητα της ημερήσιας κατανάλωσης σκουαλενίου αλλά κυρίως καροτενοειδών με κάλυψη πάνω από το 50% την συνιστώμενης πρόσληψης.

Επιπρόσθετα, η κατανάλωση μιας μερίδας σαλάτας θα μπορούσε να καλύψει το 128,6- 768,3 % της συνολικής ημερήσιας αντιοξειδωτικής πρόσληψης, σε σύγκριση με την τυπική ημερήσια δόση (23- 28 mg ολικών πολυφαινόλων/ δεν έχει καθοριστεί ακόμα τιμή αναφοράς σχετικά με τις PP), η οποία αναφέρεται στη Δανία και την Ολλανδία. Αντίθετα, συνεισφέρει σε πολύ μικρότερο ποσοστό 27,6- 165,2 % συγκριτικά με την τυπική ημερήσια δόση (118,6 mg ολικών πολυφαινόλων), η οποία αναφέρεται σε μια παροδοσιακή φυτοφαγική Ελληνική δίαιτα. Άρα, παρατηρούμε και στις δυο περιπτώσεις ότι η κατανάλωση μιας μερίδας σαλάτας αποτελεί καλή πηγή πολυφαινόλων, αν και παρουσιάζονται διακυμάνσεις οι οποίες οφείλονται στο γενικότερο διατροφικό πρότυπο που ακολουθείται σε κάθε χώρα.

Εν κατακλείδι, δεδομένου του ενδιαφέροντος που παρουσιάζει η αλλαγή του τρόπου ζωής, κυρίως μέσω της διατροφής για τη βελτίωση της ποιότητας ζωής και τη πρόληψη διάφορων παθήσεων, η κατανάλωση λαχανικών σε καθημερινή βάση αποτελεί κυρίαρχο βήμα για την επίτευξη της. Η παρούσα μελέτη επιβεβαιώνει τις πολύτιμες για την υγεία ιδιότητες που αποδίδονται στα λαχανικά, μέσω της κατανάλωσης σαλατών, οι οποίες εκτός από ποικιλία λαχανικών περιέχουν και αγνό παρθένο ελαιόλαδο, το οποίο έχει μελετηθεί ευρέως για τις ευεργετικές του ιδιότητες.

Βιβλιογραφία

1. Keys A., Menotti M., Karvoneb J., et al.: The diet and 15- year death rate in the seven countries study. *Am J. Epidemiol.* 1986, 124: 903- 15
2. Vasilopoulou E., Georga K., Bjoerkov Joergensen M., Naska A. and Trichopoulou A.:The antioxidant properties of greek foods and the flavonoid content of the Mediterranean menu. *Med. Chem. – Immun, Endoc. & Metab. Agents.* 2005, 5: 33- 45
3. Etherton K. PM, et al.: Antioxidant vitamin supplements and cardiovascular disease. *Nutrition Committee of the A.H.A.C. on Nutrition, Phys. Activity, and Metab.* 2004, 110: 637- 641
4. Fournier JC et al. *JAMA.* 2010, 303(1): 47- 53
5. Sieri S., Krogh V., Pala V., Muti P., Micheli A., Evangelista A., Tagliabue G. and Berrino F.: Dietary patterns and risk of breast cancer in the ORDET cohort. *Cancer Epidem. Biomark.* 2004, 13(4): 567– 572
6. Matthias B. Schulze, German Int. Human Nutr. Potsdam-Rehbruecke
7. Sahlina E.,b, G.P. Savagea, C.E. Lister.: Investigation of the antioxidant properties of tomatoes after processing. *J. Food Compos. Anal.* 2004, 17: 635– 647
8. Porrini M., Riso P., Testolin G.: Absorption of lycopene from single or daily portions of raw and processed tomato. *Br. J. Nutr.* 1998, 80: 353- 361
9. Markaki I., Linos D., Linos A. : The influence of dietary patterns on the development of thyroid cancer. *Eur. J. Cancer.* 2003, 39: 1912–1919
10. Boskou D. & Visioli F., M.P. Vaquero, T. Garcia- Arias & Garbajal (Eds). : Bioavailability of micronutrients and minor dietary compounds Metabolic and technical aspect. 2003
11. Alarcon de la Lastra C., Barranco M.D., Motilva V., Herrerias J.M.: Mediterranean Diet and Health; Biological Importance of olive oil. *Curr. Pharm. Des.* 2001, 7: 933- 950.
12. Kalogeropoulos N., Grigorakis P., Mylona A., Falirea A., Andricopoulos N. : Dietary avamuation of vegetables plan- fried in virgin olive oil following the Greek traditional culinary practice. *Ecol. Food Nutr.* 2006, 45(2): 105- 123
13. Owen R. W, Giacosa A., MahbnerR., et. : Olive oil consumption and Health: the possible role of antioxidant. *Lancet Oncol.* 2000, 1: 107- 112

14. Harwood, J. L. &Yaqoob, P.: Nutritional and health aspects of olive oil. *Eur.J. Lipid Sci.Tech.* 2002, 104: 685- 697
15. Quideau, Deffieux D., Douat-Casassus D., & Pouységu L: Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Chem .Ind. London.* 2011, 50(3):586- 621
16. Βεκιάρη Σ.Α.: Οι πολυφαινόλες του ελαιολάδου και η σημασία τους στην ποιότητα του. *Χημικά Χρονικά.* 2001, 45-48
17. Harborne JB: *Methods in Plant Biochemistry*, 1: Plant Phenolics. Academic Press, London . 1989
18. Kuhnau J. : The flavonoids: a class of semi- essential food components: their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. Diet.* 1976, 24: 117- 191
19. Hermann H. : On the occurrence of flavonol and flavonone glycosides in vegetables. *Z. Lebensm. Unters Forsch.* 1988, 186: 1-5
20. Ct LO, CY LY, Huang MT: Phenolic compounds in food and their effects on health, 1: analysis, occurrence and chemistry. ACS Symposium Series 506. Washington, DC: American Chem. Soc. 1992
21. Hertog MGL, Kromhout D., Aravanis C.et. : Flavonoid intake and long term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch. Intern. Med.* 1995, 155: 381- 386
22. Manach C., Mazur A., &Scalbert A.: Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Curr. Opin. Lipidol.* 2005, 16: 77- 84
23. Mutoh M. , Takahashi M. , Fukuda K., Matsushima-Hibiya Y., Mutoh H., Sugimura T., Wakabayashi K.: Suppression of cyclooxygenase-2 promoter dependent transcriptional activity in colon cancer cells by chemopreventive agents with a resorcin type structure. *Carcinogenesis.* 2000, 21(5): 959- 63
24. Andrikopoulos N.K., Antonopoulou S., Kaliora A.C., *Lebensm.Wiss. U.- Technol.* 2002, 35: 479- 484
25. Kountouri A.M., Mylona A., Kaliora A.C. , Andrikopoulos N.K., *Phytomedicine.* 2007, 14: 659- 667
26. Heim, K. E, Tagliaferro, A. R., &Bobilya, D.J.: Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure- activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* 2002, 13: 572-584

27. Alavasar, C., Grigor, J.M., Zhang, D., Quantick, P.C., & Shahidi, F.: Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49: 1410- 1416
28. D' Archivio M., Filesi C., Vari K., Scazzocchio B. and Masella. R.: Bioavailability of the polyphenols: Status and controvercies. *Int. J. Mol. Sci.* 2010, 11: 1321- 1342
29. Porrini M., Riso P., Testolin G.: Absorption of lycopene from single or daily portions of raw and processed tomato. *Br. J. Nutr.* 1998, 80: 353- 361
30. Χίου Α. Φυτικοχημεία και Βιοχημεία Τροφίμων. Σημειώσεις Φροντιστηρίου Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, Αθήνα. 2003
31. Ross J.A. and Kasum C.M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety, *Annu. Rev. Nutr.* 2002, 22:19–34
32. Σουλελής Χ. Γενική Φαρμακογνωσία Δρογοχημεία. Εκδόσεις Τσολακοπούλου. Θεσσαλονίκη 1988.
33. Harborne JB. and Baxter H.: *Phytochemical Dictionary*. London: Taylor and Francis. 1993
34. Yang C.S., Maliakal P. and Meng X.: Inhibition of carcinogenesis by tea. *Annu. Rev. Pharmacol* 2001, 42: 25- 54
35. Armstrong, Gregory A. and John E. Hearst: Genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis. *FASEB J.* 1996, 10: 228- 237
36. Kintzios S. E. , Baberaki M.G.: *Plants that Fight Cancer*. CRC Press, Taylor & Francis, Boca Raton, FL, 2004
37. Institute of Medicine, Food and Nutrition Board.: Beta-carotene and other carotenoids..Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. Washington, DC: Nat. Acad. Press. 2000, 325- 400
38. Lamson DW., Brignall MS.: Natural agents in the prevention of cancer part I: human chemoprevention trials. *Altern Med Rev.* 2001, 6: 7- 19
39. Cooper D.A., Eldridge AL., Peters JC.: Dietary carotenoids and certain cancers, heart disease, and age-related macular degeneration: a review of recent research. *Nutr .Rev.* 1999, 57: 201- 214
40. Rock CL., Kusluski RA., Galvez MM., Ethier, SP.: Carotenoids induce morphological changes in human mammary epithelial cell cultures *Nutr. Cancer.* 1995, 23: 319- 333

41. Bendich A.: Recent advances in clinical research involving carotenoids. *Pure Appl. Chem.* 1994, 66: 1017- 1024
42. Μπόσκου Δ. Χημεία Τροφίμων. Εκδόσεις Γαρταγάνη: Θεσσαλονίκη 1997
43. Cao G., Alessio H., Cutler R.: Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Bio. Med.* 1993, 14 (3): 303- 11
44. Ling WH., Jones Pj.: Dietary Phytosterols: a review of metabolism, benefits and side effects. *Life Sci.* 1995, 195- 206
45. De Stefani E., Boffetta P., Ronco AL.: Plants sterols and risk of stomach cancer: a case control study in Uruguay. *Nutr. Cancer.* 2000, 37: 140- 144
46. Halliwell B., Murcia MA., Chirico S., Aruoma OI.: Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. *Crit Rev. Food Sci. Nutr.* 1995, 35: 7- 20
47. Gropper Sareen S., Jack L. Smith, James L. Groff, Διατροφή και μεταβολισμός 2, Επιστημονική Επιμέλεια Λάμπρος Συντώσης Ph.D. Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης. 2008, 9: 298- 313
48. Frank, Bradford, Gupta, Sanjay: A review of antioxidants and Alzheimer's disease. *Ann. Clin. Psychol.* 2005, 17 (4): 269– 86.
49. Etminan, Mahyar; Gill, Sudeep , Samii, Ali.: Intake of vitamin E, vitamin C, and carotenoids and the risk of Parkinson's disease: a meta-analysis. *J. Neurol.* 2005, 4: 362– 5
50. Qualified Health Claims: Letter Regarding Tomatoes and Prostate Cancer (Lycopene Health Claim Coalition) (Docket No. 2004Q-0201) US FDA/CFSAN November 2005
51. Kalogeropoulos N., Panagiotakos D. B, Pitsavos C. , Chrysoshoou C., Rousinou G., Toutouza M., Stefanadis C.: Unsaturated fatty acids are inversely associated and n-6/n-3 ratios are positively related to inflammation and coagulation markers in plasma of apparently healthy adults. *Clin. Chim. Acta*, 2010, 584–591
52. Law, M. R. : Plant sterol and stanol margarines and health. *British Med. J.*, 2000, 320: 861- 864
53. Ross J. A., & Kasum, C. M.: Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu. Rev. Nutr.*, 2002, 22: 19- 34
54. Smith, T. J.: Squalene: Potential chemopreventive agent. *Expert Opin. Investig. Drug*, 2000, 9: 1841- 1848

55. Vasilopoulou E., Georga K., Joergensen M. B., Naska A. & Trichopoulou A.: The antioxidant properties of Greek foods and the flavonoid content of the Mediterranean menu. *Curr. Med. Chem. Immun., Endon. Metab. Agents*, 2005, 5: 33-45
56. Kalogeropoulos N., Chiou A., Ioannou M., Karathanos V.T., Hassapidou M., Andrikopoulos N.K.: Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries. *Food Chem.* 2010, 121: 682- 690
57. Boskou G, Salta FN, Chrysostomou S, Mylona A, Chiou A, Andrikopoulos NK (2006). Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market. *Food Chemistry*, 94, 558-564.