



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής
Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής

**Προσδιορισμός και αξιολόγηση των διατιθέμενων προς απορρόφηση
αντιοξειδωτικών από Μεσογειακά ξηρά φρούτα**

Μηνάς Μπισμπίκης



Αθήνα, 2017



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

**Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής
Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής**

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

**Χίου Αντωνία, Επίκουρη Καθηγήτρια Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας και
Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

**Καλογερόπουλος Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής Επιστήμης Διαιτολογίας
και Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

**Καραθάνος Βάιος, Καθηγητής Επιστήμης Διαιτολογίας και Διατροφής,
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Ο Μηνάς Μπισμπίκης

δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1)** Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δε συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλλει τα πνευματικά δικαιώματα τρίτων.
- 2)** Αποδέχομαι ότι η ΒΚΠ μπορεί, χωρίς να αλλάξει το περιεχόμενο της εργασίας μου, να τη διαθέσει σε ηλεκτρονική μορφή μέσα από τη ψηφιακή Βιβλιοθήκη της, να την αντιγράψει σε οποιοδήποτε μέσο ή/και σε οποιοδήποτε μορφότυπο καθώς και να κρατά περισσότερα από ένα αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

Σελίδα για Αφιέρωση

Στην επιστημονική κοινότητα, στην κοινωνία.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ τους ανθρώπους που με εμπνέουν, με την μαχητική και ελπιδοφόρα στάση τους στις δυσκολίες.

Πίνακας περιεχομένων

Περίληψη	8
Abstract	10
Κατάλογος εικόνων.....	11
Κατάλογος πινάκων	12
Κατάλογος διαγραμμάτων	13
Εισαγωγή.....	14
Θεωρητικό Μέρος	15
Χημεία και βιοχημεία φαινολικών ενώσεων	15
Ορισμός φαινολικών ενώσεων.....	15
Ταξινόμηση φαινολικών ενώσεων	15
Ομάδες ταξινόμησης φαινολικών ενώσεων.....	16
Διατροφικές πηγές φαινολικών ενώσεων	20
Εμφάνιση φαινολικών ενώσεων στα τρόφιμα	20
Φαινολικές ενώσεις σε ομάδες τροφίμων	21
Μηχανισμοί δράσης φαινολικών ενώσεων στον άνθρωπο :	27
Αποξηραμένα φρούτα – οικονομοτεχνικά στοιχεία.....	37
Ιστορική αναδρομή	37
Ξηρά φρούτα στο παρόν	39
Συγκεκριμένα ξηρά φρούτα	40
Οικονομοτεχνικά στοιχεία.....	42
Βιοπροσβασιμότητα φαινολικών ενώσεων.....	44
Ορισμοί	44
Σημαντικότητα της βιοπροσβασιμότητας για τις φαινολικές ενώσεις	45
Παράγοντες που επηρεάζουν την βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών ενώσεων	48
Μελέτες βιοπροσβασιμότητας φαινολικών ενώσεων	51
Μοντέλα μελετών βιοπροσβασιμότητας	54
Πειραματικό Μέρος.....	59
Προετοιμασία πειράματος	59
Αντιδραστήρια.....	59
Εργαστηριακά όργανα και σκεύη	59
Πορεία.....	60
Προσομοίωση πέψης in vitro	61
Αντιδραστήρια - Δείγματα.....	61

Εργαστηριακά όργανα και σκεύη	61
Πορεία.....	62
Βελτιστοποίηση μεθόδων	65
Αναλύσεις φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής δράσης.....	65
Αντιδραστήρια.....	65
Εργαστηριακά όργανα και σκεύη	66
Φασματοφωτομετρικές μέθοδοι	67
Προσδιορισμός του ολικού φαινολικού περιεχομένου με τη δοκιμή Folin-Ciocalteu (TF)....	67
Προσδιορισμός ολικών φλαβονολών (TFI).....	67
Προσδιορισμός ολικών φλαβονών (TFn).....	68
Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης <i>in vitro</i>	69
Αποξηραμένα φρούτα	71
Συγκριτική αξιολόγηση των ξηρών φρούτων	75
Αξιολόγηση αποτελεσμάτων - συζήτηση	80
Βιβλιογραφία.....	83

Περίληψη

Η πειραματική πτυχιακή μελέτη που ακολουθεί διαπραγματεύτηκε το θέμα των φαινολικών ενώσεων στα αποξηραμένα φρούτα κατά την προσομοίωση γαστρικής πέψης *in vitro*.

Οι φαινολικές ενώσεις των τροφίμων έχουν προσφάτως απασχολήσει τους επιστήμονες σχετικά με τις ευεργετικές τους δράσεις στην υγεία του ανθρώπου. Φαίνεται ότι η πρόσληψη τους από τρόφιμα που αποτελούν φυσικές πηγές τους προάγει με διάφορους τρόπους την υγεία. Ωστόσο οι ακριβείς μηχανισμοί δράσης και το μέγεθος της επίδρασης τους στην πρόληψη και αντιμετώπιση των χρόνιων νοσημάτων στις διάφορες πληθυσμιακές ομάδες δεν είναι ακόμα γνωστά. Για αυτό τον λόγο η επιστημονική κοινότητα μελετά τις φαινολικές ενώσεις με διάφορους τρόπους, χρησιμοποιώντας πλειάδα πειραματικών μοντέλων. Μια μέθοδος η οποία εστιάζει κυρίως στο τρόφιμο ως πηγή φαινολικών ενώσεων είναι η μελέτη βιοπροσβασιμότητας η οποία γίνεται με εργαστηριακές μεθόδους. Με αυτή την προσέγγιση βρίσκεται το ποσό των φαινολικών ενώσεων του τροφίμου που είναι διαθέσιμο για χρήση και απορρόφηση κατά την διαδικασία της πέψης. Οι λόγοι που η μελέτη αυτή γίνεται κυρίως εργαστηριακά ποικίλουν και αφορούν την ευκολία διεξαγωγής του πειράματος αλλά και την σταθερότητα και επαναληψιμότητα των συνθηκών της πέψης, γεγονός που επιτρέπει συγκρίσεις μεταξύ διαφορετικών τροφίμων και εξαγωγή σαφέστερων συμπερασμάτων.

Το πείραμα προσομοίωσης πέψης που διεξάγαμε αφορούσε τα αποξηραμένα φρούτα, βιολογική Κορινθιακή σταφίδα, ξινό δαμάσκηνο, νεκταρίνι, βερίκοκο, σύκο Μεσσήνης. Μετά την προσομοίωση πέψης ακολούθησε πληθώρα προσδιορισμών με σκοπό να περιγραφούν επαρκώς οι φαινολικές ενώσεις που ήταν βιοπροσβάσιμες σε κάθε στάδιο της πέψης. Πιο συγκεκριμένα, για κάθε στάδιο της πέψης μετρήθηκαν οι ολικές φαινόλες με την μέθοδο Folin Ciocalteu, οι ολικές φλαβανόλες και οι ολικές φλαβόνες. Επίσης έγινε προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας με την δοκιμή δέσμευσης ελευθέρων ριζών (DPPH) και την δοκιμή αναγωγής μεταλλικών κατιόντων (FRAP).

Το πείραμα μας έδειξε ότι υπάρχει σημαντική ποσότητα φαινολικών ενώσεων στα αποξηραμένα φρούτα, η οποία μάλιστα γίνεται βιοπροσβάσιμη σε σημαντικό βαθμό κατά την πέψη. Επιπλέον αναδείχθηκαν οι διαφορές στα αποτελέσματα ανάμεσα σε διαφορετικά φρούτα, ανάμεσα σε διαφορετικά είδη φαινολικών ενώσεων και ανάμεσα στις διαφορετικές φάσεις της πέψης. Πολύ επιγραμματικά, φάνηκε ότι η ποσότητα βιοπροσβάσιμων φαινολικών ενώσεων για όλα τα φρούτα μεγιστοποιείται στην γαστρική και στην εντερική φάση. Επίσης φάνηκε ότι αξιοσημείωτη ποσότητα φαινολικών ενώσεων απορροφάται από το εντερικό επιθήλιο. Επίσης

συγκρίνοντας τα φρούτα μεταξύ τους, φάνηκε ότι όλα έχουν σημαντική ποσότητα βιοπροσβάσιμων φαινολικών ενώσεων και υποκατηγοριών τους, ωστόσο μπορούμε να διακρίνουμε ότι μεταξύ αυτών που μελετήθηκαν υπερτερούν το ξινό δαμάσκηνο και η βιολογική Κορινθιακή σταφίδα, ακολουθεί το σύκο Μεσσήνης και έπονται το βερίκοκο και το νεκταρίνι.

Λέξεις κλειδιά: Φαινολικές ενώσεις, ξηρά φρούτα, προσομοίωση πέψης, βιοπροσβασιμότητα, αντιοξειδωτική λειτουργία.

Abstract

The experimental study below deals with the issue of phenolic compounds present in dried fruits when simulating gastric digestion *in vitro*.

Phenolic compounds in food have recently concerned scientists about their beneficial effects on human health. It seems that consumption of foods that are natural sources of phenolics promotes health in many ways. However, their precise mechanisms of action and the magnitude of their effect on the prevention and treatment of chronic diseases in the various population groups are not yet known. So, the scientific community is trying to study phenolic compounds from distinct aspects, using some experimental methods with different philosophies. A method that focuses primarily on the food as a source of phenolic compounds is the study of bioaccessibility, done in laboratory means. This approach concentrates to the amount of phenolics in the food that is available for use and absorption during the digestion process. The reasons why this study is mainly done *in vitro* vary and relate to the ease of conducting the experiment but also to the stability and repeatability of digestive conditions, which allows comparisons between different foods and the drawing of clearer conclusions.

The digestion simulation experiment we conducted was about the following dried fruits, organic Corinthian currant, sour plum, nectarine, apricot, Messinian fig. After the digestion and absorption simulation, a variety of assays were conducted to adequately describe the phenolic compounds that were bioaccessible at each stage of digestion. For each digestion step total phenolics by the Elisa method, total flavanols and total flavones, were measured. Also, total antioxidant capacity was determined by the DPPH method and the metal cation reduction method (FRAP).

Our experiment has shown that there is a significant quantity of phenolic compounds in dried fruit, which becomes highly bioaccessible in digestion. In addition, the differences in results between different fruits, between diverse types of phenolic compounds and between the separate phases of digestion were revealed. Summarising, the amount of bioaccessible phenolic compounds for all fruits is maximized in the gastric and intestinal phases. It also evident that a considerable quantity of phenolic compounds was absorbed by the intestinal epithelium. Also, by comparing the fruits with each other, they all seem to have a significant amount of bioaccessible phenolic compounds and its subclasses, but we can see that sour plums and Organic currants are predominant, followed by the Messinian fig and finally, apricot and nectarine.

Keywords: phenolics, dried fruits, gastrointestinal digestion simulation, bioaccessibility, antioxidant capacity.

Κατάλογος εικόνων

<u>Εικόνα 1.</u> Βενζόλιο, η πιο απλή φαινόλη.	σελ.15
<u>Εικόνα 2.</u> Υδρόξυ – βενζοϊκό οξύ.	σελ.17
<u>Εικόνα 3.</u> Υδρόξυ – κινναμικό οξύ.	σελ.17
<u>Εικόνα 4.</u> Οι 7 βασικές δομές των флаβονοειδών.	σελ.18

<u>Πίνακας 1.</u> Ταξινόμηση των φυτικών φαινολικών ενώσεων.	σελ.16
<u>Πίνακας 2.</u> Συνολικές φαινολικές ενώσεις (μmol/g) σε διάφορα φρούτα.	σελ.24
<u>Πίνακας 3.</u> Οι όροι βιοδιαθεσιμότητα, βιοπροσβασιμότητα, βιοδραστικότητα και η μεταξύ τους σχέση.	σελ.46
<u>Πίνακας 4.</u> Απαιτούμενες συγκεντρώσεις και ποσότητες διαλυμάτων αλάτων για την παρασκευή των διαλυμάτων πέψης SSF, SGF, SIF.	σελ.60
<u>Πίνακας 5.</u> Ποσότητες ενζύμων (g) για να διαλυθούν στην ποσότητα του κατάλληλου διαλύματος πέψης.	σελ.62
<u>Πίνακας 6.</u> Φαινολικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση κατά τις διάφορες φάσεις <i>in vitro</i> πέψης σύκου Μεσσήνης.	σελ.71
<u>Πίνακας 7.</u> Φαινολικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση κατά τις διάφορες φάσεις <i>in vitro</i> πέψης νεκταρινιού.	σελ.72
<u>Πίνακας 8.</u> Φαινολικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση κατά τις διάφορες φάσεις <i>in vitro</i> πέψης ξινού δαμάσκηνου.	σελ.73
<u>Πίνακας 9.</u> Φαινολικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση κατά τις διάφορες φάσεις <i>in vitro</i> πέψης βερίκοκου.	σελ.74
<u>Πίνακας 10.</u> Φαινολικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση κατά τις διάφορες φάσεις <i>in vitro</i> πέψης βιολογικής Κορινθιακής σταφίδας.	σελ.75

<u>Διάγραμμα 1.</u> Η παραγωγή ξηρών φρούτων εκφρασμένη σε τόνους κατά τις χρονιές 2009 – 2014.	σελ.43
<u>Διάγραμμα 2.</u> Η παραγωγή ξηρών φρούτων σε τόνους, ανά χώρα κατά τις χρονιές 2004 – 2014.	σελ.43
<u>Διάγραμμα 3.</u> Η αξία της παραγωγής των πιο δημοφιλών ξηρών φρούτων κατά τις χρονιές 2008 – 2014.	σελ.44
<u>Διάγραμμα 4.</u> Ολικό φαινολικό περιεχόμενο των αποξηραμένων φρούτων κατά την διαδικασία προσομοίωσης πέψης.	σελ.76
<u>Διάγραμμα 5.</u> Ολικό φαινολικό περιεχόμενο των αποξηραμένων φρούτων κατά την διαδικασία προσομοίωσης πέψης.	σελ.77
<u>Διάγραμμα 6.</u> Ολικές φλαβόνες των αποξηραμένων φρούτων κατά την διαδικασία προσομοίωσης πέψης.	σελ.78
<u>Διάγραμμα 7.</u> Ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών (AA) των αποξηραμένων φρούτων κατά την διαδικασία προσομοίωσης πέψης.	σελ.79
<u>Διάγραμμα 8.</u> Ικανότητα αναγωγής μεταλλικών κατιόντων (PR) των αποξηραμένων φρούτων κατά την διαδικασία προσομοίωσης πέψης.	σελ.80

Εισαγωγή

Οι φαινολικές ενώσεις είναι μια ομάδα ενώσεων που συγκαταλέγονται στα δευτερεύοντα μικροθρεπτικά συστατικά των τροφίμων. Τελευταία οι φαινολικές ενώσεις έλκουν το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας όσον αφορά τα οφέλη που μπορεί να έχουν για την υγεία του ανθρώπου. Είναι διαπιστωμένο ότι δίαιτες πλούσιες σε φρούτα και λαχανικά, τα οποία είναι και οι βασικές πηγές φαινολικών ενώσεων προλαμβάνουν σε σημαντικό βαθμό τα σημαντικότερα χρόνια νοσήματα, αποτελούν δε αναπόσπαστο κομμάτι της θεραπευτικής τους αντιμετώπισης. Παραδοσιακά, οι φαινολικές ενώσεις είναι γνωστές για την αντιοξειδωτική τους δράση, ωστόσο νέα επιστημονικά ευρήματα καταδεικνύουν επιπλέον τρόπους με τους οποίους αυτές αποδεικνύονται ωφέλιμες για τον οργανισμό.

Η βασικότερη πηγή φαινολικών ενώσεων στην δίαιτα είναι τα φρούτα. Τα φρούτα ωστόσο καταναλώνονται σε διάφορες μορφές, νωπά ή επεξεργασμένα με διάφορους τρόπους. Η ξήρανση των φρούτων είναι ένας από τους αρχαιότερους τρόπους συντήρησης και επεξεργασίας των φρούτων, ο οποίος σήμερα δίνει οφέλη που αφορούν κυρίως την πρακτικότητα στην κατανάλωση. Ωστόσο δεν έχει μελετηθεί επαρκώς η σύσταση τους σε φαινολικά συστατικά.

Μια σοβαρή παράμετρος όσον αφορά τις φαινολικές ενώσεις όπως και τα περισσότερα μικροθρεπτικά συστατικά είναι η βιοπροσβασιμότητα και η βιοδιαθεσιμότητα τους. Η βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών ενώσεων επηρεάζεται από το είδος τους, από την πρόσδεσή τους σε υδατανθρακικές δομές και γενικότερα από τις φυσικό - χημικές τους αλληλεπιδράσεις στο τρόφιμο. Για να μελετηθεί η βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών ενώσεων συνήθως γίνεται πείραμα προσομοίωσης πέψης με εργαστηριακά μέσα. Το πείραμα αυτό έχει σκοπό να αποτυπώσει με τρόπο τυποποιημένο και επαναλήψιμο τις συνθήκες πέψης ενός τροφίμου στο ανθρώπινο γαστρεντερικό σύστημα. Κατά αυτό το πειραματικό μοντέλο μπορούν να μετρηθούν οι φαινολικές ενώσεις που είναι διαθέσιμες για απορρόφηση σε κάθε στάδιο της πέψης ώστε να αξιολογηθεί πληρέστερα η σημασία που έχει η αρχική ύπαρξη φαινολικών ενώσεων σε ένα τρόφιμο για την υγεία του ανθρώπου.

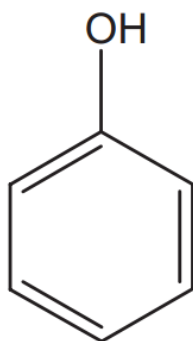
Σκοπός του πειράματος μας είναι να μελετήσει την βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών ενώσεων σε ξηρά φρούτα. Για να είναι πιο χρήσιμα για την κοινωνία τα αποτελέσματα, τα δείγματα φρούτων προέρχονται απευθείας από το εμπόριο. Επίσης επιλέχθηκαν να αναλυθούν φρούτα τα οποία παράγονται και αποξηραίνονται στην Ελλάδα.

Θεωρητικό Μέρος

Χημεία και βιοχημεία φαινολικών ενώσεων

Ορισμός φαινολικών ενώσεων

Είναι συστατικά που έχουν μια ή περισσότερες υδροξυλ-ομάδες συνδεδεμένες άμεσα σε έναν αρωματικό δακτύλιο. Συνολικά αυτή η δομή καλείται Φαινόλη και αποτελεί την βασική δομή της χημικής αυτής ομάδας. Μια φαινόλη, στην περίπτωση μας το βενζόλιο, απεικονίζεται στην Εικόνα 1. Η φαινολική υδροξυλ-ομάδα επηρεάζεται από την ύπαρξη αρωματικού δακτυλίου. Λόγω αυτού, το υδρογόνο του φαινολικού υδροξυλίου είναι ασταθές, γεγονός που καθιστά τις φαινολικές ενώσεις ασθενή οξέα, υπό φυσιολογικές συνθήκες. Πολυφαινόλες καλούνται οι φαινολικές ενώσεις που περιέχουν παραπάνω από ένα φαινολικό υδροξύλιο συνδεδεμένο σε ένα ή περισσότερα βενζόλια. Ο όρος είναι παραπλανητικός καθώς το προφανές, ότι οι πολυφαινόλες είναι πολυμερή μορίων φαινόλης, είναι εκ των ανωτέρω εσφαλμένος. Φυσικά, υπάρχουν πολυμερή φαινόλης. [1] Με βάση το σκεπτικό αυτό, στη βιβλιογραφία έχει προταθεί η αντικατάσταση του όρου «πολυφαινόλες» με τον όρο «πολικές φαινολικές ενώσεις» ή «βιοδραστικές φαινόλες» και στο εξής θα αναφέρονται ως τέτοιες [11]



Εικόνα 1 Βενζόλιο, η πιο απλή φαινόλη [1].

Ταξινόμηση φαινολικών ενώσεων

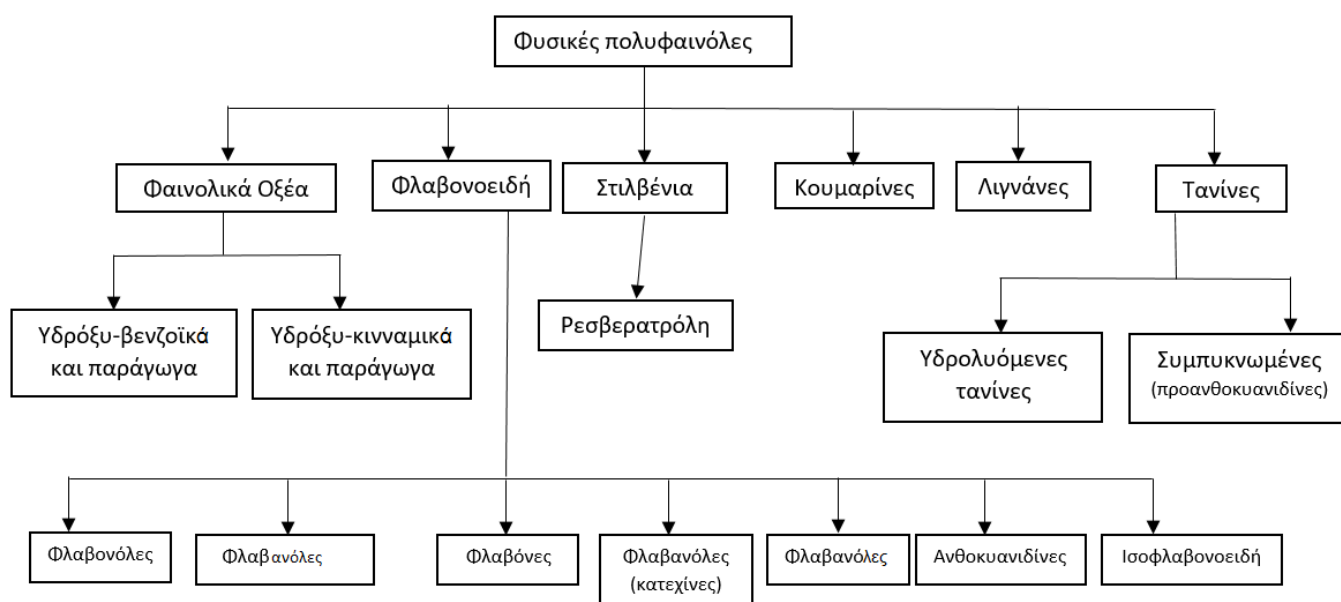
Οι διαιτητικές φαινολικές ενώσεις αποτελούν μια από τις πιο πολυάριθμες και ευρέως κατανομημένες ομάδες φυσικών προϊόντων στο φυτικό βασίλειο. Μέχρι στιγμής, πάνω από 8000 φαινολικές δομές έχουν ανακαλυφθεί, εκ των οποίων περισσότερες από 6000 έχουν ταυτοποιηθεί ως φλαβονοειδή. [2] Παρά τα κοινά τους χαρακτηρίστηκαν οι φαινολικές ενώσεις εμφανίζουν μεγάλη ποικιλομορφία, συνεπώς υπό την ομπρέλα της ομάδας αυτής, βρίσκονται αρκετές υποομάδες φαινολικών ενώσεων. Οι φαινολικές ενώσεις βρίσκονται στις περισσότερες ομάδες τροφίμων φυτικής προέλευσης. Η ποικιλομορφία και η ευρεία κατανομή των φαινολικών ενώσεων στα φυτά – συνεπώς και στα τρόφιμα φυτικής προέλευσης – έχει οδηγήσει σε διαφορετικούς τρόπους κατηγοριοποίησης και ταξινόμησης αυτών των φυσικών ενώσεων. Οι φαινολικές ενώσεις έχουν ταξινομηθεί με βάση : την πηγή προέλευσης τους, την βιολογική

λειτουργία τους και την χημική δομή τους. Επίσης οι περισσότερες φαινολικές ενώσεις στα φυτά υπάρχουν ως γλυκοζίτες με διαφορετικές μονάδες σακχάρου και ακετυλιωμένα σάκχαρα σε διαφορετικές θέσεις του φαινολικού σκελετού. Για την διευκόλυνση μας, η ταξινόμηση των φαινολικών ενώσεων γίνεται πάντα με βάση την μη γλυκοζιτική μορφή. [3] Στην παρούσα πτυχιακή μελέτη η ταξινόμηση των φαινολικών ενώσεων θα γίνει με βάση την πηγή προέλευσης τους.

Ομάδες ταξινόμησης φαινολικών ενώσεων

Η ταξινόμηση των φαινολικών ενώσεων φυσικής προέλευσης φαίνεται στον Πίνακα 1.

[4]



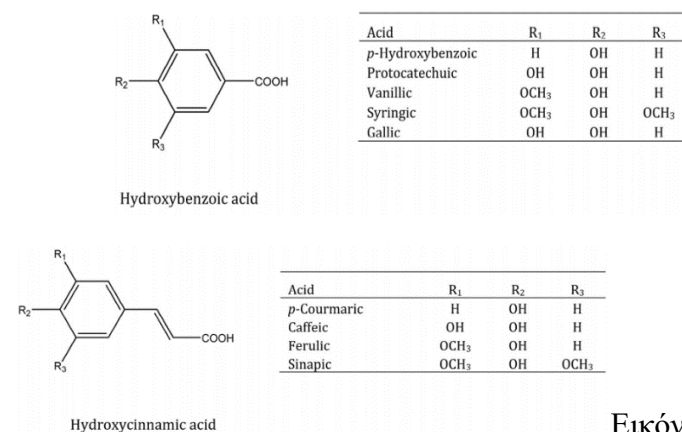
Πίνακας 1. Ταξινόμηση των φυτικών φαινολικών ενώσεων [4].

Φαινολικά οξέα

Υδρόξυ-βενζοϊκά : Χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη μιας καρβοξυλικής ομάδας σαν υποκαταστάτη στον φαινολικό δακτύλιο. Συνήθη υδρόξυ-βενζοϊκά οξέα είναι τα : γαλλικό οξύ, πρωτοκατεχονικό οξύ, σαλικυλικό οξύ και βανιλικό οξύ, συριγγικό οξύ, ελλαγικό οξύ, p-υδρόξυ-βενζοϊκό οξύ. Παράγωγα των οξέων είναι είναι αλδεϋδες όπως η βανιλίνη οι οποίες έχουν μια αλδεϋδομάδα αντί μιας καρβοξυλομάδας.

Υδρόξυ-κινναμικά : Χαρακτηρίζονται από τον σκελετό C6 - C3, δηλαδή έναν φαινολικό δακτύλιο και 3 άτομα άνθρακα συνδεδεμένα σε αυτόν. Συνήθη υδρόξυ-κινναμικά οξέα είναι τα :

κινναμικό οξύ, p-κουμαρικό οξύ, καφεϊκό οξύ, φερουλικό οξύ, 5-υδρόξυ-φερουλικό οξύ, σιναιπικό οξύ, χλωρογενικό οξύ. Οι περισσότερες φυτικές πηγές περιέχουν περισσότερα από 3 από αυτά. Συνήθως βρίσκονται εστεροποιημένα μαζί με κινικό, σικιμικό ή τρυγικό οξύ. Το χλωρογενικό οξύ είναι εστέρας καφεϊκού οξέος με κινικό. Επίσης βρίσκονται εστεροποιημένα με σάκχαρα και διάφορες άλλες οργανικές ενώσεις. Ακολουθούν οι Εικόνα 2., Εικόνα 3. με τις δομές των βασικών φαινολικών οξέων.



Εικόνα 2. Υδρόξυ – βενζοϊκό οξύ [4]

Εικόνα 3. Υδρόξυ – κινναμικό οξύ [4]

Φλαβονοειδή :

Είναι η κύρια ομάδα φαινολικών ενώσεων επειδή αντιπροσωπεύουν περίπου τα 2/3 των διατροφικών φαινολικών ενώσεων. Έχουν ταυτοποιηθεί πάνω από 6000 φλαβονοειδή μέχρι στιγμής. Τα φλαβονοειδή έχουν όλα τον χαρακτηριστικό ανθρακικό σκελετό C6—C3—C6 ενώ έχουν διαφορές στον ετεροκυκλικό με οξυγόνο δακτύλιο. Όλες οι υπό-ομάδες φλαβονοειδών προέρχονται από την μητρική ένωση 2-φαινύλ-χρωμόνη και αποτελούνται από τρεις φαινολικούς δακτυλίους (A,B,C) οι οποίοι παρουσιάζουν διαφορετικά επίπεδα υδροξυλίωσης και μεθυλίωσης. Οι βιοχημικές ιδιότητες των φλαβονοειδών και των παραγώγων τους εξαρτώνται από τις χημικές δομές και την σχετική θέση των τμημάτων του μορίου. [1], [4]

Φλαβόνες : Χαρακτηρίζονται από έναν διπλό δεσμό μεταξύ C-2 και C-3. Έχουν ταυτοποιηθεί 200 φλαβόνες. Βρίσκονται σε μη γλυκοζιτική μορφή στις τροφές. Με μια σειρά μετασχηματισμών που επηρεάζουν τον ετεροκυκλικό ανθρακικό δακτύλιο μπορούν να δώσουν ανθοκυανίνες και κατεχίνες.

Φλαβονόλες : Χαρακτηρίζονται από έναν διπλό δεσμό μεταξύ C-2 και C-3. Διαφέρουν από τις φλαβόνες καθώς διαθέτουν μια ομάδα υδροξυλίου στην θέση 3 και μπορούν να θεωρηθούν 3-δεόξυ-φλαβονόλες. Έχουν ταυτοποιηθεί περίπου 100 φλαβονόλες. Βρίσκονται σε μη γλυκοζιτική μορφή στις τροφές.

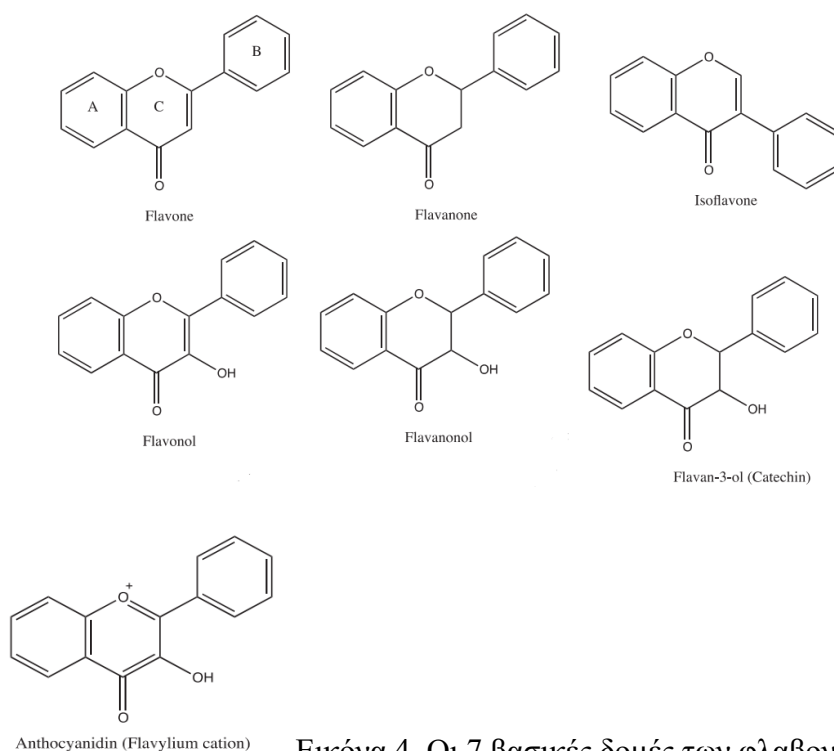
Φλαβονόνες : Χαρακτηρίζονται από έναν κορεσμένο δεσμό μεταξύ C-2 και C-3 και ένα άτομο οξυγόνου (καρβονυλομάδα) στην θέση 4. Μπορούν να θεωρηθούν για αυτό τον λόγο 2-υδρό-φλαβόνες.

Φλαβανόλες : Χαρακτηρίζονται από έναν κορεσμένο δεσμό μεταξύ C-2 και C-3 και ένα άτομο οξυγόνου (καρβονυλομάδα) στην θέση 4. Διαφέρουν από τις φλαβονόνες καθώς διαθέτουν μια ομάδα υδροξυλίου στην θέση 3. Μπορούν να θεωρηθούν για αυτό τον λόγο 3-υδρόξυ-φλαβονόνες ή 2-υδρό-φλαβανόλες.

Ισοφλαβονοειδή : Χαρακτηρίζονται από έναν φαινολικό δακτύλιο (A ring) ενωμένο με τον εξαμερή ετεροκυκλικό δακτύλιο (C ring) και ακόμα έναν φαινολικό δακτύλιο (B ring) στην θέση C-3. Παρά τις μικρές τους διαφορές με τα αντίστοιχα φλαβονοειδή, κάποια ισοφλαβονοειδή εμφανίζουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική λειτουργία.

Φλαβανόνες : Χαρακτηρίζονται από την έλλειψη του καρβονυλίου στην θέση 4. Συχνά συναντάμε φλάβανο-3-όλες και φλάβαν-3,4-διόλες. Στις τάξεις τους συγκαταλέγονται οι ανθοκυανίνες και οι κατεχίνες. [5]

Στην Εικόνα 4 φαίνονται οι 7 βασικές δομές των φλαβονοειδών. [4]



Εικόνα 4. Οι 7 βασικές δομές των φλαβονοειδών [4].

Στιλβένια : Χαρακτηρίζονται από τον ανθρακικό σκελετό C₆-C₂-C₆. Τα στιλβένια απαρτίζονται κυρίως από την trans-ρεσβερατρόλη και τον γλυκοζίτη της. Στα φυτά η ρεσβερατρόλη εμφανίζεται κυρίως ως trans-ρεσβερατρόλ-3-O-β-D-γλυκοζίτης. Ένα παράγωγο

της ρεσβερατρόλης το πετροστιλβένιο με ένα μόνο υδροξύλιο φαίνεται να είναι πιο ευεργετικό για την υγεία από αυτήν.

Λιγνάνες : Είναι διμερή ή ολιγομερή που προκύπτουν από την σύζευξη μονολυγνολών : p-κουμαρική-αλκοόλη, κονιφερική αλκοόλη και σιναπτική αλκοόλη (η πιο συνήθης). Τυπικά ο όρος λιγνάνη σημαίνει διμερές μονολυγνολών με δεσμό 8-8' (β - β'), ενώ ο όρος νεολιγνάνη αφορά δεσμό 8-8'. Συνήθης λιγνάνες είναι : η (+)-πινορεσινόλη, η (+)-σισαμίνη και το (-)-πλικατικό οξύ.

Ταννίνες : Περιλαμβάνουν μια ομάδα ενώσεων με μια μεγάλη ποικιλομορφία δομή που μοιράζονται την ικανότητά τους να δεσμεύουν και να καθιζάνουν οι πρωτεΐνες.

Συμπυκνωμένες ταννίνες : Είναι ολιγομερή ή πολυμερή φλαβανο-3-όλης (κατεχίνης). Τα πολυμερή φτιάχνονται από την δράση οξέων ή ενζύμων, συνήθως αποτελούνται από 2 – 10 μονομερή και ονομάζονται φλαβονάλες. Έχουν παρατηρηθεί πολυμερή με παραπάνω από 50 μονομερή κατεχίνης. Παράδειγμα συμπυκνωμένης ταννίνης : προκιανιδίνη B2 (επικατεχίνη-(4 β →8')-επικατεχίνη).

Υδρολύμενες ταννίνες : (Γαλλοταννίνες, Ελλαγιταννίνες)

Γαλλοταννίνες : Χαρακτηρίζονται από έναν σκελετό πολυόλης (μια ένωση με πολλές ομάδες υδροξυλίου) υποκατεστημένο με 10 – 12 μονάδες γαλλικού οξέος. Επίσης μεταξύ των μορίων γαλλικού οξέος αναπτύσσονται οι χαρακτηριστικοί meta-depside δεσμοί. Η πιο συχνά απαντόμενη πολυόλη είναι η D-γλυκόζη αλλά συναντάμε και κατεχίνη και τριτερπενοειδή μονάδα για πολυόλη. Οι γαλλοταννίνες με σκελετό D-γλυκόζης συντίθενται από 1,2,3,4,6-πέντα-γάλλουλο-γλυκόζη. Ένα παράδειγμα γαλλοταννίνης είναι το : έξα-γάλλουλο ένωση 2-O-διγάλλουλο-1,3,4,6-τέτρα-O-γάλλουλο- β -D-γλυκοπυρανόζη.

Ελλαγιταννίνες : Προέρχονται από την πέντα-γάλλουλο-γλυκόζη και αντίθετα με τις γαλλοταννίνες, περιέχουν επιπλέον δεσμούς C-C μεταξύ γειτονικών μορίων γαλλικού οξέος και πέντα-γάλλουλο-γλυκόζης. Λόγω των δύο εστερικών δεσμών μεταξύ των γαλλικών οξέων και της πολυόλης σε συνδυασμό με την παρουσία των ορθο-υποκαταστατών που δημιουργούν χωρική παρεμπόδιση, υπάρχει χειρομορφία και περιορισμένη περιστροφή γύρω από τον άξονα C-C [1], [4].

Διατροφικές πηγές φαινολικών ενώσεων

Εμφάνιση φαινολικών ενώσεων στα τρόφιμα

Η σύσταση των τροφίμων σε φαινολικές ενώσεις ποικίλει, γεγονός που οφείλεται στην διαφορετικότητα των φυτικών ιστών ως προς την ποσότητα και το είδος τους αλλά και στην μετέπειτα πορεία των φυτικών φαινολικών ενώσεων κατά την διάρκεια της επεξεργασίας και της φύλαξης του τροφίμου. Μερικές υπό-ομάδες φαινολικών ενώσεων είναι ευρέως διαδεδομένες στα φυτικά τρόφιμα ενώ άλλες είναι χαρακτηριστικές συγκεκριμένων μόνο τροφίμων. Χαρακτηριστικά παραδείγματα, οι προανθοκυανιδίνες που βρίσκονται στα περισσότερα φρούτα, χυμούς κρασί και μύρα ενώ οι ισοφλαβόνες σχεδόν αποκλειστικά στην σόγια και οι δίδρο-χαλκόνες μόνο στα μήλα. [6]

Η κατανομή των φαινολικών ενώσεων μεταξύ κυτταρικού και εξωκυττάριου χώρου στους φυτικούς ιστούς δεν είναι ομοιόμορφη. Αδιάλυτες φαινολικές ενώσεις βρίσκονται στα κυτταρικά τοιχώματα, ενώ διαλυτές υπάρχουν στα κυτταρικά καινοτόπια. Πιο σημαντική διαφοροποίηση αποτελεί το γεγονός ότι στα εξωτερικά τμήματα των φυτικών ιστών (όπως φλούδες, πίτουρα κλπ.) βρίσκονται περισσότερες φαινολικές ενώσεις συγκριτικά με το εσωτερικό των ιστών. [5] Πληθώρα μελετών έχουν αποδείξει ότι στα παραδοσιακά μη βρώσιμα μέρη των φυτικών τροφίμων (φλούδια, κουκούτσια, φύλα κτλ.) υπάρχει αξιοσημείωτη ποσότητα φαινολικών ενώσεων, πολλές φορές μεγαλύτερη από αυτήν του βρώσιμου μέρους. Κάποιες φαινολικές ενώσεις μπορεί να αυξηθούν σε καταστάσεις stress του φυτού όπως έκθεση σε ακτινοβολία UV, μόλυνση από παθογόνα και παράσιτα, πληγές, ρύπανση του αέρα και η έκθεση σε ακραίες θερμοκρασίες. [7] Τέτοια παραδείγματα είναι τα σιλβένια στα σταφύλια και η 6-μεθόξυ-μελίνη (ισοκουμαρίνη) στα καρότα. Τα επίπεδα φαινολικών ενώσεων στα φυτά εξαρτώνται τέλος από τις καλλιεργητικές τεχνικές τις κλιματικές συνθήκες κατά την ανάπτυξη, την διαδικασία ωρίμανσης και την επεξεργασία και αποθήκευση του τελικού τροφίμου. [5]

Ιστορικά τα φρούτα έχουν θεωρηθεί πηγή απαραίτητων για την διατροφή συστατικών και ινών, ενώ πιο πρόσφατα αναγνωρίστηκαν ως πηγή ευρέος φάσματος φυτοχημικών που έχουν ωφέλιμη δράση για την υγεία, με βασική ομάδα αυτών τις φαινολικές ενώσεις. [11] Εκτός από τα φρούτα που είναι τα πιο μελετημένα, σημαντική ποσότητα φαινολικών ενώσεων υπάρχει και στις άλλες ομάδες φυτικών τροφίμων αλλά και σε επεξεργασμένα τρόφιμα και ποτά.

Μέχρι πρότινος ο πληρέστερος πίνακας σύστασης τροφίμων ήταν αυτός του USDA, ο οποίος χωρίζει τις φαινολικές ενώσεις σε τρεις κατηγορίες (φλαβονοειδή, προανθοκυανιδίνες, ισοφλαβόνες). Ο πίνακας των φλαβονοειδών είναι ο πιο σύγχρονος με 500 τρόφιμα και απαριθμεί

τα μεμονωμένα φλαβονοειδή καθώς και κάποια παράγωγά τους. Ωστόσο όλοι οι γλυκοζίτες φαινολικών ενώσεων έχουν μετατραπεί σε μη γλυκοζιτικές μορφές, γεγονός αρκετά επιζήμιο για την διατροφική έρευνα. [8] Έχει δημιουργηθεί μια πιο λεπτομερής βάση δεδομένων, η οποία λαμβάνει υπ' όψη γλυκοζιτικές και μη μορφές και εμπεριέχει τα φαινολικά οξέα, τις ελλαγιταννίνες, τα στιλβένια και τις λιγνάνες. [9]

Φαινολικές ενώσεις σε ομάδες τροφίμων

Δημητριακά: Στα δημητριακά βρίσκονται ποσότητες φαινολικών οξέων και φλαβονοειδών, τόσο σε ελεύθερη μορφή όσο και συζευγμένα με άλλα μόρια. Η μεγαλύτερη ποσότητα τους βρίσκεται στον φλοιό των σιτηρών αλλά σημαντική ποσότητα βρίσκεται και στον καρπό. [12] Με αυτό το δεδομένο προκύπτει άμεσα ότι τα ακατέργαστα δημητριακά και τα προϊόντα ολικής άλεσης περιέχουν αρκετά μεγαλύτερες ποσότητες φαινολικών ενώσεων από τα ραφινάρισμα προϊόντα. Οι φαινολικές ενώσεις των δημητριακών συμμετέχουν σε μεγάλο βαθμό στην αντιοξειδωτική λειτουργία των τροφίμων αυτών.

Το κριθάρι περιέχει παράγωγα τυροσίνης, φαινολικά οξέα και εστέρες τους σε γλυκοζυλιωμένη μορφή, ανθοκυανίνες, προανθοκυανιδίνες, λιγνάνες και συστατικά σχετικά με την λιγνίνη. Το φαγόπυρο περιέχει στον φλοιό του συζευγμένα φαινολικά οξέα ενώ στον καρπό έχει αρκετά ελεύθερα φαινολικά οξέα. Επίσης περιέχει ρουτίνη, κερσετίνη, βιτεχίνη, ισοβιτεχίνη και ισοοριενθίνη καθώς και κατεχίνες. Το καλαμπόκι περιέχει κυρίως αδιάλυτα φαινολικά οξέα δεσμευμένα ομοιοπολικά με μόρια που έχουν αμίνη. Επίσης στο εσωτερικό τμήμα του περικάρπιου έχουν βρεθεί 16 παράγωγα στερολό-κινναμικών οξέων. Η βρόμη περιέχει βενζοϊκά και κινναμικά οξέα και παράγωγά τους, κινόνες, φλαβόνες, φλαβονόλες, χαλκόνες, φλαβονόνες και ανθοκυανίνες. Τα φαινολικά οξέα μπορεί να είναι συζευγμένα με σάκχαρα, πολυσακχαρίτες, λιγνίνη, αμίνη, γλυκερόλη και μακράς αλυσού αλκοόλες και ακόρεστα λιπαρά. Ο καρπός του σιταριού περιέχει φαινολικά οξέα, βανιλίνη και συριγκαλδεΰδη που όμως δεν προσδίδουν αντιοξειδωτική λειτουργία στα προϊόντα σίτου. Στον φλοιό περιέχονται φαινολικά οξέα με κύριο το φερουλικό, εστεροποιημένο με αραβινόζη, στανόλες, στερόλες και γλυκόζη. Τέλος στο σιτάρι υπάρχουν και φλαβόνες με κύρια την τρισίνη. [13] Το ρύζι περιέχει φαινολικά οξέα και αλδεΰδες σε διαλυτή και αδιάλυτη μορφή με κύρια οξέα το φερουλικό και το σιναπικό. Το άγριο (μη κατεργασμένο) ρύζι εμφανίζει 30 φορές μεγαλύτερη αντιοξειδωτική λειτουργία από το λευκό με φαινολικές ενώσεις 2.51–3.59 mg/g. [4] Η πατάτα περιέχει φαινολικά οξέα και φλαβονοειδή (φλαβονόλες, φλαβανόλες, ανθοκυανίνες) Οι φαινολικές ενώσεις της πατάτας βρίσκονται στη σάρκα και στην φλούδα, η οποία περιέχει και την μεγαλύτερη ποσότητα. Συνολικά τα δημητριακά περιέχουν σχετικά μικρή ποσότητα φαινολικών ενώσεων η οποία όμως γίνεται σημαντικότερη λόγω της ευρείας κατανάλωσης τους. [14]

Όσπρια : Οι πιο σημαντικές ομάδες φαινολικών ενώσεων στα όσπρια είναι οι ταννίνες, τα φαινολικά οξέα και τα φλαβονοειδή. Οι φλαβανόλες, οι ταννίνες και οι ανθοκυανίνες είναι υπεύθυνες για το σκούρο χρώμα των ξερών φασολιών με τα τελευταία να είναι καλύτερες πηγές φαινολικών ενώσεων. Οι φακές έχουν τις περισσότερες φαινολικές ενώσεις, συμπτυκνωμένες ταννίνες και φλαβονοειδή ακολουθούμενες από τα μαύρα και τα κόκκινα φασόλια. Διάφορες ποικιλίες φάβας και μπιζελιών περιέχουν σημαντικές ποσότητες συμπτυκνωμένων ταννινών. Τα φασόλια, ιδιαίτερα τα σκούρα, μπορούν να θεωρηθούν σημαντική πηγή αντιοξειδωτικών. [4] Ωστόσο τα φασόλια βράζονται. Κατά την διαδικασία αυτή σε μελέτη των Xu και Chang (2009) τόσο σε ατμοσφαιρική όσο και σε υψηλότερη πίεση, μειώθηκαν στατιστικά σημαντικά τα ολικά φαινολικά, ολικά φλαβονοειδή, συμπτυκνωμένες ταννίνες, και οι μονομερείς ανθοκυανίνες. [15] Βέβαια σε όλες τις περιπτώσεις το έτοιμο προς κατανάλωση τρόφιμο διατηρεί φαινολικά συστατικά. [31]

Λαχανικά : Οι φαινολικές ενώσεις στα λαχανικά βρίσκονται τόσο σε ελεύθερη όσο και σε συζευγμένη μορφή. Συγκρίνοντας κάποια ωμά λαχανικά βρέθηκε ότι η σειρά τους ως προς τις ολικές φαινολικές ενώσεις ήταν : μπρόκολο, σπανάκι, κίτρινο κρεμμύδι, κόκκινη πιπεριά, καρότο, λάχανο, πατάτα, μαρούλι, σέλερι και αγγούρι. Η διαφορά μεταξύ του μπρόκολου και του αγγουριού ήταν τεράστια. [16]

κραμβοειδή λαχανικά : Η ομάδα αυτή αποτελείται από τα : διάφορα είδη λάχανου, μπρόκολο, κουνουπίδι, λαχανάκια Βρυξελλών. Το μπρόκολο είναι πηγή παραγώγων φλαβονολών και υδρόξυ-κινναμικών οξέων. Οι κύριοι γλυκοζίτες φλαβονολών είναι η κερσετίνη και η καμφερόλη. Το λάχανο περιέχει πάνω από 20 φαινολικές ενώσεις, κυρίως γλυκοζίτες καμφερόλης και κερσετίνης. Οι γλυκοζίτες αυτοί μπορεί να είναι συνδεδεμένοι με φαινολικά οξέα. Το χρώμα του κόκκινου λάχανου οφείλεται σε πάνω από 15 διαφορετικές ανθοκυανίνες. Επίσης στα κραμβοειδή λαχανικά βρίσκονται παράγωγα καμφερόλης και μυρικετίνης αλλά και φλαβόνες όπως η απιγενίνη και η λουτεολίνη. Τα κραμβοειδή λαχανικά μπορούν να θεωρηθούν καλή πηγή φαινολικών ενώσεων παρά το βράσιμο που τα περισσότερα υφίστανται.

καρότα : Περιέχουν σημαντικές ποσότητες φαινολικών οξέων. Τα κύρια οξέα είναι : χλωρογενικό, φερουλικό, δικαφεοϋλ-κινικό (στα πορτοκαλί καρότα) και κινναμικά ισομερή. Φάνηκε ότι οι φαινολικές ενώσεις του καρότου βρίσκονται με φθίνουσα σειρά : στην φλούδα, στην σάρκα, στις κεντρικές ίνες. Επίσης τα κόκκινα καρότα περιέχουν περισσότερες φαινολικές ενώσεις από τα πορτοκαλί, κίτρινα και άσπρα, ενώ σε περίοδο ξηρασίας όλα τα καρότα αύξαναν τη ποσότητα φαινολικών ενώσεών τους. [4]

κρεμμύδια : Είναι από τις πιο καλές πηγές φλαβονοειδών στην διατροφή. Τα κύρια φλαβονοειδή τους είναι η κερσετίνη, η καμφερόλη, η μυρικετίνη και η κατεχίνη. Το χρώμα των κόκκινων κρεμμυδιών οφείλεται σε ανθοκυανίνες, οι οποίες το κάνουν καλύτερη πηγή φαινολικών ενώσεων συγκριτικά με το λευκό και το κίτρινο κρεμμύδι. Η εξωτερικές “στρώσεις” περιέχουν μεγαλύτερες ποσότητες φλαβονολών από τις εσωτερικές. Τα κρεμμύδια περιέχουν επίσης μικρές ποσότητες φαινολικών οξέων.

Σπαράγγια : Αποτελεί μια από τις καλύτερες πηγές αντιοξειδωτικών στην ομάδα των λαχανικών. Η κύρια φαινολική ένωση του είναι η ρουτίνη ενώ η κύρια ομάδα φαινολικών του είναι τα φλαβονοειδή. Τα βασικά φλαβονοειδή του σπαραγγιού είναι παράγωγα κερσετίνης, ισοραμεντίνης και καμφερόλης, σε μη γλυκοζιτική μορφή.

Τομάτα : Είναι μια φοβερή πηγή αντιοξειδωτικών, ωστόσο κυρίως βιταμίνης C, καροτενοειδών (λυκοπένιο) και λιγότερο φλαβονοειδών και φαινολικών οξέων. Τα φλαβονοειδή βρίσκονται σε αρκετή ποσότητα με κύριο εκπρόσωπο την κερσετίνη (φλαβονόλη) και μικρότερες ποσότητες καμφερόλης. Οι άγουρες τομάτες περιέχουν μεγάλη ποσότητα χλωρογενικού οξέος που χάνεται με την ωρίμανση τους. Τα τοματάκια φαίνεται, ίσως λόγω μεγαλύτερης επιφανείας να έχουν περισσότερα αντιοξειδωτικά από τις κανονικές τομάτες. [4]

Φρούτα : Ιστορικά τα φρούτα έχουν θεωρηθεί μια πλούσια πηγή απαραίτητων θρεπτικών συστατικών και ινών, ενώ πιο πρόσφατα του έχει αναγνωριστεί ότι αποτελούν πηγή ενός ευρέος φάσματος φυτοχημικών τα οποία από μόνα τους ή σε συνεργία μπορεί να ωφελούν την υγεία. Αποτελούν την βασική πηγή φαινολικών ενώσεων σε μια τυπική διατροφή. Τα πιο συνήθη αντιοξειδωτικά στα φρούτα είναι οι φαινολικές ενώσεις, οι βιταμίνες A, B, C και E ενώ σε κάποια φρούτα υπάρχουν και καροτενοειδή σε μικρότερη συγκέντρωση. Οι φαινολικές ενώσεις των φρούτων βρίσκονται συνήθως εστεροποιημένες και σε γλυκοζιτικές μορφές. Η πιο κυρίαρχη υποομάδα φαινολικών ενώσεων στα φρούτα είναι τα φλαβονοειδή, κυρίως φλαβονόλες, φλαβανο-3-όλες και ανθοκυανίνες, ενώ περιέχεται συνήθως σημαντική ποσότητα φαινολικών οξέων. [4] Σε μια μελέτη βρέθηκε ότι την υψηλότερη ποσότητα φλαβονολών είχαν το δαμάσκηνο, το μήλο, ο πολτός μήλου, το ροδάκινο, η φράουλα και το κεράσι με τιμές μεταξύ 70 και 370 mg/ 100 g ξηρού βάρους. Στον αντίποδα, οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις βρέθηκαν στο αβοκάντο, στην μπανάνα και στο αχλάδι με τιμές μεταξύ 4 και 100 mg/ 100 g ξηρού βάρους. [17] Μεταξύ εμπορικών χυμών φρούτων και λαχανικών ο χυμός σταφυλιού είχε την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική λειτουργία, συνεπώς και ποσότητα φαινολικών ενώσεων, ακολουθούμενος από τον χυμό τομάτας, πορτοκαλιού και μήλου. Παρακάτω ακολουθεί ο Πίνακας 2 ο οποίος έχει συγκεντρωμένα κάποια φρούτα των οποίων έχουν προσδιοριστεί οι ολικές φαινολικές ενώσεις. [18]. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα την έρευνας αυτής, την μεγαλύτερη δραστητικότητα είχαν οι φαινολικές ενώσεις του

κερασιού ακολουθούμενες από του κόκκινου σταφυλιού, του μύρτιλου, της φράουλας, του λευκού σταφυλιού και του κράνου ενώ μηδαμινή δραστικότητα εμφάνισαν οι φαινολικές ενώσεις της μπανάνας και του μήλου. Είναι κοινώς αποδεκτό ότι τα μικρά φρούτα που έχουν την μορφή του berry αποτελούν μια από τις καλύτερες πηγές φαινολικών ενώσεων. Συνοψίζοντας, τα φρούτα αποτελούν καλύτερη πηγή φαινολικών ενώσεων, σε ποσότητα και δραστικότητα από τα λαχανικά, με τα φρούτα τύπου berry να περιέχουν 4 φορές παραπάνω φαινολικές ενώσεις από άλλα φρούτα, 10 φορές παραπάνω από τα λαχανικά και 40 φορές παραπάνω από τα δημητριακά. [4] Ακολουθεί επιγραμματική ανάλυση των φαινολικών ενώσεων κάποιων ευρέως μελετημένων φρούτων.

Table 8 – Total phenol content and total phenol antioxidant index (PAOXI) of fruits.

Fruit	Total phenols (μmol/g)	
	Dry weight	Wet weight
Apple	34.1	6.4
Avocado	12.7	3.5
Banana	42.3	11.2
Blueberry	62.0	8.9
Cantaloupe	8.1	0.9
Cherry	52.3	10.9
Cranberry	158.8	22.7
Grape (white)	52.3	6.7
Grape (red)	63.7	13.6
Grape fruit	7.5	0.9
Lemon	19.6	2.4
Melon (honeydew)	11.4	1.3
Nectarine	12.3	1.5
Orange	18.9	1.4
Peach	27.9	2.4
Pear	41.4	6.6
Pineapple	11.9	2.3
Plum	58.2	7.8
Strawberry	72.3	4.6
Watermelon	19.5	2.2

Πίνακας 2. [18]

Μύρτιλα : Αποτελούν πολύ καλή πηγή φαινολικών οξέων, τανινών, φλαβονολών, ανθοκυανινών και προανθοκυανιδινών. Τα φαινολικά τους οξέα είναι κατά βάση τα : γαλλικό, καφεϊκό, p-κουμαρικό, φερουλικό και ελλαγικό. Οι ανθοκυανίνες τους απομονώνονται ως 3-γαλακτοζίτες, 3-αραβινοζίτες και 3-γλυκοζίτες κυανιδίνης, δελφινιδίνης, πεονιδίνης, πετουνιδίνης και μαλδιβίνης. Επίσης τα μύρτιλα περιέχουν κατεχίνη, μυρικετίνη, κερσετίνη και καμφερόλη.

Κράνα : Αποτελούν πολύ καλή πηγή ανθοκυανινών, φλαβονολών σε γλυκοζιτική μορφή, προανθοκυανιδινών, και φαινολικών οξέων. Τα φαινολικά τους οξέα είναι κυρίως το σιναπικό, το καφεϊκό και το p-κουμαρικό οξύ σε συζευγμένη μορφή και τα p-κουμαρικό, 1,4-διυδροξύβενοζοϊκό και βανιλλικό σε ελεύθερη μορφή. Οι ανθοκυανίνες τους απομονώνονται ως

3-γλυκοζίτες κυανιδίνης και πεονιδίνης. Οι προανθοκυανιδίνες τους είναι σε ποσοστό 63% πολυμερισμένες. [4]

Σταφύλια : Κυρίως στην φλούδα αλλά και στην σάρκα σε μικρότερες ποσότητες περιέχονται φαινολικά οξέα, φλαβονόλες, φλαβανόλες και στυλβένια. Τα κύρια φαινολικά οξέα του σταφυλιού είναι το καφταρικό, το κουταρικό και το trans-φερταρικό. Το σταφύλι περιέχει φλαβονόλες συμπλοκοποιημένες σε μορφή 3-γλυκουρονιδίου, βασικότερα είναι αυτά την κερσετίνη και της μυρικετίνης. Οι φλαβανόλες του σταφυλιού είναι η αστυλβίνη και η ενγελετίνη. Χαρακτηριστικές φαινολικές ενώσεις του σταφυλιού είναι τα στυλβένια, με την ρεσβερατρόλη, τα πισεΐδια, τις αστρινγίνες, τους ρεσβερατρολοζίτες σε cis- και trans- μορφή και το περοστυλβένιο.

Ρόδι : Αποτελεί καλή πηγή υδρολυόμενων ταννινών και ανθοκυανινών. Οι ανθοκυανίνες του εμφανίζονται σε μορφή 3- ή 3,5- γλυκοζίτη με κύριες αυτές την κυανιδίνη, δελφινιδίνη και πελαργονιδίνη. Επίσης το ρόδι περιέχει γαλλοταννίνες και ταννίνες ελλαγικού οξέος και γαλλαγιλίνης.

Εσπεριδοειδή : Περιέχουν παράγωγα κινναμικού οξέος, κουμαρίνες και φλαβονοειδή (κυρίως φλαβανόλες, φλαβόνες και φλαβονόλες). Τα φαινολικά οξέα των εσπεριδοειδών απαντώνται σε μορφή εστέρων, αμιδίων και γλυκοζιτών ενώ διαφέρουν ελάχιστα από φρούτο σε φρούτο. Χαρακτηριστικές ενώσεις των εσπεριδοειδών είναι οι πολυμεθυλοξυλιωμένες φλαβόνες (PMF) ενώ το προφίλ τους είναι χαρακτηριστικό για κάθε φρούτο. Οι πιο συνήθεις πάντως είναι η διοσμίνη και η νεοδιοσμίνη. Τα άγουρα φρούτα περιέχουν περισσότερες PMF συγκριτικά με τα ώριμα. Γενικώς τα εσπεριδοειδή περιέχουν μικρές ποσότητες φαινολικών ενώσεων.

Μήλα : Στις διάφορες πι κοιλίες μήλου βρίσκονται παράγωγα υδρόξυ-κινναμικού οξέος (HCA) με το χλωρογενικό οξύ να αποτελεί το 87 % της ποσότητάς τους, μονομερείς και ολιγομερείς φλαβανο-3-όλες και προανθοκυανιδίνες, δίδρο-χαλκόνες και φλαβονόλες και παράγωγά τους. Επίσης στην φλούδα των κόκκινων πι κοιλιών μήλων βρίσκεται ποσότητα ανθοκυανινών. Αρκετοί γλυκοζίτες φλαβονολών έχουν εντοπιστεί στα μήλα. Η φλοριζιδίνη, και η φλορετίνη είναι δίδρο-χαλκόνες που βρίσκονται σχεδόν αποκλειστικά στα μήλα. [4]

Βερίκοκο : Η φλούδα και η σάρκα του βερίκοκου περιέχουν 4 βασικές ομάδες φαινολικών ενώσεων : προκυανιδίνες, υδρόξυ-κινναμικό οξύ και παράγωγά του, φλαβονόλες και ανθοκυανίνες. Από οξέα το βερίκοκο περιέχει χλωρογενικό και νεοχλωρογενικό, από προκυανιδίνες B1, B2 και B4 και από φλαβονόλες παράγωγα κερσετίνης, καμφερόλης και κυανιδίνης.

Κεράσι : Τα γλυκά και τα ξινά κεράσια είναι καλές πηγές φλαβονοειδών και ανθοκυανινών. Οι ανθοκυανίνες του γλυκού κερασίου είναι η 3-ρουτινική κυανιδίνη, η 3-γλυκοζιτική κυανιδίνη και οι αντίστοιχες πεονιδίνες και η 3-ρουτινική πελαργονιδίνη. Το ξινό κεράσι περιέχει ακόμα περισσότερες ανθοκυανίνες. Το ξινό κεράσι έχει επίσης καμφερόλη, ισοαμνεστίνη και παράγωγά της, αλκαλοειδή και μελατονίνη. Από την άλλη το γλυκό κεράσι είναι πλουσιότερο σε φαινολικά οξέα. Τα πιο συνήθη φαινολικά οξέα στα κεράσια είναι τα υδρόξυ-κινναμικά όπως το καφεϊκό και το κουμαρικό. Συνολικά, τα κεράσια περιέχουν περισσότερες φαινολικές ενώσεις από πολλά άλλα φρούτα. [4]

Άλλες πηγές : Εκτός από τις κλασσικές ομάδες φυτικών τροφίμων τα αντιοξειδωτικά (και οι φαινολικές ενώσεις) βρίσκονται και σε άλλες πηγές. Τα τρόφιμα αυτά αποτελούν εκχυλίσματα φυτικών ιστών και έχουν συνήθως αρκετά μεγάλη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων. Τα πιο συνήθη και πιο μελετημένα από αυτά τα τρόφιμα είναι τα φυτικά έλαια, τα εκχυλίσματα τσαγιού και άλλων βοτάνων, ο καφές, το κακάο, η μπύρα και το κρασί. Αυτές οι πηγές φαινολικών ενώσεων, είναι πολύ πιθανό να καταναλώνονται τακτικά και έτσι να συμβάλουν σημαντικά στην πρόσληψη φαινολικών ενώσεων. Τέλος πηγές φαινολικών ενώσεων μπορούν να αποτελέσουν οι ξηροί καρποί και τα μπαχαρικά και μυρωδικά.

Ελαιόλαδο – ελιά : Η ελιά περιέχει ελαιοευρωπαϊνή, διμέθυλο-ελαιοευρωπαϊνή, σεκοϊριδοειδή, λιγστροσίδη και βερμπασκοσίδη. Η βασική φαινολική ένωση της ελιάς είναι η ελαιοευρωπαϊνή. Το παρθένο ελαιόλαδο περιέχει τα φλαβονοειδή ρουτίνη και 7-γλυκοζίτη λουτεολίνης, τις ανθοκυανίνες 3-O-γλυκοζίτη και 3-O-ρουτινοζίτη της κυανιδίνης, και την ελαιοκανθάνη.

Τσάι : Οι φαινολικές ενώσεις μαζί με την καφεΐνη είναι βασικά συστατικά του τσαγιού. Τα φύλλα τσαγιού περιέχουν φυσικά κατεχίνες. Οι κατεχίνες οξειδώνονται κατά την κατεργασία του τσαγιού και παράγουν θεαφλαβίνες, πολυυδροξυλιωμένες φλαβανό-3-όλες και θεαρουμπιγκίνη. Τα είδη τσαγιού με φθίνουσα σειρά ως προς τις φαινολικές ενώσεις είναι : πράσινο, μαύρο Κίνας, μαύρο, pu' erh tea.

Καφές : Βασικό στοιχείο του κάθε είναι η καφεΐνη. Οι φαινολικές ενώσεις συνεισφέρουν στο άρωμα του καφέ και έχουν ταυτοποιηθεί 42 σε αυτόν. Η βασική αρωματοποιός φαινολική ένωση είναι η κατεχόλη ακολουθούμενη από άλλες. Οι κόκκοι κάθε μπορεί να περιέχουν τουλάχιστον 5 από τα παρακάτω : χλωρογενικό οξύ, κατεχίνη, ρουτίνη, φερουλικό οξύ, ο-διυδρόξυ-βενζόλιο καφεϊκό, γαλλικό και προτοκατεχικό οξύ. [4]

Κακάο : Το κακάο και τα προϊόντα του περιέχουν παραπάνω φλαβονοειδή από το κόκκινο κρασί και το τσάι και παραπάνω φαινολικές ενώσεις από όλες τις ομάδες τροφίμων. Το 60 % των

φαινολικών ενώσεων του κακάου πρόκειται για επικατεχίνη – κατεχίνη και ολιγομερή προκυανιδίνης. Οι υπόλοιπες βασικές φαινολικές ενώσεις του είναι : γαλλοκατεχίνη και επιγαλλοκατεχίνη, προκυανίνες, ανθοκυανίνες, γλυκοζίτες φλαβονών και φλαβονολών . Υπάρχει μεγάλη διακύμανση στην συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στα προϊόντα κακάου από 3,3 έως 65 mg/g για σκόνη κακάου και από 1,7 έως 36,5 mg/g για μαύρη σοκολάτα.

Μπύρα : Οι φαινολικές ενώσεις της μπύρας περιέχουν φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή, προανθοκυανιδίνες, ταννίνες και φαινολικά αμύδια. Έχουν ταυτοποιηθεί 9 βασικές φαινολικές ενώσεις, οι : γαλλικό οξύ, πρωτοκατεχουϊκό οξύ, κατεχίνη, βανιλλικό οξυκαφεϊκό οξύ, συριγγικό οξύ, επικατεχίνη, p-κουμαρικό οξύ και φερουλικό οξύ σε δείγματα μπύρας. Επίσης στην μπύρα υπάρχουν διάφορες φλαβόνες, φλαβονόλες, ανθοκυανίνες και ανθοκυανιδίνες σε ποσότητες μικρότερες του 1 mg/L.

Κρασί : Οι βασικές φαινολικές ενώσεις του κρασιού είναι η trans-ρεσβερατρόλη και οι κατεχίνες, επικατεχίνες, κερσετίνη και ρουτίνη. Η trans- και cis- ρεσβερατρόλη υπάρχει τόσο σε μη γλυκοζιτική όσο και σε γλυκοζιτική μορφή. Τα πιο συνήθη φλαβονοειδή στο κρασί είναι οι φλαβονόλες κερσετίνη, καμφερόλη, μυρικετίνη, οι φλάβανο-3-όλες κατεχίνη και επικατεχίνη οι ταννίνες και οι ανθοκυανίνη κυανίνη. Από μη φλαβονοειδή, στα σταφύλια και στο κρασί βρίσκονται υδρόξυ-κινναμικά, βενζοϊκά και φαινολικά οξέα και στυλβένια (ρεσβερατρόλη). Το κόκκινο κρασί περιέχει σαφώς περισσότερα αντιοξειδωτικά από το λευκό. Αυτό πιστεύεται ότι προκύπτει λόγω της διαφοράς κατά την παραγωγή τους, όπου στο λευκό δεν συμπεριλαμβάνεται τόσο η φλούδα και τα κουκούτσια. [4]

Μηχανισμοί δράσης φαινολικών ενώσεων στον άνθρωπο :

Είναι ευρέως αποδεκτό πια, ότι δίαιτες πλούσιες σε φρούτα και λαχανικά προστατεύουν όσων αφορά τα καρδιαγγειακά νοσήματα και κάποιες μορφές καρκίνου αλλά και μια πληθώρα άλλων χρόνιων εκφυλιστικών νοσημάτων. Αυτή η προστατευτική δράση έχει σχετιστεί σε μεγάλο βαθμό με τις ουσίες που δρουν αντιοξειδωτικά, οι οποίες βρίσκονται σε μεγάλες ποσότητες στα φρούτα και τα λαχανικά. Παλαιότερα είχαν μελετηθεί κυρίως οι βιταμίνες C και E, καθώς και τα καροτενοειδή (προβιταμίνη A) ως προς τον αντιοξειδωτικό τους ρόλο. Σε ποιο σύγχρονες μελέτες ωστόσο, φάνηκε ότι οι φαινολικές ενώσεις που περιέχονται στα φρούτα και τα λαχανικά, είναι αυτές που συνεισφέρουν σημαντικότερα στα αντιοξειδωτικά οφέλη τους. Η βιολογική, φαρμακολογική και φαρμακευτική δράση των φλαβονοειδών έχει μελετηθεί εκτενώς. Τα φλαβονοειδή και άλλες φαινολικές ενώσεις των φυτών έχει φανεί ότι εκτός από την εξουδετέρωση ελεύθερων ριζών, έχουν και πολλαπλές άλλες βιολογικές δράσεις. Οι δράσεις αυτές μεταξύ άλλων περιλαμβάνουν αγγειοδιασταλτικές, αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιβακτηριακές,

ανοσοδιεγερτικές, αντιαλλεργικές, αντικές δράσεις. Επίσης φαίνεται ότι συνεισφέρουν στην δράση των ιστογόνων, ότι δρουν σαν αναστολείς της φωσφολιπάσης A2, της κυκλοξυγενάσης, της λιπόξυγενάσης, της ρεδοκτάσης της γλουταθειόνης και της οξειδάσης της ξανθίνης. Όλες αυτές οι συνιστώσες της δράσης των φαινολικών ενώσεων οδηγούν σε μια γενικότερη μετάβαση του μεταβολισμού σε μια πιο υγιή κατάσταση. [21]

Αντιοξειδωτική λειτουργία :

Ο ανθρώπινος οργανισμός χρειάζεται μια σωστή λειτουργία του μεταβολισμού του για την διασφάλιση της υγείας του. Κατά τον μεταβολισμό, παράγονται πολυάριθμες επιβλαβείς ουσίες, γνωστές ως ελεύθερες ρίζες. Για αυτό τον λόγο υπάρχουν ενδογενείς αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί που είναι ικανοί να εξουδετερώσουν τις ελεύθερες ρίζες. Για αν αποτραπεί η ζημιά από τις ελεύθερες ρίζες, θα πρέπει αυτές οι μηχανισμοί να προστατεύονται και να δρουν επαρκώς. Τα βασικά ένζυμα που εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες μέσω μεταβολισμού των παραγώγων τους είναι : η δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD), η καταλάση (CAT), και η περοξειδάση γλουταθειόνης (GSH-Px). Επίσης, σημαντικά για τη βέλτιστη λειτουργία αυτών των ενζύμων είναι και κάποια δευτερογενή αντιοξειδωτικά ένζυμα, όπως τα ένζυμα που έχουν να κάνουν με τον μεταβολισμό της γλουταθειόνης. Τα δευτερογενή αντιοξειδωτικά ένζυμα παρέχουν απαραίτητους συμπαράγοντες στα βασικά ένζυμα, όπως γλουταθειόνη και NADPH. Κατά τον μεταβολισμό, καταστάσεις όπως το άγχος, κάποια υποκείμενη νόσος, προσλαμβανόμενα φάρμακα, χημικά και φυτοφάρμακα αυξάνουν το ποσό των παραγόμενων ελεύθερων ριζών. Με παρόμοιο τρόπο επηρεάζει η ρύπανση του αέρα, οι ακτινοβολίες, τα ναρκωτικά, οι έλλειψη ύπνου και θρεπτικών συστατικών, γενικότερα ο σύγχρονος τρόπος ζωής. [20]

Η μελέτη του αντιοξειδωτικού δυναμικού φυτικών εκχυλισμάτων φαινολικών ενώσεων παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον αλλά και μεγάλη διαμάχη στην επιστημονική κοινότητα. Η διαμάχη και τα αντικρουόμενα αποτελέσματα προκύπτουν από την διαφορά στον σχεδιασμό των μελετών. Πιο συγκεκριμένα υπάρχουν *in vitro* εργαστηριακά πρωτόκολλα και *in vivo* κλινικές δοκιμές. Οι *in vivo* μελέτες γίνονται κυρίως σε ευκαρυωτικά κύτταρα, σε ποντίκια, σε ψάρια, σε ινδικά χοιρίδια, λαγούς και λιγότερο σε ανθρώπους. Οι *in vitro* μελέτες μπορούν να εντοπίσουν καλύτερα και άμεσα την αιτιολογική σχέση της δράσης των φαινολικών ενώσεων στην αντιοξειδωτική λειτουργία. Συνυπολογίζοντας και το μικρότερο κόστος τους, αλλά και ότι δεν προκύπτουν θέματα βιοηθικής καταλαβαίνει κανείς γιατί αυτά τα πρωτόκολλα υπερτερούν κατά πολύ σε αριθμό από τις *in vivo* δοκιμές. Σε γενικές γραμμές οι *in vitro* μελέτες δείχνουν ότι οι φαινολικές ενώσεις μπορούν να συμβάλουν τα μέγιστα στην αντιοξειδωτική λειτουργία του οργανισμού. Από την άλλη, οι *in vivo* δοκιμές δεν επαληθεύουν αυτά τα θεαματικά αποτελέσματα, δείχνοντας ότι η αντιοξειδωτική δράση των φαινολικών ενώσεων είναι πολύ μικρότερη ως και

μηδενική. Αυτή η διαφορά προκύπτει επειδή οι *in vivo* δοκιμές λαμβάνουν υπ' όψη παραμέτρους όπως η πέψη της τροφής και η βιοχημική και φυσιολογική δράση του οργανισμού. Κάθε είδος φαινολικών ενώσεων έχει άλλον τρόπο μεταβολισμού και δράσης στον οργανισμό. [20]

Αντιοξειδωτικά από φυσικές και μη πηγές έχει αποδειχτεί ότι είναι ιδιαίτερα ενεργά στον έλεγχο της παραγωγής ελεύθερων ριζών, στην πρόληψη των ανεπιθύμητων ενεργειών τους και στην υποβοήθηση των αντιοξειδωτικών και αποτοξινωτικών μηχανισμών του σώματος. Οι φαινολικές ενώσεις συγκεκριμένα, που αποτελούν και την κυρίαρχη ομάδα αντιοξειδωτικών στα φρούτα, μπορούν να εξουδετερώσουν τις ελεύθερες ρίζες προσφέροντας τους ένα ηλεκτρόνιο ή ένα άτομο υδρογόνου. Οι φαινολικές ενώσεις καταστέλλουν την δράση των ελεύθερων ριζών είτε μειώνοντας την παραγωγή τους είτε απενεργοποιώντας της ενεργές τους ομάδες, μειώνοντας την οξείδωση που αυτές προκαλούν. Οι φαινολικές ενώσεις δεν δρουν μόνες τους, αλλά έχει φανεί ότι δρουν συνεργιστικά με τις αντιοξειδωτικές βιταμίνες, βοηθώντας στην αναγέννησή τους.

Πολύ συχνά δρουν δεσμεύοντας τις ρίζες που θα εκκινούσαν μια μεταβολική πορεία οξείδωσης των λιπών. Αυτό γίνεται εφικτό απενεργοποιώντας την ρίζα προσφέροντας της ένα ηλεκτρόνιο το οποίο θα έπαιρνε από κάποιο μόριο λίπους που θα οξειδωνόταν, συμπαρασύροντας και άλλα μόρια προς την οξείδωση. Εκτός από την οξείδωση των λιπών, οι φαινολικές ενώσεις μπορούν να αποτρέψουν από την οξείδωση προκαλούμενη από αντιδράσεις μετάπτωσης μετάλλων (όπως η αντίδραση Fenton του Fe^{2+}) που παράγουν ρίζες υδροξυλίου, δρώντας σαν χηλικές ενώσεις. [20]

Μεταβολισμός εντέρου :

Κατά την πρόσληψη σημαντικών ποσοτήτων φυτοχημικών από την τροφή ένα μείγμα εκατοντάδων διαφορετικών φαινολικών ενώσεων εισέρχεται στον αυλό του γαστρεντερικού συστήματος. Σε περίπτωση που οι φαινολικές ενώσεις διατηρήσουν την δομή τους στο στομάχι, στο λεπτό έντερο μπορεί να απορροφηθούν μερικώς, αφήνοντας έτσι κάποια ποσότητα διαθέσιμη στο παχύ έντερο μέχρι να αποβληθούν από τα κόπρανα. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι σημαντικές ποσότητες φαινολικών ενώσεων φτάνουν στο παχύ έντερο, όπου υπόκειται στον μεταβολισμό της μικροχλωρίδας και παράγονται απαραίτητοι μεταβολικές.

Αρχικά οι φαινολικές ενώσεις παίρνουν την μη γλυκοζυλιωμένη τους μορφή. Για να γίνει αυτό διαφορετικά ένζυμα συμμετέχουν στην αποσύνδεση του γλυκοζιτικού τμήματος ή όσων αφορά τις πολυμερείς φαινολικές ενώσεις στην διάσπασή τους στα μονομερή. Σε δεύτερο επίπεδο οι φαινολικές ενώσεις θα πρέπει να διαχωριστούν από κάποιες ενώσεις στις οποίες είναι φυσιολογικά προσδεμένες στα τρόφιμα, αυτή η διαδικασία διαταράσσεται από την μικροχλωρίδα. Οι μικροοργανισμοί συνεχώς ανασχηματίζουν τη δομή των φαινολικών ενώσεων με τρόπους που

μπορεί να περιλαμβάνουν : σχάση δακτυλίου, α ή β οξείδωση, αφυδρογόνωση, αφυδροξιλίωση και απομεθυλίωση δημιουργώντας έτσι απλούστερες ενώσεις. Η τροφή προς πέψη παραμένει στο λεπτό έντερο για διάστημα 2 ως 4 ωρών, στο παχύ έντερο όμως μπορεί να παραμείνει για 24 ώρες ή και παραπάνω. Ο χρόνος αυτός είναι μάλλον αρκετός για να γίνουν σημαντικές μεταβολικές αλλαγές των φαινολικών ενώσεων στον εντερικό αυλό. Οι φαινολικές ενώσεις έχουν αναγνωρισμένη προστατευτική δράση στα κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου, προστατεύοντας τα από την οξειδωτικές και φλεγμονώδεις φθορές. Η παρουσία φαινολικών ενώσεων στον αυλό μπορεί επίσης να ενισχύσει ή να περιορίσει την παραγωγή προϊόντων ζύμωσης προερχόμενων από ενδογενείς ή διαιτητικές ουσίες. Με την σειρά της, η τροποποίηση του εντερικού μεταβολισμού μπορεί να αλλάξει τις ισορροπίες στους μικροβιακούς πληθυσμούς της μικροχλωρίδας. Μάλιστα πολλοί συγγραφείς έχουν συνδέσει την αλληλεπίδραση των φαινολικών ενώσεων και της μικροχλωρίδας με πιθανή πρόληψη ή και αποκατάσταση της τροποποίησης της μικροχλωρίδας σε μια νόσο. [21]

Λαμβάνοντας υπ' όψη την πολυπλοκότητα του μεταβολισμού του εντέρου, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η μικροβιακή μετατροπή των φαινολικών ενώσεων οδηγεί σε αύξηση των βασικών μεταβολιτών που έχουν συνολικά τα ίδια χαρακτηριστικά με τις αρχικές φαινολικές ενώσεις (τουλάχιστον ως προς τις δομικές μονάδες), γεγονός που μπορεί να αποτελέσει και δείκτη πρώιμης ζύμωσης τους. Όσο μεγαλύτερη η έκθεση των φαινολικών ενώσεων σε μικροχλωρίδα, τόσο οδηγούμαστε προς τα τελικά προϊόντα καταβολισμού της. Αυξημένη συγκέντρωση κάποιων βασικών μικροβιακών μεταβολιτών αναμένεται φυσιολογικά σε όλα τα άτομα. Από την άλλη, οι μεταβολίτες που βρίσκονται σε μικρή συγκέντρωση ή σε συγκεκριμένα άτομα θα μπορούσαν να σχετίζονται με συγκεκριμένη σύσταση της μικροχλωρίδας, που μπορεί να μεταβολίσει και με διαφορετικό τρόπο την αρχική φαινολική ένωση. Διαφορές στο προφίλ των φαινολικών μεταβολιτών στα ούρα μετά από in vivo πρωτόκολλα παρέμβασης, υποδεικνύουν επίσης ηπατικό και νευρικό μεταβολισμό. Το υπουρικό οξύ ήταν ο μεταβολίτης που ανιχνεύτηκε περισσότερο στο πλάσμα και τα ούρα, μετά από κατανάλωση φαινολικών ενώσεων. Το υπουρικό οξύ μπορεί να προέρχεται από μικροβιακή μετατροπή του κυνικού οξέος ή την υπατική μετατροπή των βενζοϊκών οξέων. Ωστόσο τα επίπεδα του υπουρικού οξέος μειώθηκαν σε ποντίκια που πήραν αντιβιοτικά, οπότε ο μικροβιακός μεταβολισμός παίζει βαρύνοντα ρόλο. Παρακάτω ακολουθούν τρεις βασικές ομάδες μικροβιακών μεταβολιτών και ένας άλλος μηχανισμός όπου οι φαινολικές ενώσεις επηρεάζουν σημαντικά. [21]

Βραχείας και μέσης αλύσου λιπαρά :

Με την ποσότητα και το είδος -την χημική δομή- των φαινολικών στοιχείων που προσλαμβάνονται από την τροφή, ανάλογη ποσότητα τους φτάνει στο παχύ έντερο. Με την παρουσία τους εκεί, μπορεί είτε να υποβοηθήσουν είτε να καταστείλουν την ανάπτυξη βακτηρίων που μεταβολίζουν υδατάνθρακες. Η ενζυμική έκφραση και δραστηριότητα των βακτηρίων αυτών είναι σημαντική ώστε να παραχθούν λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (SCFAs) από υδατάνθρακες. Επίσης από μελέτες φαίνεται ότι τα φαινολικά στοιχεία επιδρούν σε αυτή την κατάσταση διαφορετικά μεταξύ τους.

Η πέψη *in vitro* ποσότητας καθαρών φαινολικών ενώσεων μπορεί να αποδείξει το μέγεθος της επίδρασης της εντερικής μικροχλωρίδας στην παραγωγή BFCAs. Αυξημένα λιπαρά οξέα μέσης αλύσου (BCFAs) θεωρούνται ευεργετικά για την καλή εντερική υγεία. Από την άλλη, υψηλά επίπεδα BFCAs έχουν παρατηρηθεί σε φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου και την παχυσαρκία. Σε μελέτες η *in vitro* πέψη χλωρογενικού οξέος, ρουτίνης, καφεϊκού οξέος, κερσετίνης και φαινολικών ενώσεων του ελαιολάδου έδειξαν αύξηση στα επίπεδα SCFAs. Αντιθέτως, απομονωμένες προανθοκυανιδίνες και πουνικαλαγίνες μείωσαν την παραγωγή SCFAs. Τα αυξημένα επίπεδα SCFAs μετά από πέψη φαινολικών ενώσεων προκύπτουν μάλλον από τον αυξημένο μεταβολισμό γλυκοζυλιωμένων μορίων και άπεπτων υδατανθράκων, παρά από την άμεση παραγωγή τους. Η συμμετοχή των φαινολικών ενώσεων στην άμεση παραγωγή SCFAs δεν έχει αποσαφηνιστεί. Σε αντιδιαστολή, ο ρόλος των φυτικών ινών στην παραγωγή SCFAs είναι αδιαμφισβήτητη. Επειδή οι φαινολικές ενώσεις επιδρούν στην ύπαρξη και την ενεργότητα βακτηρίων που μεταβολίζουν υδατάνθρακες αλλά και στην έκφραση και λειτουργικότητα ενζύμων, οι φαινολικές ενώσεις θα μπορούσαν να παρεμβάλλονται και στη σύνθεση SCFAs. [21]

Χολικά άλατα :

Χρόνια αυξημένα επίπεδα δευτερευόντων μικροβιακών μεταβολιτών της χοληστερόλης και των χολικών αλάτων στο έντερο σχετίζονται με εντερική φλεγμονή και αυξάνουν την πιθανότητα καρκίνου του παχέος εντέρου. Επίσης, υδρολύοντας τα χολικά άλατα οι μικροβιακοί πληθυσμοί παράγουν σηπτικές ενώσεις οι οποίες απελευθερώνοντας ταυρίνη και γλυκίνη, συμβάλουν στην εντερική φλεγμονή.

Υπάρχουν πλέον κάποια στοιχεία σχετικά με την δράση των φαινολικών στοιχείων στον μικροβιακό μεταβολισμό των χολικών αλάτων και της χοληστερόλης. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα φαινολικά στοιχεία μπορούν να συμπίεσουν τον μικροβιακό μεταβολισμό των στερολών. Τα φαινολικά στοιχεία από την διατροφή θα μπορούσαν να μειώσουν την μετατροπή της χοληστερόλης στα μικροβιακά ανάλογά της, κυρίως σε κοπροστανόλη. Σε πρωτόκολλα με

ζωικά μοντέλα έχει φανεί ότι η μετατροπή των χολικών αλάτων σε δευτερεύοντες μεταβολίτες τους και της χοληστερόλης σε κοπροστανόλη περιορίζεται σημαντικά από δίαιτες πλούσιες σε φαινολικά στοιχεία. Μέχρι στιγμής φαίνεται ότι η αρνητική δράση των μεταβολιτών των στερολών στο παχύ έντερο μάλλον μετριάζεται από τα φαινολικά στοιχεία του αυλού. Ωστόσο, χρειάζεται περισσότερη έρευνα σε ανθρώπους ώστε να διασαφηνιστεί ο ρόλος των φαινολικών ενώσεων στον εντερικό μεταβολισμό των στερολών. [21]

Μη απορροφημένα προϊόντα μεταβολισμού των πρωτεϊνών :

Οι δίαιτες υψηλής πρωτεΐνης, κυρίως αυτές με αρκετό κόκκινο κρέας, αυξάνουν την εντερική τοξικότητα λόγω της αυξημένης παραγωγής μικροβιακών προϊόντων που προέρχονται από τον καταβολισμό των άπεπτων πρωτεϊνών. Τα προϊόντα αυτά που λέγονται σηπτικές ενώσεις και περιλαμβάνουν : την αμμωνία, την φαινόλη και την ινδόλη, θεικές ενώσεις, λιπαρά διακλαδισμένης αλύσου και πολυαμίδια (πουτρεσκίνη, αγματίνη, κανταβερίνη, τυραμίνη, ισταμίνη). Τα αυξημένα επίπεδα πρωτεΐνης στον αυλό μπορούν να τροποποιήσουν την μικροχλωρίδα του εντέρου, ευνοώντας τα μικρόβια που καταβολιάζουν αμινομάδες, τα οποία θεωρούνται βλαπτικά για την ομοιοστασία του εντέρου. Ως εκ τούτου, τροποποιήσεις της διατροφικών συνηθειών, όπως η αύξηση των διαιτητικών υδατανθράκων και ο περιορισμός της ενεργειακής πρόσληψης έχουν δείξει αντίστροφη σχέση με την συγκέντρωση αυτών των ενώσεων.

Δεν είναι ακόμα επαρκώς τεκμηριωμένη ωστόσο η δράση των φαινολικών ενώσεων. Μεταξύ των λίγων μελετών που προσπάθησαν να συσχετίσουν τον πρωτεϊνικό καταβολισμό με τα φαινολικά στοιχεία, οι περισσότερες έγιναν για τις μονομερείς και πολυμερείς φλάβανο-3-όλες. Σε ζωικά μοντέλα οι φαινολικές ενώσεις του τσαγιού μείωσαν το pH, την συγκέντρωση αμμωνίας, φαινόλης, p-κρεσόλης και σκατόλης στον εντερικό αυλό. Επίσης ικανοποιητικά αποτελέσματα υπήρξαν σε ανθρώπους μετά από χορήγηση αποστάγματος σπόρου σταφυλιού και φλαβανο-3-ολών, όπου μειώθηκε το pH και η συγκέντρωση θεικών παραγώγων στα κόπρανα. Οι αναλογίες μεταξύ των φαινολικών ενώσεων του βλωμού αλλάζουν κατά την διέλευσή του από το παχύ έντερο λόγω του μικροβιακού μεταβολισμού, οδηγώντας σε συγκέντρωση διαφορετικών μεταβολιτών με διαφορετικές ιδιότητες από τις πρόδρομες ενώσεις τους.

Οι διαφορές αυτές προκύπτουν μάλλον λόγω της αλλαγής στην δυναμική ισορροπία των βακτηριακών πληθυσμών. Η πέψη στο παχύ έντερο είναι ένα σύστημα όπου παγιδευμένα σωματίδια στο βλωμό περνούν από το ανιόν, εγκάρσιο και κατιόν κώλον προτού αποβληθούν στα κόπρανα. Σε όλη αυτή την διαδικασία, η μικροχλωρίδα μεταβολίζει τμήμα από αυτά τα μη

απορροφημένα συστατικά, τμήμα που εξαρτάται από το προτιμώμενο υπόστρωμα από τα βακτήρια και την διαθεσιμότητά του, αλλά και από τις φυσικοχημικές συνθήκες στον εντερικό αυλό (pH, δυναμικό οξειδοαναγωγής, χρόνο διέλευσης).[21]

Τροποποίηση γονιδίων :

Σε ένα πολύ νέο κομμάτι της επιστήμης της βιολογίας, αυτό της διατροφογενομικής, διαφαίνεται εξ' αρχής ότι οι φαινολικές ενώσεις πιθανώς παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης των κυττάρων στο γαστρεντερικό. Αυτό το γεγονός από την μια πλευρά έρχεται να προστεθεί στις ήδη καλύτερα γνωστές δράσεις των φαινολικών ενώσεων ως αντιοξειδωτικά και ως σημαντικές ενώσεις ως προς την μικροχλωρίδα του εντέρου, από την άλλη έρχεται ίσως να τις αιτιολογήσει καλύτερα και να τις "προσπεράσει" στο μέλλον.

Παρά το γεγονός ότι το 60% του παγκόσμιου πληθυσμού ακόμα βασίζεται στα βότανα για την θεραπεία ασθενειών και παθήσεων, τεράστιος αριθμός φυτικής προέλευσης φαρμακευτικών ουσιών παραμένουν άγνωστες και ανεκμετάλλευτες. Ένας βασικός λόγος που αυτές είναι δύσκολο να μελετηθούν αυτές οι ουσίες είναι το γεγονός ότι αλληλοεπιδρούν με πολλά ενδογενή συστατικά στον άνθρωπο. Ωστόσο αυτές οι ουσίες είναι παραδόξως ασφαλείς για την υγεία ακόμα σε μεγάλες δόσεις.

Το παρθένο ελαιόλαδο έχει φανεί ότι ασκεί πλειάδα διατροφογενομικών δράσεων που περιλαμβάνουν την ευεργετική ρύθμιση προ-αθυροματικών γονιδίων. Επίσης, εκχυλίσματα καθαρών φαινολικών ενώσεων από έξτρα παρθένο ελαιόλαδο έχουν προστεθεί στην όλο και αυξανόμενη λίστα διατροφικών θρεπτικών συστατικών που ασκούν σημαντικές επιδράσεις στα καρκινικά κύτταρα εκκινώντας έναν επιγενετικό μηχανισμό δράσης. Η ρεσβερατρόλη ρυθμίζει άμεσα, πάνω από 30 ένζυμα και πρωτεϊνικούς υποδοχείς, δίνοντας ευεργετικά αποτελέσματα επειδή ενεργοποιεί κάποια ένζυμα ενώ καταστέλλει κάποια άλλα. Παρομοίως, οι φαινολικές ενώσεις του τσαγιού και η κουρκουμίνη επηρεάζουν μεγάλο αριθμό μοριακών στόχων, προάγοντας έτσι την υγεία. [22]

Κάποιες από τις δράσεις των φαινολικών ενώσεων έχουν πολύ απλούς χημικούς μηχανισμούς (όπως ο αντιοξειδωτικός μηχανισμός) ενώ κάποιες άλλες δράσεις προσομοιάζουν με εκείνη των ενδογενών μορίων σημάτων. Πολλές φαινολικές ενώσεις δρουν ως τροποποιητές της μεταγραφής. Παρά το γεγονός ότι ο μηχανισμός δράσης είναι δύσκολο να προσδιοριστεί λόγω των πολλαπλών δράσεων των φαινολικών ενώσεων, η μείωση της δραστηριότητας του παράγοντα NFκB είναι κοινή τόσο κατά την φλεγμονή όσο κατά την αντίσταση στην ινσουλίνη, οπότε στις δύο αυτές περιπτώσεις οι φαινολικές ενώσεις μάλλον δρουν παρόμοια. Η δράση των φαινολικών ενώσεων

σε αυτές τις καταστάσεις είναι πολύ χρήσιμη, καθώς αυτές οι καταστάσεις αποτελούν παράγοντες κινδύνου για πολλές χρόνιες παθήσεις. Πιθανοί μηχανισμοί δράσης των φαινολικών ενώσεων είναι : η δράση τους στις μεταβολικές οδούς των κινασών, στην AMPK κινάσης και ο ταυτόχρονος έλεγχος του οξειδοαναγωγικού φορτίου με την μείωση της μιτοχονδριακής λειτουργίας. Έτσι μια μείωση της σηματοδότησης του stress μαζί με μια αύξηση των ελεύθερων ριζών στο μιτοχόνδριο μειώνουν την παραγωγή ATP, γεγονός που ωφελεί σημαντικά έναντι των χρόνιων ασθενειών και γενικότερα του γήρατος. [22]

Μια θεωρία σχετικά με τον τρόπο δράσης των φαινολικών ενώσεων που προτάθηκε πρόσφατα για να εξηγήσει μερικώς την επίδρασή των φυτικών τροφίμων στα ζώα, είναι αυτή της ξενοόρμεσης. Παλαιότερα, η όρμεση οριζόταν ως η υπόθεση κατά την οποία ένα ήπιο stress έχει ευεργετικά αποτελέσματα στην υγεία καθώς το ήπιο stress προετοιμάζει τον οργανισμό για καλύτερη χρήση των αμυντικών του μηχανισμών έναντι πιο σοβαρών κινδύνων στο μέλλον. Ο όρος ξενοόρμεση επινοήθηκε για να δείξει μια τέτοια αλληλεπίδραση μεταξύ διαφορετικών ειδών, εν προκειμένω της φυτικής προέλευσης τροφής στα ζώα. Πιο συγκεκριμένα ένας περιβαλλοντικός παράγοντας “στρεσάρει” το φυτό το οποίο παράγει μια χημική ουσία, που συνήθως περιέχει φαινολικά στοιχεία, για να αμυνθεί σε αυτόν. Αυτή η ουσία στην συνέχεια προσφέρει άμυνα και στον άνθρωπο που θα φάει το φυτό, έναντι σε αυτόν τον περιβαλλοντικό παράγοντα. Εάν η ξενοόρμεση επαληθευτεί, αυτό θα σημαίνει ότι το μεγαλύτερο όφελος από τις φαινολικές ενώσεις δεν προκύπτει από τον αντιοξειδωτικό τους ρόλο γενικόλογα, αλλά από την εξελικτικά προσαρμοστική διαμόρφωση των μορίων που εμπλέκονται στους μηχανισμούς απόκρισης στο stress. [22]

Επίδραση φαινολικών ενώσεων στην υγεία

Η μελέτη της επίδρασης των φαινολικών ενώσεων στην υγεία είναι ακόμα σε πολύ αρχικά στάδια. Τα αποτελέσματα in vivo μελετών σε ανθρώπους είναι φτωχά και πολλές φορές αντικρουόμενα. Οι λόγοι που οι υπάρχουσες μελέτες αδυνατούν ακόμα να δώσουν σαφείς απαντήσεις μπορεί να σχετίζονται αφενός με την μη πλήρως γνωστή και κατανοητή φυσιολογία του οργανισμού και παθοφυσιολογία της εκάστοτε νόσου, αφετέρου με τον μη γνωστό τρόπο επίδρασης των φαινολικών ενώσεων στον οργανισμό.

Δεν θα πρέπει να ξεχνάει κανείς ότι οι φαινολικές ενώσεις παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλομορφία, έχοντας στις τάξεις τους χιλιάδες βιομόρια τα οποία προφανώς συμμετέχουν σε διαφορετικά μεταβολικά μονοπάτια και με διαφορετικούς τρόπους. Επιπλέον, οι διατροφικές πηγές των φαινολικών ενώσεων περιέχουν εκτός από πολλές διαφορετικές φαινολικές ενώσεις και ένα πλήθος άλλων βιομορίων που πιθανώς αλληλοεπιδρούν με τις φαινολικές ενώσεις. Οι

καταστάσεις αυτές κάνουν την μελέτη για την επίδραση των φαινολικών ενώσεων στην υγεία και συνεπακόλουθα τα αποτελέσματα ένα μεγάλο στοίχημα για το παρόν και το μέλλον. [23] Παρακάτω θα αναλυθούν τα χρόνια νοσήματα, ως η βασικότερη παράμετρος υγείας του ανθρώπου και θα διερευνηθούν τα όποια ερευνητικά δεδομένα υπάρχουν σχετικά με την επίδραση των φαινολικών ενώσεων σε αυτά.

Χρόνια νοσήματα

Τα χρόνια νοσήματα, γνωστά και ως μη λιμώδεις ασθένειες, είναι συχνά αντιστρεπτές καταστάσεις επιδείνωσης της υγείας που εμφανίζουν χρονιότητα και σχετικά αργή εξέλιξη. Τα χρόνια νοσήματα χωρίζονται σε πέντε βασικές ομάδες νοσημάτων : 1) Τις καρδιαγγειακές παθήσεις, όπως το έμφραγμα και το εγκεφαλικό επεισόδιο, 2) Τους καρκίνους, 3) Τις χρόνιες αναπνευστικές παθήσεις και το άσθμα, 4) Τον διαβήτη και τα μεταβολικά νοσήματα, 5) Τις νευροεκφυλιστικές νόσους όπως η νόσος Parkinson και Alzheimer.

Τα χρόνια νοσήματα αποτελούν πλέον την κύρια αιτία θανάτου παγκοσμίως καθώς αφορούν 36 εκατομμύρια θανάτους ετησίως από τα 57 εκατομμύρια των συνολικών θανάτων, ποσοστό δηλαδή 67 %. Ανάμεσα στα χρόνια νοσήματα, η σειρά φθίνουσας σημαντικότητας με βάση τον αριθμό των θανάτων είναι : Καρδιαγγειακές παθήσεις, καρκίνος, αναπνευστικές παθήσεις και διαβήτης. [24]

Ο ρόλος των φαινολικών ενώσεων στα χρόνια νοσήματα

Καρδιαγγειακές παθήσεις :

Όσον αφορά τα καρδιαγγειακά υπάρχει αρκετά μεγάλος όγκος δεδομένων που δείχνουν την θετική επίδραση των φαινολικών ενώσεων. Σε προοπτική μελέτη μεγάλης κλίμακας στην Αμερική (McCulloch et al., 2012) βρέθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης φλαβονοειδών και του σχετικού κινδύνου για θανάτους από καρδιαγγειακά συμβάματα. Η συσχέτιση αυτή επαληθεύτηκε και στην μελέτη EPIC στον Ευρωπαϊκό χώρο. Κατά τ παρακολουθήθηκαν πάνω από 40.000 άτομα για 13 χρόνια και φάνηκε ότι αυτοί που είχαν ένα διαιτολόγιο υψηλό σε φλαβονοειδή παρουσίαζαν 29 % μικρότερη θνητότητα από καρδιαγγειακά, συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου.

Σε μια πρόσφατη μεταανάλυση (Wang et al. 2014) , όπου πλέον συμπεριλήφθηκαν όλες οι φαινολικές ενώσεις, βρέθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης φλαβονολών, ανθοκυανινών, προανθοκυανιδινών, φλαβονών, φλάβανο-3-ολών και φλαβανονών και του κινδύνου για καρδιαγγειακά συμβάματα. Μάλιστα, στην ομάδα της υψηλότερης κατανάλωσης βρέθηκε 10 – 13 % μειωμένος κίνδυνος για καρδιαγγειακά, συγκριτικά με αυτή της χαμηλότερης.

Η βασικότερη αιτία της συσχέτισης αυτής είναι το γεγονός ότι τα τρόφιμα με υψηλή συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων μπορούν να διατηρούν χαμηλότερο το βαθμό οξείδωσης της LDL λιποπρωτεΐνης στον άνθρωπο. Από την άλλη, ο ρόλος των φαινολικών ενώσεων στα καρδιαγγειακά παραμένει αμφιλεγόμενος και αυτό συμβαίνει καθώς σε μελέτες παρέμβασης δεν έχει φανεί ξεκάθαρη βελτίωση των επιμέρους παραγόντων κίνδυνου για τα καρδιαγγειακά (αρτηριακή πίεση, λιπίδια αίματος, ενδοθηλιακή λειτουργία κ.α.) από την κατανάλωση φαινολικών ενώσεων. [25]

Καρκίνος :

Στην περίπτωση του καρκίνου η βιβλιογραφία είναι αρκετά μικρότερη συγκριτικά με τα καρδιαγγειακά. Επίσης, τα αποτελέσματά της είναι πιο αποσπασματικά, πιο διφορούμενα και μέχρι στιγμής λιγότερο αισιόδοξα. Ωστόσο, τα δεδομένα από επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν ότι τα φαινολικά στοιχεία μπορεί να επηρεάσουν με θετικό τρόπο την καρκινογένεση και την δημιουργία όγκων, κυρίως όσων αφορά το γαστρεντερικό σύστημα (Gonzalez et al. 2012). Μάλιστα, η κατανάλωση φλαβανο-3-ολών, φλαβονολών, ανθοκυανινών κι φλαβονών έχει συσχετιστεί με μειωμένο κίνδυνο για εμφάνιση καρκίνου παχέος εντέρου (Theodoratou et al. 2007). Από την άλλη οι Woo και Kim (2013) δεν βρήκαν συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης φλαβονοειδών και του καρκίνου στομάχου και παχέος εντέρου.

Ο κύριος όγκος των μελετών διεθνώς έχει επικεντρωθεί διεθνώς σε τρόφιμα όπως ο καφές, το τσάι και η σοκολάτα. Σε γενικές γραμμές, μελέτες παρέμβασης με τσάι (είτε ως εκχύλισμα σε κάψουλα είτε ως ρόφημα) βρήκαν κάποια θετικά αποτελέσματα [25]. Ωστόσο ο FDA μελετώντας τα ευρήματα της βιβλιογραφίας υποδεικνύει ότι δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα για να δοθεί ισχυρισμός υγείας στην κατανάλωση τσαγιού όσων αφορά την μείωση του κίνδυνου για καρκίνο στομάχου, πνεύμονα, λεπτού-παχέος εντέρου, οισοφάγου, παγκρέατος, ωοθηκών και μεταστατικού καρκίνου. Επίσης, καταδεικνύει ότι τα δεδομένα που υποστηρίζουν την μείωση των καρκίνων του μαστού και του προστάτη είναι ελλιπή. [26] Επίσης, έχουν γίνει έρευνες που αφορούν χυμούς εσπεριδοειδών και μούρων, διάφορα berries και το ελαιόλαδο. Τα προϊόντα αυτά φάνηκε να βελτιώνουν κάποιους εξεζητημένους δείκτες καρκίνου και αυξημένου κίνδυνου για την εμφάνιση του. Ωστόσο χρειάζεται περεταίρω έρευνα για οποιοδήποτε συμπέρασμα.[25]

Νευρολογικές παθήσεις :

Για την περίπτωση των νευρολογικών παθήσεων τα ερευνητικά δεδομένα είναι ακόμα περιορισμένα, ωστόσο είναι ενθαρρυντικά και σε μεγάλο βαθμό μη αντικρουόμενα. Πιο συγκεκριμένα, φαίνεται ότι οι φαινολικές ενώσεις ασκούν πλειάδα δράσεων στον εγκέφαλο, δράσεις που πιθανώς συμπεριλαμβάνουν την μείωση της φλεγμονής, την αύξηση της μνήμης και την βελτίωση της μαθησιακής και νοητικής ικανότητας.

Επιδημιολογικές μελέτες βρίσκουν μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης άνοιας, μέχρι και 50 %, σε αυτούς που κατανάλωναν συχνά τρόφιμα με σημαντική ποσότητα φαινολικών ενώσεων. Σε προοπτικές μελέτες έχει φανεί ότι η αυξημένη κατανάλωση φρούτων τύπου “berry”, καφέ και κρασιού μειώνει τον κίνδυνο για νόσο Alzheimer καθώς μειώνεται ο ρυθμός μείωσης της νοητικής ικανότητας κατά το γήρας. Επίσης φαίνεται ότι οι ανθοκυανίνες και άλλες φαινολικές ενώσεις μειώνουν τα επίπεδα προ – φλεγμονωδών νευροδιαβιβαστών στο αίμα, όπως ο NF-kB. [25]

Διαβήτης – δυσανοχή στην γλυκόζη :

Μια ανασκόπηση της βιβλιογραφίας δείχνει ότι στις κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους οι διατροφικές ανθοκυανίνες από “berries” αύξησαν την αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος, συνεπακόλουθα μειώθηκε το οξειδωτικό stress. Επίσης φάνηκε ότι οι ανθοκυανίνες προστατεύουν τα β κύτταρα του παγκρέατος, αυξάνουν την έκκριση ινσουλίνης και καθυστερούν την απορρόφηση των διατροφικών σακχάρων. Συνολικά βρέθηκαν πολλές δράσεις που προάγουν την ευγλυκαιμία. Συνολικά φάνηκε ότι η κατανάλωση “berries” μειώνει την μεταγευματική γλυκόζη και βελτιώνει την ινσουλινοευαισθησία, μεταβλητές άκρως σημαντικές όσων αφορά τον διαβήτη τύπου 2. [27]

Επίσης, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι οι κατανάλωση ξηρών καρπών έχει ευεργετική δράση μεταξύ άλλων χρόνιων νοσημάτων και στον διαβήτη. Μάλιστα αυτό οφείλεται κυρίως στις φαινολικές ενώσεις που περιέχουν. Επιπροσθέτως , σε μια κλινική δοκιμή η κατανάλωση μήλων και “berries” μείωσε τον κίνδυνο για διαβήτη τύπου 2 λόγω της προσλαμβανόμενης κερσετίνης και μυρικετίνης. Επίσης υπάρχουν αναφορές για τα οφέλη του κακάου και άλλων διατροφικών πηγών φαινολικών ενώσεων για τον διαβήτη, που όμως είναι αποσπασματικές και διφορούμενες. [25]

Αποξηραμένα φρούτα – οικονομοτεχνικά στοιχεία

Ιστορική αναδρομή

Γεωργία

Η μεταφορά από την νομαδική ζωή, το κυνήγι και την συλλογή τροφής στην γεωργία και την κτηνοτροφία συνέβη στην Μεσοποταμία πριν από περίπου 10 με 12 χιλιάδες χρόνια, μάλλον αρκετά ξαφνικά. Μάλιστα η αλλαγή αυτή αποτέλεσε την Νεολιθική επανάσταση, συμβάλλοντας καθοριστικά στην ιστορία της ανθρωπότητας. Η εξημέρωση των ζώων και η κτηνοτροφία προηγήθηκε ιστορικά της εξημέρωσης των φυτών και της γεωργίας, αφού υπήρχε και κατά τη νομαδική περίοδο. Οι πρώτες καλλιεργείες φαίνεται να ήταν δημητριακά όπως το κριθάρι και η σπάρτα και καρποί όπως το σουσάμι και οι φακές.

Φρούτα

Κατά την δεύτερη Νεολιθική επανάσταση που συνέβη μεταξύ 6.000 και 3.000 π.Χ. και έδωσε την αρχή της εποχής του χαλκού, οι μικροί οικισμοί και τα χωριά έδωσαν την θέση τους σε αστικές κοινότητες. Η ύπαρξη αστικών κοινοτήτων προϋπέθετε την εγκατάσταση της γεωργίας και κτηνοτροφίας σε σταθερό μέρος. Η εξέλιξη αυτή συμπίπτει με την αρχή της καλλιέργειας φρούτων, τα οποία επειδή βρίσκονται κυρίως σε δέντρα απαιτούν δέσμευση σε σταθερό κομμάτι γης. Μάλιστα η καλλιέργεια των φρούτων και η σταθερή καλλιέργεια συνέβαλαν στην δημιουργία της εδαφικότητας, των πόλεων κρατών και τελικά του εθνικού κράτους.

Η καλλιέργεια των φρούτων ξεκίνησε από δύο περιοχές – πολιτισμούς. Από τον Τίγρη και τον Ευφράτη και τον πολιτισμό της Μεσοποταμίας και από τον Νείλο και την Αίγυπτο. Αργότερα υπήρξαν προσθήκες νέων ειδών και αγροτεχνολογίας από την Ελλάδα, την Περσία, την Τουρκία, την Ινδία και την Κίνα. Μάλιστα, οι καλλιεργητικές τεχνικές που αναπτύχθηκαν στην Ελλάδα και την Ρώμη κατά την κλασσική περίοδο δεν ξεπεράστηκαν για πάνω από μια χιλιετία. [28]

Ξηρά φρούτα

Τα ξηρά φρούτα αποτελούν έναν παραδοσιακό τρόπο συντήρησης και κατανάλωσης των φρούτων που χάνεται στα βάθη των αιώνων. Έχουν καταγραφεί ευρήματα αποξηραμένων φρούτων από την περιοχή της Μεσοποταμίας που χρονολογούνται περίπου στο 1.700 π.Χ. Στη μεσόγειο οι σταφίδες και άλλα αποξηραμένα φρούτα όπως δαμάσκηνα και σύκα καταναλώνονταν από την αρχαιότητα δίνοντας γλυκιά γεύση μόνα τους ή σε σύνθετα τρόφιμα. [29]

Τα περισσότερα φρούτα έχουν μικρό χρόνο ζωής μετά την συγκομιδή, οπότε χρειάζονται κάποιου είδους επεξεργασία σε περίπτωση που πρέπει να συντηρηθούν για όλη τη χρονιά. Επίσης, η περιορισμένη ικανότητα συντήρησης είναι ένας από τους περιοριστικούς παράγοντες για την εμπορευσιμότητα των φρούτων. Όσον αφορά τα αποξηραμένα φρούτα, η υψηλότερη συγκέντρωση σακχάρων σε συνδυασμό με την χαμηλότερη υγρασία που έχουν, συγκριτικά με το φρέσκο, επιτρέπει την επί μακρόν συντήρησή τους. Παραδοσιακά η ξήρανση των φρούτων γινόταν με την έκθεση τους στον ήλιο. Σε αυτή τη διαδικασία συνέβαλε το κλίμα κοντά στην Μεσόγειο που έχει έντονη ηλιοφάνεια και χαμηλή υγρασία κατά τους καλοκαιρινούς μήνες, περίοδο που συγκομίζονται τα προς ξήρανση φρούτα. Για την ταχύτερη ξήρανση χρησιμοποιούνταν συχνά τεχνικές όπως το κόψιμο σε λεπτές φέτες του φρούτου, κυρίως του δαμάσκηνου και του βερίκοκου, που είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος. [28]

Πολύ αργότερα, κατά το μεσαίωνα αναπτύχθηκε η τεχνοτροπία συντήρησης των φρούτων με την προσθήκη ζάχαρης, σε μορφή μαρμελάδας ή γλυκού του κουταλιού. Η τεχνοτροπία αυτή ήρθε στο φως με την ανακάλυψη της ζάχαρης από ζαχαροκάλαμο που έγινε εκείνη τη περίοδο. Παραδοσιακά το φρούτο lingonberry και άλλα φρούτα του δάσους συντηρούνταν με αυτό τον

τρόπο στις βόρειες χώρες. Ακόμα αργότερα, το 19^ο αιώνα ο Nicolas Appert ανακάλυψε την τεχνολογία της συντήρησης φρούτων μέσω θέρμανσης και κονσερβοποίησης, ως απάντηση στον Βρετανικό αποκλεισμό της Γαλλίας κατά την Γαλλική επανάσταση του Ναπολέοντα. Τέλος, η κατάψυξη και άλλες μέθοδοι συντήρησης με ψύξη είναι τεχνολογίες του 20^{ου} αιώνα.

Ξηρά φρούτα στο παρόν

Χαρακτηριστικά

Η ξήρανση των φρούτων, όπως φάνηκε παραπάνω είναι από τις παλαιότερες μεθόδους συντήρησης των φρούτων και μάλιστα ίσως η ιστορικά σημαντικότερη. Στο σύγχρονο κόσμο όπου υπάρχουν πια ηλεκτρικό ρεύμα και ψυγείοκαταψύκτες, αλλά και μοντέρνου τύπου καλλιεργητικές τεχνικές που επεκτείνουν την περίοδο συγκομιδής (θερμοκήπια, υδροπονική κ.α.), ενώ η παγκοσμιοποίηση έχει φέρει την μια άκρη του πλανήτη πολύ κοντά με την άλλη, σίγουρα η έκταση της αποξήρανσης των φρούτων έχει μειωθεί. [28]

Ωστόσο, εκτός από την μακρά περίοδο συντήρησης, η αποξήρανση των φρούτων έχει επιπλέον πλεονεκτήματα τα οποία επίκαιρα και στις μέρες μας. Το βασικό πλεονέκτημα των ξηρών φρούτων πλέον είναι το μειωμένο του βάρος και ο όγκος. Λαμβάνοντας αυτό υπ' όψη, η συσκευασία, η φύλαξη και η μεταφορά των ξηρών φρούτων είναι κατά πολύ φθηνότερη σε σχέση με τα νωπά. Αυτοί οι παράγοντες είναι επίσης σημαντικοί και κατά την κατανάλωση των φρούτων. Τέλος, σε μελέτη που έκανε η ερευνητική ομάδα του Sijtsema φάνηκε ότι κατά την κατανάλωση νωπών και ξηρών φρούτων οι εθελοντές εξέφρασαν σχεδόν ίδια θετικά συναισθήματα. Μάλιστα τα αποξηραμένα φρούτα δηλώθηκε ότι είναι πιο βολικά στην κατανάλωση τους. [28]

Μέθοδοι ξήρανσης

Παραδοσιακά η ξήρανση των φρούτων συμβαίνει με την χρήση της ηλιακής ακτινοβολίας, ωστόσο έχουν χρησιμοποιηθεί κατά περιόδους και άλλες πιο επεμβατικές πρακτικές ξήρανσης. Μια επίσης διαδεδομένη τεχνική είναι η ξήρανση σε θερμαινόμενη αεροδυναμική σήραγγα. Κατά αυτή την μέθοδο τα φρούτα φυσώνται με θερμό αέρα ο οποίος αποσπά υγρασία από την επιφάνειά τους. Αυτή η διαδικασία αποσπά υγρασία από όλο το φρούτο τελικά, καθώς το νερό του πυρήνα ωθείται ωσμωτικά προς την επιφάνεια. Επίσης, η ξήρανση στον φούρνο ή στην κατάψυξη (λυοφιλίωση) μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν. Έχουν πιστοποιηθεί ή είναι ακόμα σε διερεύνηση και πλέον συνθετότερες μέθοδοι ξήρανσης για κάποια φρούτα, όπως η ξήρανση υπό κενό με μικροκύματα, η ξήρανση με ώσμωση υπό ψύξη κ.α. Η διερεύνηση αυτή γίνεται ώστε να βρεθεί μια βιώσιμη οικονομικά μέθοδος ξήρανσης που να είναι η λιγότερο επεμβατική και να διατηρεί την διατροφική αξία και την ποιότητα των φρούτων κατά το μέγιστο. [28]

Τα ξηρά φρούτα στην Μεσόγειο παράγονται στις μέρες μας κυρίως με τον παραδοσιακό τρόπο, με την έκθεση δηλαδή του νωπού φρούτου στον ήλιο, ή με θέρμανση σε θερμαινόμενη αεροδυναμική σήραγγα. Οι σταφίδες, τα δαμάσκηνα, τα σύκα και τα βερίκοκα είναι χαρακτηριστικά παραδοσιακά ξηρά φρούτα. Πριν την ξήρανση των φρούτων μπορεί να γίνει έγχυση ενός πυκνού γλυκαντικού μέσου στα νωπά φρούτα, κατάσταση που τα ξηραίνει μερικώς, επιταχύνοντας έτσι την διαδικασία. Με αυτό το ‘‘μεικτό’’ τρόπο παράγονται κυρίως τα cranberries και τα blueberries. Τέλος, στα ξηρά φρούτα μπορεί να γίνει και προσθήκη ζάχαρης, όπως στην περίπτωση του ξηρού ανανά και ακτινιδίου. [29]

Συγκεκριμένα ξηρά φρούτα

Σταφίδες

Τα σταφύλια (*Vitis vinifera* L.) και οι σταφίδες καλλιεργούνται και καταναλώνονται από την αρχαιότητα. Είδη άγριου σταφυλιού βρέθηκε ότι καλλιεργούνταν στο νότιο τμήμα της Γαλλίας από το 35.000 π.Χ. Επίσης, προϊστορικές τοιχογραφίες σε σπήλαια της Μεσογείου επιβεβαιώνουν την χρήση της σταφίδας για κατανάλωση αλλά και για διακόσμηση. Η διάδοση της καλλιέργειας σταφυλιού οφείλεται μάλλον στους Φοίνικες και τους Αιγύπτιους. Η συντήρηση και κατανάλωση των σταφυλιών γινόταν με δύο τρόπους. Ο πιο απλός ήταν η ξήρανση μέσω του ήλιου, όπου το ξηρό φρούτο (σταφίδα) είχε χαρακτηριστικά γλυκιά γεύση και υψηλή ικανότητα αποθήκευσης. Ο δεύτερος είναι η παραγωγή κρασιού, η οποία στις μέρες μας υπερβαίνει κατά πολύ την παραγωγή σταφίδας ή επιτραπέζιου σταφυλιού.

Τα είδη της σταφίδας εξαρτώνται από την ποικιλία του αρχικού σταφυλιού. Η κύρια ποικιλία σταφυλιού όσων αφορά την παραγωγή σταφίδας παγκοσμίως είναι η ‘‘Thompson seedless’’, στην Ελλάδα γνωστή ως σουλτανίνα. Ωστόσο υπάρχουν και άλλες ποικιλίες, προερχόμενες από λευκά ή σκούρα σταφύλια. Ο όρος σταφίδα αφορά κυρίως σταφύλια με μικρή ρόγα, όπως η Κορινθιακή σταφίδα (*Vitis Vinifera* L., var. *Apyrena*). Αυτή η ποικιλία σταφυλιού καλλιεργείται κυρίως στην νότια Ελλάδα και έχει μια χαρακτηριστική στρογγυλή, σκούρα και μικρή ρόγα.[29]

Χουρμάδες

Στην αρχαιότητα ο φοίνικας που παράγει τους χουρμάδες χρησιμοποιήθηκε από την Ινδία μέχρι και την βόρεια Αφρική για τον χουρμά που καταναλωνόταν φρέσκος ή αποξηραμένος, για το ιδιαίτερο ξύλο και τα φύλλα του καθώς και το μακρύ χρόνο ζωής του. Πιθανώς αποτελεί το πρώτο φρούτο που καλλιεργήθηκε. Έγινε ευρέως γνωστός κατά την περίοδο του Χαλκού στη Μέση Ανατολή. Η αρχική προέλευση του φοίνικα δεν είναι γνωστή και αποτελεί πεδίο διαμάχης. Ο φοίνικας αυτός είναι προσαρμοσμένος στο μακρύ και πολύ θερμό καλοκαίρι, με ελάχιστη

βροχόπτωση και υγρασία των περιοχών αυτών, ωστόσο απαιτεί μια ποσότητα υπόγειων υδάτων και μπορεί να δώσει καρπούς μόνο στις συγκεκριμένες, ερημικές, συνθήκες.

Στο παρόν, υπάρχουν περισσότερες από 3.000 γνωστές ποικιλίες με τις 60 από αυτές να είναι διαδεδομένες. Πολλές από αυτές τις ποικιλίες είναι γνωστές εδώ και χιλιετίες. Οι ποικιλίες μπορούν να διαχωριστούν μεταξύ τους βάση της περιεχόμενης υγρασίας του καρπού και της αναλογίας σουκρόζης έναντι της γλυκόζης και της φρουκτόζης σε μαλακές και ημι-ξηρές. Η τεχνητή επιλογή έχει βελτιώσει την ποιότητα του φρούτου, την ικανότητα αποθήκευσης, αναρρόφησης νερού και ανοχής στο γλυφό νερό. [28] Οι χώρες που παράγουν σήμερα την μεγαλύτερη ποσότητα χουρμάδων είναι η Σαουδική Αραβία, το Ιράν, η Τυνησία, τα Ηνωμένα Αραβικά Εμιράτα, η Αλγερία, το Ιράκ και η Αίγυπτος, [30] στην περιοχή δηλαδή που παραδοσιακά παράγονταν οι χουρμάδες.

Σύκα

Τα κοινά σύκα (*Ficus carica*, Moraceae) είναι είδη που προέρχονται τόσο από εξημερωμένες, όσο και από άγριες ποικιλίες. Τα σύκα θεωρούνται από τα βασικά και παλαιότερα φρούτα στην λεκάνη της Μεσογείου. Έχει βρεθεί πληθώρα ευρημάτων καλλιέργειας τους από την Νεολιθική και την ύστερη Νεολιθική περίοδο αλλά και την εποχή του Χαλκού (4^η χιλιετία π.Χ.). Η εξημέρωση τους έχει αναφερθεί από τον βασιλιά των Ασσύριων περίπου το 2.900 π.Χ. και έγινε ευρέως γνωστή περίπου το 2.000 π.Χ. Αρχαία των Αιγυπτίων αναφέρουν την καλλιέργεια σύκου κατά την 3^η και 2^η χιλιετία π.Χ., ενώ υπάρχει και πληθώρα τοιχογραφιών.

Η εξημέρωση των σύκων αφορά την αύξηση του μεγέθους του φρούτου και τα περιεχόμενα σάκχαρα. Άλλα ενδιαφέροντα χαρακτηριστικά των σύκων είναι το χρώμα της φλούδας και της σάρκας και η αντοχή στο ‘‘σκάσιμο’’ κατά την ωρίμανση. Υπάρχουν παραπάνω από 600 γνωστές ποικιλίες. Τα σύκα καταναλώνονται φρέσκα ή αποξηραμένα, ενώ μπορεί να υποστούν επεξεργασία και να πάρουν την μορφή πάστας ή να κονσερβοποιηθούν. Τέλος, μπορεί να παραχθεί αλκοολούχο ποτό από το σύκο. [28]

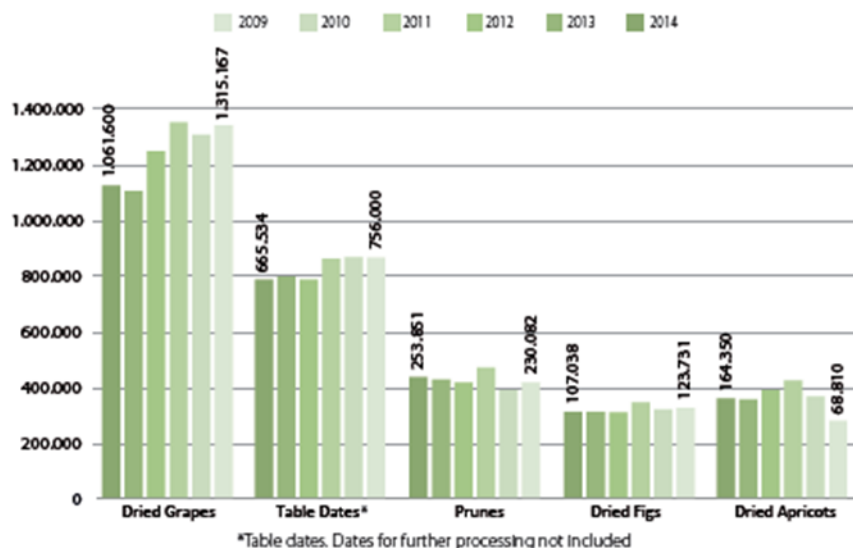
Δαμάσκηνα

Τα κοινά δαμάσκηνα (*Prunus domestica* L.) έχουν καταγωγή από τον Καύκασο, από την πλευρά της Κασπίας θάλασσας και θεωρείται ότι προέρχονται από δύο άγριες ποικιλίες. Αρχαιολογικά ευρήματα καταδεικνύουν την καλλιέργεια του δαμάσκηνου σε αυτές τις περιοχές από την Νεολιθική εποχή. Η διάδοση του δαμάσκηνου (όπως και του βερίκοκου και του κερασιού) στη Ευρώπη αλλά και τον υπόλοιπο κόσμο έγινε από την εξτρατία του Μεγάλου Αλεξάνδρου (356 – 323 π.Χ.). Το ξηρό φρούτο μπορεί να αποθηκευτεί για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα, ενώ πωλείται μερικώς ενυδατωμένο για να μπει σε γλυκά ή χυμούς ή και για να καταναλωθεί σκέτο.

Η παγκόσμια παραγωγή ξηρών φρούτων για την σοδειά του 2013 υπολογίστηκε μεγαλύτερη των 7,5 εκατομμυρίων τόνων, με τους χουρμάδες να καλύπτουν το 80% της παραγωγής και να ακολουθούν οι σταφίδες με 14%, τα ξηρά δαμάσκηνα με 2%, τα ξηρά βερίκοκα με 2% και τα ξηρά σύκα με 1% (INC, 2013). Όσον αφορά τα ξηρά βερίκοκα, η παραγωγή ήταν περίπου 170 χιλιάδες τόνοι με πρώτη χώρα σε παραγωγή την Τουρκία. Όσον αφορά τα ξηρά σύκα, η παραγωγή ήταν περίπου 114 χιλιάδες τόνου με πρώτη χώρα σε παραγωγή επίσης την Τουρκία ακολουθούμενη από τις ΗΠΑ και την Ελλάδα. Όσον αφορά τα δαμάσκηνα, οι ΗΠΑ ήταν η πρώτη χώρα σε παραγωγή, με περίπου 188 χιλιάδες τόνους, ακολουθούμενη από τη Χιλή, τη Γαλλία και την Αργεντινή. Όσον αφορά τη σταφίδα, η παγκόσμια παραγωγή ανήλθε στους 326 χιλιάδες τόνους με τις ΗΠΑ να είναι πρώτη χώρα σε παραγωγή με ποσοστό 26% επί του συνολικού. Η κορινθιακή σταφίδα αποτελεί περίπου το 3% της σταφίδας σε παγκόσμιο επίπεδο με την Ελλάδα να παράγει τουλάχιστον το 80% της κορινθιακής σταφίδας. [29]

Σε πιο πρόσφατα και πιο αναλυτικά δεδομένα από τον ίδιο φορέα (INC) μπορούμε να βρούμε την παγκόσμια παραγωγή των σημαντικότερων ξηρών φρούτων εκφρασμένη σε τόνους, για τις χρονιές 2009 – 2014 στο Διάγραμμα 1 [30]. Θα δούμε ότι τα κυριότερα ξηρά φρούτα σε παραγωγή και κατά φθίνουσα σειρά είναι οι σταφίδες, οι χουρμάδες, τα δαμάσκηνα, τα σύκα και τα βερίκοκα. Μάλιστα οι σταφίδες ξεπερνάνε κατά πολύ τους χουρμάδες σε παραγωγή, δεδομένο που έρχεται σε αντίθεση με τα παραπάνω ευρήματα, ενώ και τα υπόλοιπα φρούτα μάλλον έχουν σημαντικότερα ποσοστά από το 2 ή 1%. Πιθανότατα υπήρξε μια δραστική μείωση στην παραγωγή ξηρών χουρμάδων. Επίσης, συγκρίνοντας πάλι με τα παραπάνω στοιχεία βλέπουμε μια μεγάλη αύξηση στην παραγόμενη σταφίδα, που μπορεί να προήλθε είτε από την αύξηση καλλιέργειας σταφυλιού είτε από την αύξηση του ποσοστού ξήρανσης των σταφυλιών. Τα άλλα φρούτα παρέμειναν σχεδόν σταθερά.

World Dried Fruit Production, Metric Tons, 2009 vs 2014

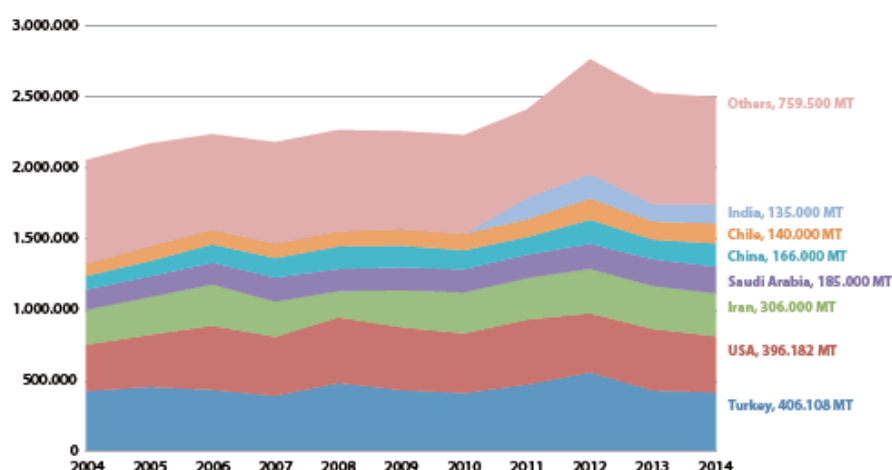


Διάγραμμα 1. Η παραγωγή

ξηρών φρούτων εκφρασμένη σε τόνους κατά τις χρονιές 2009 – 2014. [30]

Επίσης μπορούμε να δούμε τις κύριες χώρες παραγωγούς ξηρών φρούτων στο Διάγραμμα 2. [30]. Τα φρούτα παρουσιάζονται όλα μαζί εκφρασμένα σε τόνους ενώ φαίνεται η διαφοροποίηση μεταξύ των ετών 2004 – 2014. Φαίνεται ότι οι βασικές χώρες παραγωγοί με φνήνουσα σειρά είναι η Τουρκία, οι ΗΠΑ, το Ιράν, η Σαοδική Αραβία, η Κίνα, η Χιλή και η Ινδία. Επίσης βλέπουμε ότι η παραγωγή ξηρών φρούτων από χώρες που δεν αναγράφεται είναι πολύ σημαντική, 759.000 τόνοι έναντι των 406.108 τόνων που έχει η πρώτη Τουρκία. Επίσης βλέπουμε ότι μάλλον οι χώρες γύρω από την Μεσοποταμία και την Μεσόγειο, όπου παραδοσιακά παράγονταν τα ξηρά φρούτα, παράγουν ακόμα σημαντική ποσότητα για την παγκόσμια αγορά.

World Dried Fruit Production, Metric Tons



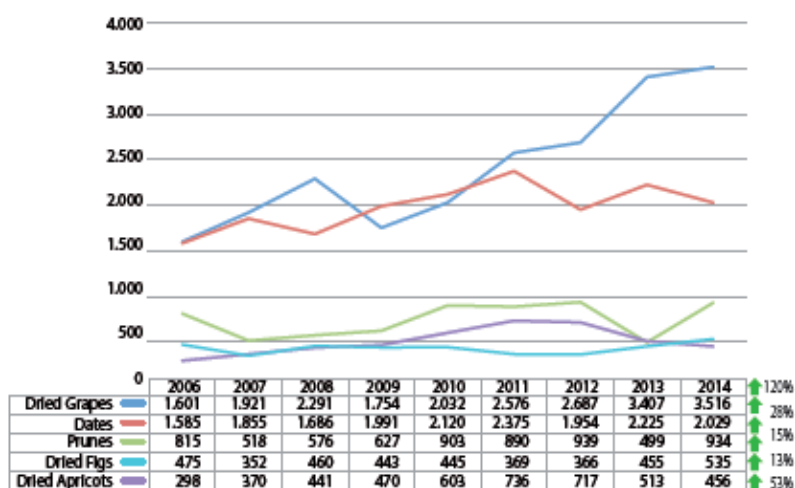
Διάγραμμα 2. Η παραγωγή

ξηρών φρούτων σε τόνους, ανά χώρα κατά τις χρονιές 2004 – 2014 [30]

Τέλος, μπορούμε να δούμε την αξία της παγκόσμιας παραγωγής του κάθε ξηρού φρούτου ξεχωριστά, εκφρασμένη σε εκατομύρια δολάρια ΗΠΑ, και την μεταβολή της ανάμεσα στις

χρονιές 2006 – 2014 στο Διάγραμμα 3 [30]. Σε αυτό το γράφιμα βλέπουμε ότι συνολικά η αξία των παραγόμενων φρούτων αυξάνει σημαντικά με το πέρας των χρόνων, ενώ η αύξηση προέρχεται από όλα τα κύρια φρούτα. Επίσης βλέπουμε ότι η σταφίδα καταγράφει εντυπωσιακή αύξηση της αξίας της. Οι αυξήσεις συνολικά ή του κάθε φρούτου ξεχωριστά μπορεί να οφείλονται στην αύξηση είτε της παραγόμενης ποσότητας ξηρού φρούτου, είτε της τιμής του ξηρού φρούτου. Τέλος βλέπουμε ότι η σειρά των φρούτων εκφρασμένα σε χρηματική αξία είναι ταυτόσημη με τη σειρά των φρούτων εκφρασμένη σε παραγόμενη ποσότητα. Αυτό καταδικνείει ότι τα διαφορετικά αποξηραμένα φρούτα έχουν παρόμοια τιμή και ότι οικονομοτεχνικά θα μπορούσαν να παρουσιάζονται σαν μια ενιαία ομάδα προϊόντων, δηλαδή τα «ξηρά φρούτα».

Dried Fruit Supply Value, Million USD, 2006-2014



Διάγραμμα 3. Η αξία της παραγωγής των πιο δημοφιλών ξηρών φρούτων κατά τις χρονιές 2008 - 2014 [31]

Βιοπροσβασιμότητα φαινολικών ενώσεων

Ορισμοί

Βιοπροσβασιμότητα

Ως βιοπροσβασιμότητα (bioaccessibility) ενός θρεπτικού συστατικού ορίζεται το ποσό αυτού που μπορεί να βρεθεί ελεύθερο στο έντερο, αποδεσμευμένο από τον βλωμό της τροφής, και είναι πιθανό να απορροφηθεί από τον εντερικό βλεννογόνο ή να ασκήσει οποιαδήποτε ευεργετική δράση.

Οι φαινολικές ενώσεις των τροφίμων είναι συνήθως ισχυρά συνδεδεμένες με άλλα θρεπτικά συστατικά, καθώς βρίσκονται σε μέρη των κυτταρικών δομών. Μόνο η ποσότητα των φαινολικών ενώσεων που κατά την πέψη του τροφίμου θα αποσπαστούν από τον βλωμό της τροφής προς πέψη, λόγω της δράσης των πεπτικών ενζύμων (κυρίως στο λεπτό έντερο) και της

δράσης της εντερικής μικροχλωρίδας (κυρίως στο παχύ έντερο) είναι πιθανό να είναι βιοδιαθέσιμη. Το ποσό των φαινολικών ενώσεων των τροφίμων που είναι τελικά βιοπροσβάσιμες μπορεί να εμφανίζει σημαντικές ποσοτικές διαφορές, αλλά και διαφορά στο είδος τους, συγκρινόμενες με τις συνολικές φαινολικές ενώσεις του τροφίμου. Σε γενικές γραμμές μικρό ποσοστό φαινολικών ενώσεων από τα τρόφιμα είναι βιοδιαθέσιμο, αλλά αυτό θα αναλυθεί παρακάτω. [32]

Βιοδραστικότητα

Ο όρος βιοδραστικότητα (bioactivity) περιγράφει το σύνολο των μεταβολικών διεργασιών και δράσεων ενός θρεπτικού συστατικού μετά την απορρόφησή του. Μεταξύ άλλων η βιοδραστικότητα εμπερικλείει την μεταφορά του θρεπτικού συστατικού στο κύτταρο στόχο, πιθανές μεταβολικές τροποποιήσεις του, τις αντιδράσεις με τα βιομόρια που προκαλεί, τον σχηματισμό βιοδεικτών και τελικά την φυσιολογική απόκριση που επιφέρει. [33]

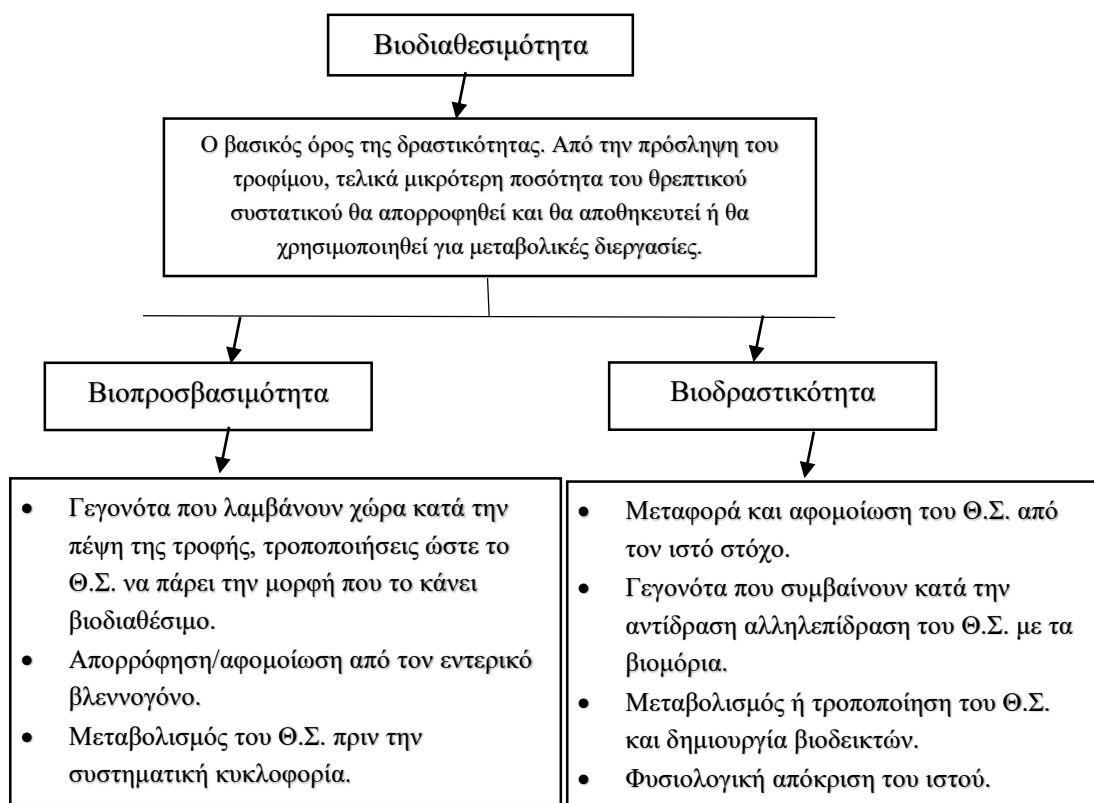
Βιοδιαθεσιμότητα

Ως βιοδιαθεσιμότητα (bioavailability) ενός θρεπτικού συστατικού ορίζουμε το μέρος αυτού που απορροφάτε από τον εντερικό βλεννογόνο, έναντι της συνολικής ποσότητας του θρεπτικού συστατικού στην τροφή, και μπορεί να ασκήσει βιολογική δράση ή πιο απλά, το μέρος του συγκεκριμένου θρεπτικού συστατικού από ένα συγκεκριμένο τρόφιμο το οποίο τελικά θα δράσει στον οργανισμό.

Ο όρος της βιοδιαθεσιμότητας ενός θρεπτικού συστατικού είναι απαραίτητος καθώς αυτή προϋποθέτει αφενός την επαρκή βιοπροσβασιμότητά του από το τρόφιμο, την επαρκή απορρόφηση του από τον εντερικό βλεννογόνο, καθώς και την ικανότητά του να δρα ευεργετικά στους ιστούς στόχους, αυτούσιο ή κάποιος μεταβολίτης του. Ο όρος βιοδιαθεσιμότητα είναι ο όρος που περιγράφει συνολικά την πορεία ενός θρεπτικού συστατικού -εν προκειμένω των φαινολικών ενώσεων- ενός τροφίμου καθώς εμπεριέχει τους όρους της βιοπροσβασιμότητας και της βιοδραστικότητας. Η σχέση μεταξύ των εννοιών περιγράφεται συνοπτικά στον Πίνακα 3. [33]

Σημαντικότητα της βιοπροσβασιμότητας για τις φαινολικές ενώσεις

Η βιοδιαθεσιμότητα, κατά συνέπια και η βιοπροσβασιμότητα, των μικροθρεπτικών συστατικών και των βιοδραστικών μορίων (όπως οι φαινολικές ενώσεις) στα φρούτα και τα λαχανικά αποτελεί στις μέρες μας ένα σημαντικότατο πεδίο έρευνας για τις επιστήμες των τροφίμων και της διατροφής. Ο σκοπός της μελέτης της βιοπροσβασιμότητας και βιοδιαθεσιμότητας των μικροθρεπτικών συστατικών είναι να προσδιοριστεί η πραγματική ευεργετική δράση τους, όταν προέρχονται από τα τρόφιμα που είναι φυσικές πηγές αυτών. [34]



Πίνακας 3.

[33] Οι όροι βιοδιαθεσιμότητα, βιοπροσβασιμότητα, βιοδραστικότητα και η μεταξύ τους σχέση.

Πιο συγκεκριμένα, η έρευνα σχετικά με τις φαινολικές ενώσεις και τα τρόφιμα που αποτελούν φυσικές πηγές τους γίνεται με τους εξής τρόπους. Αρχικά, με βάση μελέτες παρατήρησης και μεγάλες προοπτικές μελέτες παρέμβασης βρέθηκε ότι η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών σε σημαντική ποσότητα, προάγει την υγεία προλαμβάνοντας πληθώρα χρόνιων νοσημάτων. [35] Στην συνέχεια ερευνήθηκαν τα φρούτα και τα λαχανικά ώστε να βρεθούν τα θρεπτικά συστατικά που είναι υπεύθυνα για αυτή την ευεργετική δράση. Μάλιστα, παλαιότερα θεωρούνταν οι φυτικές ίνες και οι βιταμίνες, κυρίως οι C, E και το φυλικό οξύ, που περιέχονται στα φρούτα ότι ασκούν αυτή την ευεργετική δράση. Σύγχρονα ερευνητικά δεδομένα τείνουν να ανατρέψουν αυτόν τον ισχυρισμό καθώς φαίνεται πλέον ότι τα οφέλη στην υγεία και η συνολική αντιοξειδωτική δράση οφείλονται κατά κύριο λόγο στα φαινολικά συστατικά και άλλα αντιοξειδωτικά φυτοχημικά. [36] Συνεπώς, η μελέτη της βιοπροσβασιμότητας των φαινολικών ενώσεων των φρούτων και των υπόλοιπων πηγών τους προσφέρει απαραίτητη γνώση ώστε να μεταβούμε από την ύπαρξη τους στα τρόφιμα στα οφέλη για την υγεία του ανθρώπου. [34]

Οι φαινολικές ενώσεις, όπως και τα περισσότερα μικροθρεπτικά συστατικά δεν απορροφώνται στοιχειομετρικά από τον οργανισμό. Μάλιστα, η ποσότητα φαινολικών ενώσεων που είναι διαθέσιμη προς χρήση στον οργανισμό είναι σχετικά μικρή και διαφέρει σημαντικά ανάλογα με την χημική δομή τους. Επίσης, το ποσοστό απορρόφησης των φαινολικών ενώσεων

παρουσιάζει μεγάλη διακύμανση ξεκινώντας από $< 0,1 \%$ για τις ανθοκυανίνες και φτάνοντας στο $30 - 50 \%$ για τις ισοφλαβόνες της σόγιας και το γαλλικό οξύ στα φρούτα. Το μεγαλύτερο ποσοστό ($75 - 99 \%$) των φαινολικών ενώσεων που προσλαμβάνονται δεν θα βρεθούν τελικά στα ούρα. Το γεγονός αυτό καταδεικνύει ότι είτε δεν απορροφήθηκαν κατά την πέψη είτε απορροφήθηκαν αλλά αποβλήθηκαν αμέσως από την χολή είτε ότι μεταβολίστηκαν από την εντερική μικροχλωρίδα ή κάποιον ιστό του σώματος. [34]

Υπάρχουν πολλοί και διαφορετικοί λόγοι ώστε να μην απορροφηθούν τελικά οι φαινολικές ενώσεις. Αρχικά, οι φαινολικές ενώσεις είναι γενικά ευαίσθητες στις ήπια αλκαλικές συνθήκες που επικρατούν στο λεπτό έντερο, οπότε σημαντική ποσότητα τους καταστρέφεται χωρίς να μπορέσει να είναι βιοπροσβάσιμη. Επίσης, υπάρχουν παράγοντες όπως η πρόσδεση των φαινολικών ενώσεων στις φυτικές ίνες και σε σάκχαρα αλλά και οι φυσικοχημικές ιδιότητες του βλωμού του τροφίμου που μειώνουν σημαντικά την βιοπροσβασιμότητα. [34]

Τα δεδομένα από τις μελέτες προσομοίωσης πέψης *in vitro* δείχνουν ότι η πέψη στα στάδια του στόματος και του στομάχου μάλλον δεν επιδρά στην σταθερότητα, άρα και την βιοπροσβασιμότητα, των φαινολικών ενώσεων. Αυτό διότι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των φαινολικών ενώσεων των τροφίμων και των πρωτεϊνών την πέψης (ένζυμα πέψης και πρωτεΐνες των επιθηλιακών κυττάρων) συμβαίνουν κυρίως κατά την εντερική φάση, όπου μειώνεται η βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών ενώσεων. [34]

Επίσης οι συνθήκες φύλαξης και επεξεργασίας ενός τροφίμου επιδρούν τόσο στην ποσότητα φαινολικών ενώσεων όσο και στην βιοδιαθεσιμότητα τους. Μάλιστα, ενώ η ποσότητα των φαινολικών ενώσεων μειώνεται ανάλογα με τον βαθμό επεξεργασίας κάποιες φορές η ποσότητα φαινολικών ενώσεων που είναι βιοπροσβάσιμη μπορεί να μην μειώνεται, ακόμα και να αυξάνεται. Και τα δύο αυτά φαινόμενα οφείλονται στο γεγονός ότι κατά την επεξεργασία του τροφίμου τα κυτταρικά τοιχώματα και γενικότερα οι κυτταρικές δομές καταστρέφονται μερικώς οπότε οι φαινολικές ενώσεις διαχέονται στον χώρο, γεγονός που τις κάνει πιο ευαίσθητες αλλά και πιο βιοπροσβάσιμες. [34]

Συνέπεια των παραπάνω είναι ότι τελικά οι φαινολικές ενώσεις που βρίσκονται στην δίαιτα ενός ανθρώπου πιθανότατα διαφέρουν σημαντικά από τα βιοδραστικά μόρια που τελικά υπάρχουν διαθέσιμα και απορροφώνται κατά την πέψη, τόσο σε ποσότητα αλλά και σε είδος (Manach and others 2005). Μάλιστα οι διαφορές αυτές μπορεί να προκύψουν από ετερόκλητους παράγοντες που όμως συνολικά μπορούν να ομαδοποιηθούν ως εξής : το τρόφιμο, το άτομο. Η μελέτη της βιοπροσβασιμότητας των φαινολικών ενώσεων και μάλιστα σε σταθερές *in vitro* συνθήκες, απομονώνοντας της διαφορετικότητα μεταξύ ατόμων, μπορεί να δώσει σαφείς και

ξεκάθαρες πληροφορίες σχετικά με όλους τους παράγοντες που αφορούν το τρόφιμο. Η μελέτη της βιοπροσβασιμότητας και βιοδιαθεσιμότητας μπορεί να αναδείξει με μεγαλύτερη πιστότητα τα τρόφιμα που αποτελούν πηγές φαινολικών ενώσεων. Ας μην ξεχνάμε ότι για να γίνει ο ισχυρισμός υγείας (health claim) ότι ένα τρόφιμο αποτελεί πηγή οποιουδήποτε συστατικού απαιτείται πλέον τόσο μια ικανή ποσότητα αυτού στο τρόφιμο όσο και μια υπολογίσιμη ποσότητα του θρεπτικού συστατικού να είναι βιοδιαθέσιμη. Είναι δηλαδή υποχρεωτική πλέον η μελέτη βιοπροσβασιμότητας και βιοδιαθεσιμότητας για αυτά τα τρόφιμα είτε φυσικές πηγές είτε λειτουργικά τρόφιμα. Ακόμα, με τέτοιες μελέτες μπορεί να διαλευκάνει το μέχρι σήμερα θολό τοπίο σχετικά με τις μεθόδους συντήρησης και επεξεργασίας των τροφίμων, καλλιέργειας και συνδυασμού τροφίμων. [12]

Παράγοντες που επηρεάζουν την βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών ενώσεων

Στην προηγούμενη ενότητα περιγράφηκε ο όρος βιοπροσβασιμότητα και έγινε μια προσπάθεια να αιτιολογηθεί η σημασία του όσων αφορά γενικά τα μικροθρεπτικά συστατικά αλλά και τις φαινολικές ενώσεις ειδικότερα. Φάνηκε λοιπόν ότι η περιγραφή μόνο της ποσότητας και του είδους των φαινολικών ενώσεων στο τρόφιμο δεν θα μπορούσαν να φανούν χρήσιμα, παρά μόνο ως αρχή της μελέτης του τροφίμου αυτού. Τελικά δείχθηκε ότι οι προσλαμβανόμενες φαινολικές ενώσεις από το τρόφιμο εξαρτώνται από τις αρχικές, ωστόσο κάποιοι παράγοντες που επηρεάζουν την βιοπροσβασιμότητα θα καθορίσουν τελικά το ποσό των βιοδιαθέσιμων φαινολικών ενώσεων και το κατά πόσο αυτές θα μοιάζουν δομικά με τις αρχικές. Γνωρίζουμε ότι η βιοπροσβασιμότητα και η τελική απορρόφηση των φαινολικών ενώσεων από τα τρόφιμα είναι μικρή. Παρακάτω θα αναλυθούν διεξοδικά οι παράγοντες που εμποδίζουν την βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών ενώσεων.

Είδος φαινολικών ενώσεων

Αρχικά, οι φαινολικές ενώσεις παρουσιάζουν μεγάλη διαφορετικότητα στην χημική τους δομή, το μοριακό βάρος και τις χημικές τους ιδιότητες. Αυτή η διαφορετικότητα μεταξύ των ομάδων των φαινολικών ενώσεων προκαλεί και περεταίρω διαφορές όπως της προσκόλληση σε σάκχαρα, σε φυτικές ίνες ή μορίων φαινολικών ενώσεων μεταξύ τους. Επίσης η αντοχή στις συνθήκες της πέψης διαφέρει άρδην μεταξύ φαινολικών ενώσεων διαφορετικής δομής. Συνεπώς η βιοπροσβασιμότητα που τελικά θα οδηγήσει και στην απορρόφηση των ενώσεων διαφέρει πολύ σημαντικά ανάμεσα στις διαφορετικές ομάδες φαινολικών ενώσεων.

Έχει βρεθεί πολύ μικρή βιοδιαθεσιμότητα, $< 0,1\%$ για τις περισσότερες ανθοκυανίνες, πιθανότατα λόγω της καταστροφής τους στο ελαφρά βασικό pH του εντέρου. Η βιοδιαθεσιμότητα της κερσετίνης των μήλου, του κρασιού και του κρεμμυδιού κυμαίνεται μεταξύ 1 με 5 %. Όσων

αφορά τις φλαβόνες (εσπεριδοειδή) και τις φλαβανόλες (κρασί, τσάι, κακάο) η βιοδιαθεσιμότητα κυμαίνεται μεταξύ 10 και 30 %. Τέλος, το γαλλικό οξύ του κρασιού, του τσαγιού και φρούτων και οι ισοφλαβόνες της σόγιας είναι βιοδιαθέσιμες σε ποσοστό 30 με 50 %. Τα ποσοστά βιοδιαθεσιμότητας εξαρτώνται στενά από τα αντίστοιχα της βιοπροσβασιμότητας. [37]

Προσκόλληση σε σάκχαρα

Στα τρόφιμα οι περισσότερες φαινολικές ενώσεις βρίσκονται συνήθως προσκολλημένες σε σάκχαρα. Εξάιρεση αποτελούν οι φλαβανόλες και οι υδατοδιαλυτές τανίνες και οι προανθοκυανιδίνες. Συνήθως η μικρή ποσότητα φαινολικών ενώσεων που δεν είναι προσκολλημένες σε σάκχαρα γίνονται άμεσα διαθέσιμες προς απορρόφηση κατά την πέψη. Αντίθετα οι προσκολλημένες σε σάκχαρα φαινολικές ενώσεις δεν είναι βιοπροσβάσιμες. Επίσης μη βιοπροσβάσιμες είναι οι πολυμερείς και οι εστεροποιημένες φαινολικές ενώσεις. Ωστόσο, κατά την πέψη, ποσότητα αυτών των φαινολικών ενώσεων μπορεί να γίνει βιοπροσβάσιμη με την προϋπόθεση να αποδεσμευτεί από τα σάκχαρα που ήταν αρχικά προσδεμένα. [37]

Οι γλυκοζιτικές μορφές των φαινολικών ενώσεων μπορεί να είναι O- ή C- δομής. Τα σάκχαρα που εμφανίζονται είναι κυρίως η γλυκόζη, ακολουθούμενη από την γαλακτόζη, την ραμνόζη, την ξυλόζη και την αραβινόζη. Σπάνια απαντώνται η μαννόζη, η φρουκτόζη, το γλυκουρονικό και το γαλακτουρονικό οξύ.

Οι φαινολικές ενώσεις που είναι προσδεμένες με γλυκόζη, με γαλακτόζη ή με ξυλόζη μπορούν να είναι βιοπροσβάσιμες στο λεπτό έντερο καθώς εκεί υπάρχουν τα κατάλληλα υδρολυτικά ένζυμα που μπορούν να απελευθερώσουν την φαινολική ένωση από τον γλυκοζίτη της. Τα ένζυμα αυτά προέρχονται από το πάγκρεας και είναι η β-γλυκοζιδάση, η λακτάση, και η πυλωρική υδρολάση αντίστοιχα. Τελικά μερική από την ποσότητα των γλυκοζυλιωμένων φαινολικών ενώσεων θα γίνει βιοδιαθέσιμη καθώς τα ένζυμα αυτά δεν θα έρθουν σε επαφή με το σύνολο των φαινολικών μορίων. [39]

Από την άλλη, για κάποιες ομάδες φαινολικών ενώσεων δεν υπάρχει παγκρεατικό ένζυμο που να υδρολύει την ένωση με το σάκχαρο. Αυτές είναι : οι φαινολικές ενώσεις προσδεμένες σε ραμνόζη, τα φλαβονοειδή που συνδέονται με σάκχαρα με β- γλυκοζιτικό δεσμό και άλλες φαινολικές ενώσεις. Σε αυτές τις περιπτώσεις, αλλά και για τις υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις που δεν υδρολύθηκαν από τα παγκρεατικά ένζυμα ο μόνος τρόπος ποσότητα τους να γίνει βιοπροσβάσιμη είναι μέσω του μεταβολισμού της εντερικής μικροχλωρίδας. Τα βακτηριακά κύτταρα διαθέτουν κατάλληλα ένζυμα ώστε να υδρολύσουν αυτούς τους γλυκοζιτικούς δεσμούς. Έτσι, μικρή ποσότητα ακόμα και από αυτές τις ενώσεις γίνεται βιοπροσβάσιμη και μπορεί να απορροφηθεί από το παχύ έντερο, το οποίο βέβαια έχει μικρή δυνατότητα απορρόφησης. Ταυτόχρονα, ποσότητα φαινολικών ενώσεων που τελικά δεν θα απορροφηθεί ασκεί

αντιοξειδωτική δράση στο γαστρεντερικό σύστημα, ασκώντας ευεργετικά οφέλη στα κύτταρα του βλεννογόνου αλλά και στον πληθυσμό της εντερικής μικροχλωρίδας. [39]

Συμπερασματικά ο κανόνας είναι ότι οι γλυκοζιτικές μορφές των φαινολικών ενώσεων είναι λιγότερο βιοπροσβάσιμες και απορροφούνται δυσκολότερα και σε σημαντικά μικρότερο βαθμό από τις ελεύθερες μορφές. Ωστόσο υπάρχουν κάποιες εξαιρέσεις. Ενώ είχε φανεί από μελέτες ότι οι μη γλυκοζιτικές ισοφλαβόνες όπως η κερσετίνη απορροφούνται σε μεγάλο βαθμό αρχίζοντας από τον στόμαχο, φάνηκε με μελέτη των Hollman και Katan ότι και η γλυκοζιτική κερσετίνη κρεμμυδιού μπορεί να απορροφηθεί εξίσου καλά. Προφανώς η γλυκοζιτική μορφή απορροφάτε κυρίως στο έντερο. Τέλος, μια σημαντικότερη εξαίρεση είναι οι ανθοκυανίνες. Οι ανθοκυανίνες απορροφούνται κυρίως στην γλυκοζιτική τους μορφή, καθώς αυτή έχει βρεθεί σε μελέτες βιολογικών δειγμάτων. Κάποιοι συντάκτες υποθέτουν ότι υπάρχει κάποιος εξειδικευμένος τρόπος απορρόφησης των ανθοκυανινών στον στόμαχο. [39]

Υπαρξη φυτικών ινών στο τρόφιμο - πηγή

Είναι γνωστό ότι οι φυτικές ίνες μειώνουν σε κάποιο βαθμό την βιοδιαθεσιμότητα μακροθρεπτικών συστατικών όπως το λίπος αλλά κυρίως μικροθρεπτικών συστατικών όπως τα μέταλλα, τα ιχνοστοιχεία και τα αντιοξειδωτικά. Το ίδιο ισχύει σε σημαντικό βαθμό και για τις φαινολικές ενώσεις.

Οι κυριότεροι τρόποι με τους οποίους οι ίνες δυσκολεύουν την βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών ενώσεων είναι : η παγίδευση ποσότητας φαινολικών ενώσεων στις δομές κυτταρίνης, κυρίως των φαινολικών ενώσεων που κατά την ανάπτυξη του φυτικού ιστού βρέθηκαν συνδεδεμένες με τις φυτικές ίνες και η αύξηση του ιξώδους του βλωμού η οποία μειώνει την ικανότητα ανάδευσης του μέσω των περισταλτικών κινήσεων του γαστρεντερικού. Η μειωμένη ανάδευση, εμποδίζει τα παγκρεατικά ένζυμα να φτάσουν στο σύνολο των φαινολικών ενώσεων και να τις αποδεσμεύσουν από τις ίνες. Δευτερευόντως, οι ίνες μπορούν να δεσμεύσουν ποσότητες χολικών αλάτων και παγκρεατικών ενζύμων, γεγονός που μειώνει σε κάποιο βαθμό την ικανότητα πέψης της τροφής και απορρόφησης των φαινολικών ενώσεων. [40]

Ο ρυθμός αποδέσμευσης τους είναι αντιστρόφως ανάλογος με το μοριακό τους μέγεθος και ανάλογος της διαλυτότητας τους στο πεπτικό διάλυμα. Επίσης ο ρυθμός εξαρτάται από : το αν οι ίνες είναι διαλυμένες στο πεπτικό υγρό ή βρίσκονται σε στερεή μορφή, την δομή του σωματιδίου ινών (αν δηλαδή μπορεί να συμπιεστεί ώστε να αποδεσμευτούν οι φαινολικές ενώσεις) και από τις ιδιότητες επιφανείας του σωματιδίου ινών.

Τα στερεά τρόφιμα που περιέχουν φαινολικές ενώσεις έχουν επίσης σημαντική ποσότητα φυτικών ινών (φρούτα, λαχανικά, δημητριακά). Έτσι μεγάλη ποσότητα φαινολικών ενώσεων είναι

αρχικά παγιδευμένη στις ίνες και πρέπει να υδρολυθεί από τα παγκρεατικά ένζυμα στο λεπτό έντερο ώστε να είναι βιοπροσβάσιμη. Τελικά, η σημαντικότερη ποσότητα από τις αρχικά παγιδευμένες στις ίνες φαινολικές ενώσεις δεν θα μπορέσει να αποσπαστεί και θα καταλήξει στο παχύ έντερο. Η συνθήκη αυτή δεν ισχύει για τα υγρά τρόφιμα που είναι πηγές φαινολικών ενώσεων όπως το κρασί, ο καφές, το τσάι και εν μέρη οι χυμοί. Σε αυτές τις περιπτώσεις οι φαινολικές ενώσεις δεν είναι παγιδευμένες σε φυτικές ίνες και έτσι δεν μειώνεται η απορρόφηση τους από αυτές. [40]

Το σημαντικότερο ποσοστό παγιδευμένων φαινολικών ενώσεων στις ίνες, θα καταλήξει στο παχύ έντερο, μην έχοντας αποσπαστεί και γίνει βιοπροσβάσιμο από τα παγκρεατικά ένζυμα. Εκεί μικρή ποσότητα αυτών των φαινολικών ενώσεων μπορεί να γίνει βιοπροσβάσιμη λόγω του μεταβολισμού της εντερικής μικροχλωρίδας. Είναι γνωστό ότι ποσότητα ινών μεταβολίζεται από τα βακτηριακά κύτταρα που διαθέτουν τα κατάλληλα ένζυμα, παράγοντας μάλιστα μεταβολίτες που απορροφούνται από το παχύ έντερο όπως τα βραχείας αλύσου λιπαρά οξέα. Στο βαθμό που καταβολίζονται ίνες, μπορεί να γίνει βιοπροσβάσιμη η ποσότητα φαινολικών ενώσεων που έχουν παγιδευμένες και να απορροφηθεί αυτούσια ή να μεταβολιστεί και αυτή από τα βακτηριακά κύτταρα.

Σε κάθε περίπτωση, παρά το γεγονός ότι υπάρχουν τρόποι αποδέσμευσης από τις ίνες, τελικά μικρή ποσότητα από τις παγιδευμένες ίνες θα καταστεί βιοδιαθέσιμη. Μάλιστα η ύπαρξη φυτικών ινών στα περισσότερα τρόφιμα – πηγές φαινολικών ενώσεων αποτελεί τον πιο καθοριστικό παράγοντα μείωσης της βιοπροσβασιμότητας των φαινολικών ενώσεων συνολικά στην διατροφή. Ταυτόχρονα, ο παράγοντας φυτικές ίνες δίνει ένα σημαντικό πλεονέκτημα στις υγρές πηγές φαινολικών ενώσεων, έναντι των στερεών τροφίμων ως προς την βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών τους ενώσεων. [40]

Μελέτες βιοπροσβασιμότητας φαινολικών ενώσεων

Η μελέτη της βιοπροσβασιμότητας όσων αφορά όλα τα μικροθρεπτικά συστατικά είναι πλέον μείζονος σημασίας για τις επιστήμες των τροφίμων και της διατροφής. Συγκεκριμένα για τις φαινολικές ενώσεις, τα τελευταία χρόνια γίνεται ένα πλήθος μελετών ώστε να προσδιοριστεί η βιοπροσβασιμότητά τους κάθε φορά σε ένα διαφορετικής φύσης δείγμα.

Οι μελέτες βιοπροσβασιμότητας είναι κατά βάση μελέτες *in vitro* προσομοίωσης γαστρικής πέψης. Σε αυτές τις μελέτες, διαφόρων ειδών δείγματα υποβάλλονται σε ένα συγκεκριμένο κάθε φορά πρωτόκολλο το οποίο σκοπό έχει να προσομοιάζει στην πέψη σε επίπεδο στόματος, στομάχου και εντέρου κατά σειρά. Κατά την διάρκεια της διαδικασίας αυτής

συλλέγονται δείγματα μετά το πέρας κάθε φάσης ώστε να μετρηθούν οι ολικές βιοπροσβάσιμες φαινολικές ενώσεις ή και συγκεκριμένες ομάδες φαινολικών ενώσεων. Έτσι μπορούν να ληφθούν τιμές για την ποσότητα φαινολικών ενώσεων που τελικά θα απορροφηθεί από το έντερο, αλλά και θα είναι βιοπροσβάσιμη σε όλες τις προηγούμενες φάσεις. [34]

Οι τιμές αυτές μπορούν να συγκριθούν μεταξύ τους, αλλά και με την αρχική (συνολική) ποσότητα φαινολικών ενώσεων που έχει το νωπό δείγμα. Επίσης, σημαντικά συμπεράσματα μπορούν να εξαχθούν, από την σύγκριση συγκεκριμένων τιμών μεταξύ διαφορετικών δειγμάτων, ώστε να διερευνηθεί τελικά ποια από αυτά είναι καλύτερες πηγές βιοπροσβάσιμων φαινολικών ενώσεων. [34] Παρακάτω θα δούμε επιγραμματικά κάποια αποτελέσματα μελετών βιοπροσβασιμότητας φαινολικών ενώσεων σε φρούτα, ενδεικτικά για τις πιθανές χρήσεις της *in vitro* μελέτης βιοπροσβασιμότητας. Για χάρη συντομίας παρουσιάζονται μόνο τα αποτελέσματα της ανάλυσης ολικών φαινολικών ενώσεων.

In vitro μελέτες σε φρούτα

1) Σε μελέτη σε νωπά σταφύλια, οι βιοπροσβάσιμες φαινολικές ενώσεις μετά την διαδικασία της μάσησης ήταν 34,88 mg κατεχίνης/ 100 g σταφυλιού, ποσοστό 49 % των αρχικών φαινολικών του δείγματος. Τα ποσοστά βιοπροσβάσιμων των φλαβονοειδών και των ανθοκυανινών ήταν 27,2 % και 19,2 % επί των αρχικών ποσοτήτων. Κατά την γαστρική πέψη η βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών αυξήθηκε και μάλιστα, γραμμικά κατά τον χρόνο της επώασης. Στην αρχή της εντερικής φάσης η βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών μειώθηκε αρκετά λόγω της καταστροφής τους από το ήπια αλκαλικό pH. Στην συνέχεια αυξήθηκε πάλι σε κάποιο βαθμό, λόγω των παγκρεατικών υδρολυτικών ενζύμων. Τελικά, οι ολικές φαινολικές ενώσεις μετά την πέψη ανήλθαν σε 43,76 mg κατεχίνης/ 100 g δείγματος, ποσοστό 62,4 % επί των αρχικών. Όσον αφορά τα φλαβονοειδή και τις ανθοκυανίνες οι τιμές ήταν 18,14 mg κατεχίνης και 1,28 mg κυανιδίνης / 100 g δείγματος, που αντανakλούν σε ποσοστά 56,1 % και 7,6 % επί των αρχικών. [41]

2) Σε μελέτη νωπού blueberry, οι αρχικές τιμές ολικών φαινολικών και ολικών ανθοκυανινών ήταν 2,14 mg GAE/ g φρούτου και 1,48 mg κυανιδίνης/ g φρούτου. Μετά την γαστρική φάση η βιοπροσβασιμότητα τους ανήλθε στα εντυπωσιακά ποσοστά του 94% και του 97 % αντίστοιχα (2 mg GAE και 1,46 mg κυανιδίνης αντίστοιχα). Μετά την παγκρεατική φάση ωστόσο τα ποσοστά μειώθηκαν σημαντικά σε 49 % και 17 % αντίστοιχα (1,05 mg GAE και 0,23 mg κυανιδίνης), αντίστοιχα. Μετά και τον εικονικό μεταβολισμό της μικροχλωρίδας, η τελική βιοπροσβασιμότητα ήταν 42% και 1,5% επί των αρχικών ποσοτήτων (0,91 mg GAE και 0,023 mg κυανιδίνης), αντίστοιχα. [42]

3) Σε μελέτη που σύγκρινε το νωπό μαύρο καρότο με την μαρμελάδα και το γλυκό κουταλιού του, παρασκευασμένα με ζάχαρή ή με τεχνητό γλυκαντικό βρέθηκε ότι η αρχική συγκέντρωση

φαινολικών στο φρούτο ήταν 537 ± 57 mg GAE/100 g φρούτου, η μεγαλύτερη που είχε βρεθεί μέχρι τότε. Η παρασκευή της μαρμελάδας και του γλυκού μείωσε την αρχική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων κατά 89.2–90.5%. Η παρατηρούμενη μείωση συμβαδίζει με δεδομένα από μαρμελάδες φράουλας, κερασιού, βερίκοκου, σύκου και πορτοκαλιού που το ποσοστό μείωσης ήταν 68.6–93.2%. Επίσης η φύλαξη των προϊόντων στο ψυγείο ή σε θερμοκρασία δωματίου μείωσε τις αρχικές φαινολικές τους ενώσεις επιπλέον κατά 21.0–42.5% και 26.4–48.0% αντίστοιχα. Μετά την γαστρική πέψη τα βιοπροσβάσιμα φαινολικά ήταν 51.7–68.2% λιγότερα των αρχικών, ποσοστό μείωσης που συμβαδίζει με ευρήματα άλλων μελετών. Μετά την παγκρεατική φάση τα αποροφούμενα φαινολικά (IN) ήταν μεταξύ 4.9–17.5% επί των αρχικών. Μάλιστα για την μαρμελάδα και το γλυκό το ποσοστό ήταν κάπως υψηλότερο (7.2–12.6%) ξεκινώντας όμως από σημαντικά μικρότερη ποσότητα φαινολικών έναντι του νωπού φρούτου. Τα μη αποροφούμενα βιοπροσβάσιμα φαινολικά ήταν 33.8–52.3% επί των αρχικών, ποσό μεγαλύτερο από αυτό της γαστρικής φάσης κατά 0.7–9.5%. [43]

4) Σε μελέτη που σύγκρινε τις φαινολικές ενώσεις 33 φρούτων στην Κίνα η αρχική συγκέντρωση φαινολικών των φρούτων ήταν από 10.32 ± 1.43 έως 495.12 ± 0.91 mg GAE/100 g φρούτου, φάνηκε δηλαδή ότι το φτωχότερο σε φαινολικά φρούτο είχε 47,97 φορές λιγότερα από το πλουσιότερο. Τα πλουσιότερα σε φαινολικά φρούτα ήταν το δαμάσκηνο sanhua, το πράσινο δαμάσκηνο, το redbayberry και το κίτρο, ενώ το φτωχότερο σε φαινολικά ήταν το καρπούζι. Μετά την γαστρική πέψη τα βιοπροσβάσιμα φαινολικά αυξήθηκαν στατιστικά σημαντικά σε 8 φρούτα. Η σημαντικότερη αύξηση υπήρξε στο αχλάδι όπου από 15.20 ± 1.08 τα βιοπροσβάσιμα φαινολικά έφτασαν 140.67 ± 1.19 mg GAE/100 g. φρούτου. Μετά την παγκρεατική φάση τα βιοπροσβάσιμα φαινολικά 25 φρούτων ήταν αυξημένα (στατιστικά σημαντικά) συγκριτικά με τα αρχικά φαινολικά ενώ 8 φρούτων ήταν μειωμένα. Η διαφορετικότητα αυτή οφείλεται στην διαφορετική σύσταση σε φαινολικά των φρούτων και στην διαφορετική αντοχή/απελευθέρωση αυτών κατά την πέψη. [44]

5) Σε μελέτη που σύγκρινε 7 διαφορετικά προϊόντα από νωπή τομάτα (τομάτα, προϊόντα χωρίς θερμική επεξεργασία και προϊόντα με θερμική επεξεργασία) φάνηκε ότι τα συνολικά φαινολικά αυξήθηκαν 4,5 και 6,2 φορές κατά την διαδικασία παραγωγής πάστας και της ξήρανσης της τομάτας αντίστοιχα, ωστόσο η αύξηση αυτή προήλθε λόγω της αφυδάτωσης των προϊόντων. Επι ξηρού, επήλθε τελικά μείωση 25% και 43% αντίστοιχα. Ο χυμός και η ψιλοκομμένη τομάτα είχαν σημαντικά χαμηλότερα αρχικά φαινολικά από την τομάτα, με μείωση 81% και 83% αντίστοιχα. Μετά την γαστρική φάση βρέθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση 0,14 με 4 φορές επί του αρχικού για όλα τα δείγματα εκτός από την πάστα τομάτας και την λιαστή τομάτα. Τα ευρήματα αυτά συμβαδίζουν με αυτά του Wootton-Beard και των συνεργατών του σε χυμούς φρούτων και λαχανικών (και τομάτας). Συμβαδίζοντας με στα αρχικά δείγματα, η πάστα τομάτας και η λιαστή τομάτα είχαν 3,3 και 4,2 φορές παραπάνω βιοπροσβάσιμα φαινολικά μετά την γαστρική πέψη από το νωπό φρούτο. Μετά την παγκρεατική φάση, τα αποροφούμενα φαινολικά (IN) κυμαίνονταν μεταξύ 12 – 96 % των αρχικών

φαινολικών. Τα απορροφούμενα φαινολικά της πάστας τομάτας και της λιαστής τομάτας ήταν επίσης αυξημένα 2,3 και 2 φορές επί αυτών της νωπής τομάτας. Η αυξημένη βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών σε αυτά τα προϊόντα μάλλον οφείλεται στην θερμική επεξεργασία, κατά την οποία σημαντική ποσότητα φαινολικών απελευθερώθηκε από τους ιστούς του τροφίμου. Επίσης, τα μη απορροφούμενα φαινολικά (OUT) της πάστας και της λιαστής τομάτας ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένα συγκριτικά με της νωπής τομάτας. Παρά την αυξημένη βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών της πάστας και της λιαστής τομάτας οι συνολικές ποσότητες των βιοπροσβάσιμων φαινολικών επί ξηρού όγκου ήταν κατά 29%, 17% και 12% μικρότερη από της νωπής τομάτας σε κάθε μέτρηση αντίστοιχα. Αντίθετα υπόλοιπα προϊόντα (χωρίς θερμική επεξεργασία) έδωσαν αυξημένη ποσότητα βιοπροσβάσιμων φαινολικών σε όλα τα στάδια, κατά 35 – 96 % συγκριτικά με την νωπή τομάτα. [45]

6) Σε μελέτη που έγινε σε δύο ποικιλίες σύκων (κίτρινα και μωβ) τα οποία μετρήθηκαν νωπά, ξεχωριστά η σάρκα και η φλούδα καθώς και αποξηραμένα βρέθηκαν τα εξής. Να σημειωθεί ότι η μελέτη δεν μετρήσε ολικά φαινολικά, οπότε τα παρακάτω ευρήματα αφορούν την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα με την μέθοδο ABTS. Μετά την γαστρική φάση δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές για τα δείγματα των κίτρινων σύκων, συγκριτικά με τις αρχικές τιμές. Αντίθετα, όλα τα δείγματα μωβ σύκων εκτός από το αποξηραμένο είχαν στατιστικά σημαντική μείωση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας. Μετά την παγκρεατική φάση τα απορροφούμενα φαινολικά (IN) του νωπού κίτρινου σύκου και του νωπού μωβ αντιστοιχούσαν στο 26% και 17 % της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας αντίστοιχα. Συγκριτικά με τα αντίστοιχα νωπά η ποσότητα απορροφημένων φαινολικών των ξηρών μωβ σύκων ήταν 5 % μικρότερη και των ξηρών κίτρινων σύκων 38 % μεγαλύτερη. Και στις δύο ποικιλίες η τελική βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών ήταν μεγαλύτερη στην σάρκα έναντι της φλούδας. Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του μη απορροφούμενου τμήματος (OUT) των κίτρινων σύκων ήταν αυξημένη συγκριτικά με το αρχικό δείγμα. [46]

Μοντέλα μελετών βιοπροσβασιμότητας

Οι μέθοδοι με τις οποίες μπορεί να προσδιοριστεί η βιοπροσβασιμότητα και η βιοδιαθεσιμότητα ενός θρεπτικού συστατικού μπορεί να είναι είτε *in vivo* είτε *in vitro*. Οι *in vivo* μέθοδοι περιλαμβάνουν τα πρωτόκολλα με ζωικά μοντέλα ή με ανθρώπους εθελοντές. Αντίθετα οι *in vitro* μέθοδοι αφορούν την προσομοίωση της γαστρικής πέψης στο εργαστήριο.

In vivo πειραματικά μοντέλα

Σε αυτά τα μοντέλα μετράται η αντίδραση του ζώντα οργανισμού στην κατανάλωση ενός συγκεκριμένου θρεπτικού συστατικού σε γνωστή δόση η οποία συγκρίνεται με την αντίδραση του

ίδιου οργανισμού στην κατανάλωση του “άγνωστου” τροφίμου που μελετάται. Οι ζώντες οργανισμοί μπορεί να είναι είτε ζώα εργαστηρίου είτε άνθρωποι εθελοντές.

Συνήθως, μετά την κατανάλωση συγκεκριμένης δόσης ενός θεραπευτικού συστατικού ή ενός τροφίμου – που περιέχει την συγκεκριμένη δόση του θεραπευτικού συστατικού – παρακολουθούνται οι τυχόν αλλαγές στην συγκέντρωση του συστατικού, στο πλάσμα ή σε οποιοδήποτε άλλο βιολογικό υγρό ή ιστό, συναρτήσει του χρόνου. Ο προσδιορισμός της απορροφούμενης ποσότητας του θεραπευτικού συστατικού ή των μεταβολιτών του μπορεί να γίνει με δύο τρόπους, την μέτρηση συνολικού ισοζυγίου ή τον υπολογισμό της συγκέντρωσης του εν λόγω συστατικού στον ιστό στόχο.

Οι μετρήσεις ισοζυγίου προσδιορίζουν την απορροφούμενη ποσότητα του θεραπευτικού συστατικού αφαιρώντας από την γνωστή προσλαμβανόμενη ποσότητα του την αποβαλλόμενη ποσότητα από τον οργανισμό. Οι μετρήσεις συγκέντρωσης του συστατικού στους ιστούς απαιτούν την λήψη βιολογικών υγρών (στην συντριπτική πλειοψηφία αίματος) και την μέτρηση της συγκέντρωσης του θεραπευτικού συστατικού στον ορό. Εύκολα βγαίνει το συμπέρασμα ότι οι μελέτες ισοζυγίου είναι συγκριτικά ευκολότερες από τις μελέτες συγκέντρωσης στους ιστούς, οι οποίες όμως είναι πιο ακριβείς και έχουν πιο αξιοποιήσιμο αποτέλεσμα. [33]

Η μέτρηση της συγκέντρωσης του θεραπευτικού συστατικού στον ορό γίνεται σε συνάρτηση με το χρόνο και λαμβάνει συνήθως υπ’ όψη της μια ή περισσότερες από τις παρακάτω 3 παραμέτρους : Τον υπολογισμό του εμβαδού της επιφάνειας που ορίζεται από την καμπύλη της συγκέντρωσης του θεραπευτικού συστατικού συναρτήσει του χρόνου (area under the curve), την μέγιστη παρατηρούμενη συγκέντρωση του θεραπευτικού συστατικού και τον χρόνο κατά τον οποίο παρατηρείται η μέγιστη συγκέντρωση καθώς και τον χρόνο κατά τον οποίο η συγκέντρωση του θεραπευτικού συστατικού μηδενίζεται. Συμπληρωματική μέθοδος που χρησιμοποιείτε είναι η χρόνια μέτρηση της συγκέντρωσης του θεραπευτικού για αντίστοιχη τακτική κατανάλωση του προς ανάλυση τροφίμου. Τέλος, σημαντική μεταβλητή για αυτού του είδους τους υπολογισμούς είναι η αρχική τιμή της συγκέντρωσης του θεραπευτικού συστατικού στον ορό, πριν την κατανάλωση του τροφίμου. [34]

In vitro πειραματικά μοντέλα

Σε αυτά τα μοντέλα το προς εξέταση τρόφιμο υποβάλλεται σε προσομοίωση τις σειράς των γεγονότων και των φυσιολογικών διεργασιών κατά την διαδικασία της πέψης στο ανθρώπινο γαστρεντερικό σύστημα. Η προσομοίωση αυτή γίνεται στο εργαστήριο χρησιμοποιώντας αντίστοιχα εργαστηριακά αντιδραστήρια, διαλύματα, μηχανήματα, εξοπλισμό και τεχνικές. [34]

Τα *in vitro* μοντέλα που γίνονται στο εργαστήριο είναι γνωστά σαν μοντέλα προσομοίωσης γαστρεντερικής πέψης. Αυτό γιατί προσπαθούν να αναπαράγουν στο εργαστήριο τις συνθήκες που επικρατούν στο στόμα, στο στομάχι και στο λεπτό έντερο, στα σημεία δηλαδή όπου το εξεταζόμενο τρόφιμο υφίσταται φυσιολογικά την διαδικασία της πέψης. Η διαδικασία της προσομοίωσης πέψης του τροφίμου στα 3 αυτά σημεία περιλαμβάνει την μάσηση και την πέψη του τροφίμου και την απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών του.

Τα *in vitro* μοντέλα μπορεί να περιορίζονται μόνο στην προσομοίωση της πέψης οπότε να προσδιορίζουν μόνο την βιοπροσβασιμότητα του θρεπτικού συστατικού ή να αναπαράγουν και την διαδικασία της απορρόφησης, οπότε προσδιορίζουν συνολικά την βιοδιαθεσιμότητα. Η διαδικασία της πέψης προσομοιώνεται σε ελεγχόμενες συνθήκες με την χρήση εμπορικών σκευασμάτων πεπτικών ενζύμων (αμυλάση, πεψίνη, παγκρεατίνη) και η τελική διαδικασία της απορρόφησης γίνεται με χρήση κατάλληλης ημιπερατής μεμβράνης, συνήθως φτιαγμένης από πολωμένα καρκινικά κύτταρα ανθρώπινου παχέος εντέρου (CaCo-2 cells). [34]

Τα *in vitro* μοντέλα χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες : τα στατικά μοντέλα και τα δυναμικά μοντέλα. Κατά τα στατικά μοντέλα η διαδικασία της πέψης γίνεται με τρόπο που τα προϊόντα της πέψης δεν υφίστανται μέρος των βιοχημικών διαδικασιών της πέψης όπως ο καταβολισμός, οι ενυδατώσεις και οι ενώσεις με άλλα συστατικά. Αντίθετα, στα δυναμικά μοντέλα συμπεριλαμβάνονται οι φυσικοχημικές διεργασίες της πέψης με συνέπια να προσομοιάζει πιστότερα την βιολογική πέψη. Πιο συγκεκριμένα, κατά τα δυναμικά μοντέλα λαμβάνονται υπ' όψη οι φυσικές ιδιότητες του πεπτικού μείγματος οι οποίες και μεταβάλλονται κατά την πρόοδο της διαδικασίας. Οι φυσικές ιδιότητες του πεπτικού μείγματος που λαμβάνονται υπ' όψη στα δυναμικά μοντέλα είναι το μέγεθος των διαλυμένων σωματιδίων, το ιξώδες του διαλύματος, η ανάμειξη και η διάχυση των ουσιών καθώς και ο σχηματισμός κολλοειδών σωμάτων. [34]

Σε κάθε στάδιο της πέψης (μετά την διαδικασία της μάσησης στο στόμα, μετά την διαδικασία της πέψης στον στομάχο, μετά την διαδικασία της απορρόφησης στο έντερο) συλλέγεται δείγμα ώστε να γίνουν οι απαραίτητοι προσδιορισμοί. Το μετρούμενο μέγεθος είναι η συγκέντρωση του θρεπτικού συστατικού σε κάθε διάλυμα που συλλέγεται. Η μέτρηση συνήθως γίνεται με HPLC χρωματογραφία ή με φωτομετρική μέθοδο συγκεκριμένη για κάθε θρεπτικό συστατικό. Το μετρούμενο αποτέλεσμα μετά από κάθε φάση της πέψης δείχνει την βιοπροσβασιμότητα του θρεπτικού συστατικού από το προς μέτρηση τρόφιμο κατά αυτή την φάση (π.χ. βιοπροσβάσιμες ολικές φαινολικές ενώσεις στον στομάχο). Τέλος, αν έχει αναπαραχθεί η διαδικασία της απορρόφησης η συγκέντρωση του θρεπτικού συστατικού που απορροφήθηκε δείχνει την βιοδιαθεσιμότητα του συστατικού από το προς μέτρηση τρόφιμο. [34]

Τα δύο είδη πειραματικών μοντέλων ενώ προσπαθούν να περιγράψουν το ίδιο αντικείμενο διαφέρουν σημαντικά ως προς τον τρόπο προσέγγισής του. Κάθε ένα από τα μοντέλα πλεονεκτεί σε κάποια σημεία ενώ σε άλλα έχει σημαντικά μειονεκτήματα. Παρακάτω θα ομαδοποιηθούν τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα των δύο μεθόδων.

Είναι σαφές ότι η golden standard μέθοδος για την μέτρηση της βιοδιαθεσιμότητας των θεραπευτικών συστατικών είναι το *in vivo* πρότυπο σε ανθρώπους εθελοντές καθώς αυτός ο τρόπος προσέγγισης προσομοιάζει περισσότερο στην πραγματικότητα. Επίσης, με *in vivo* μετρήσεις σε ανθρώπους μπορεί να γίνει ομαδοποίηση και διαχωρισμός των αποτελεσμάτων ανάλογα το φύλο, την ηλικιακή ομάδα, την κατάσταση υγείας ή οποιαδήποτε πάθηση. Ταυτόχρονα, οι *in vivo* προσδιορισμοί σε ζώα δίνουν περισσότερη ελευθερία στους ερευνητές να δοκιμάσουν πιο ‘‘επικίνδυνα’’ πρωτόκολλα και να κάνουν μετρήσεις που δεν θα επέτρεπε η χρήση ανθρώπων εθελοντών. [34]

Αντίθετα, τα *in vitro* πρωτόκολλα παρέχουν πολύ μεγάλη επαναληψιμότητα και τυποποίηση γεγονός που δίνει μεγάλες δυνατότητες σύγκρισης αποτελεσμάτων μεταξύ ίδιων και διαφορετικών τροφίμων και μεταξύ διαφορετικών επιστημονικών ομάδων. Στην πραγματικότητα, οι *in vitro* προσδιορισμοί, έχοντας ένα τυποποιημένο σύστημα πέψης εστιάζουν καλύτερα στις φυσικοχημικές ιδιότητες του τροφίμου. Ένας άλλος λόγος που οι *in vitro* προσδιορισμοί χρησιμοποιούνται ευρέως είναι το χαμηλό τους κόστος, οι μικρές χρονικές απαιτήσεις και η απουσία προβλημάτων βιοηθικής. [34]

Στα μειονεκτήματα των *in vivo* μοντέλων συγκαταλέγονται τα σημαντικά θέματα βιοηθικής που προκύπτουν κυρίως με τους ανθρώπους εθελοντές αλλά και με τα ζωικά πρότυπα. Επίσης, σε πρωτόκολλα με ζωικά μοντέλα που υπάρχει μεγαλύτερη ελευθερία παρέμβασης και μετρήσεων, τα αποτελέσματα δεν είναι σίγουρα αντιπροσωπευτικά για τον άνθρωπο. Σημαντικό μειονέκτημα είναι η διακύμανση που προκύπτει από την διαφορετική φυσιολογία του κάθε ανθρώπινου οργανισμού η οποία σίγουρα επιδρά στα αποτελέσματα. Έτσι η μέθοδος είναι δυσκολότερα επαναλήψιμη και τα αποτελέσματα δυσκολότερα συγκρίσιμα. Τέλος, τα *in vivo* μοντέλα απαιτούν κατά κανόνα περισσότερους πόρους από τα *in vitro*. [34]

Όσον αφορά τα *in vitro* μοντέλα, το βασικό τους μειονέκτημα είναι ότι αφορούν μια προσομοίωση πέψης, γεγονός που κάνει τα αποτελέσματά τους ευθέως αμφισβητήσιμα ως προς την χρησιμότητά τους. Σημαντικό επί μέρους στοιχείο είναι ότι δεν προσομοιώνεται καλά το περιβάλλον στο λεπτό και παχύ έντερο. Αφενός για το λεπτό έντερο, δεν αποτυπώνεται καλά το δυναμικό περιβάλλον της πέψης, αφετέρου για το παχύ έντερο δεν συνυπολογίζεται η συνεισφορά της εντερικής μικροχλωρίδας, μέσω του μεταβολισμού της, στην βιοπροσβασιμότητα και την

βιοδιαθεσιμότητα. Το γεγονός αυτό αποτελεί σημαντικό μειονέκτημα όσων αφορά τις φαινολικές ενώσεις. [34]

Συμπερασματικά, οι δύο μέθοδοι προσδιορισμού της βιοδιαθεσιμότητας / βιοπροσβασιμότητας έχουν δυνατά σημεία και αδυναμίες. Μάλιστα το δυνατό σημείο της μιας μεθόδου αποτελεί, όπως φάνηκε παραπάνω, την αδυναμία της άλλης. Συνεπώς, η σύγκριση των δύο μεθόδων δεν μπορεί να έχει σκοπό να αναδείξει την καλύτερη μέθοδο για τον προσδιορισμό της βιοπροσβασιμότητας ενός συστατικού από μια πηγή του. Αντίθετα, η σύγκριση πρέπει να γίνεται ώστε να βρεθεί ο κατάλληλος συνδυασμός των δύο διαφορετικών μεθόδων ώστε ερευνητικά δεδομένα στο σύνολο τους να μπορέσουν να δώσουν μια σφαιρική και ακριβή απάντηση σχετικά με το κάθε επι μέρους ερώτημα.

Πειραματικό Μέρος

Προετοιμασία πειράματος

Το πείραμα έλαβε χώρα είναι προσομοίωση γαστρικής πέψης *in vitro* με βάση έναν συνδυασμό των πρωτοκόλλων που περιέγραψε ο McDougall et al (2005) [47] και ο Minekus et al (2014) [48]. Τα δείγματα που υποβλήθηκαν σε αυτή την διαδικασία ήταν δείγματα αποξηραμένων φρούτων. Για την εφαρμογή του πρωτοκόλλου παρασκευάστηκε σειρά διαλυμάτων όπως περιγράφεται παρακάτω.

Αντιδραστήρια

- KCl (s), (CHEMLAB CL00.1133.1000)
- KH_2PO_4 (s), (AnalaR)
- NaHCO_3 (s), (Sigma chemical S8875)
- NaCl (s), (Carlo Erba reagents 479687)
- $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$ (s),
- $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (s),
- Πυκνό NaOH 5M
- Πυκνό HCl 6M (Sigma – Aldrich 30721 – 2,5 L)
- $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$ (s)
- Νερό HPLC (Fischer chemical W/0106/17)

Εργαστηριακά όργανα και σκεύη

- Μεγάλο ποτήρι ζέσεως
- Ογκομετρικός κύλινδρος 1L
- 6 πλαστικά μπουκάλια 1L
- Χωνί
- Σπάτουλα
- 3 ποτήρια ζέσεως
- Ογκομετρικός κύλινδρος 500 ml
- Αυτόματη πιπέτα (100-1000 μL) (Gilson S.A.S) – tips
- Σιφόνια 10 ml, 25 ml – πουαρ
- Σωλήνες falcon 50 ml – στατώ
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων (0,0000 g) (Sartorius BP221)
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας δύο δεκαδικών ψηφίων (0,00 g) (OHAUS TS 40000)
- Μαγνητικός αναδευτήρας – μαγνητάκια (Stuart scientific)

- pH – μετρο (Alpha analytical)

Πορεία

Γίνεται παρασκευή των διαλυμάτων αλάτων που απαιτούνται για την μετέπειτα δημιουργία των διαλυμάτων ενζύμων για τις φάσεις μάσησης, γαστρικής πέψης και παγκρεατικής πέψης (oral phase, gastric phase, intestinal phase). Για κάθε μια από τις τρεις φάσεις παρασκευάστηκε ένα διάλυμα πέψης, το SSF, το SGF και το SIF αντίστοιχα. Τα είδη των αλάτων που απαιτούνται, οι ποσότητές τους και συνολικά ο τρόπος παρασκευής των τριών διαλυμάτων φαίνεται στον Πίνακα 4 [48].

Constituent	Stock conc.		SSF		SGF		SIF	
			pH 7		pH 3		pH 7	
			Vol. of stock	Conc. in SSF	Vol. of stock	Conc. in SGF	Vol. of stock	Conc. in SIF
	g L ⁻¹	mol L ⁻¹	mL	mmol L ⁻¹	mL	mmol L ⁻¹	mL	mmol L ⁻¹
KCl	37.3	0.5	15.1	15.1	6.9	6.9	6.8	6.8
KH ₂ PO ₄	68	0.5	3.7	3.7	0.9	0.9	0.8	0.8
NaHCO ₃	84	1	6.8	13.6	12.5	25	42.5	85
NaCl	117	2	—	—	11.8	47.2	9.6	38.4
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	30.5	0.15	0.5	0.15	0.4	0.1	1.1	0.33
(NH ₄) ₂ CO ₃	48	0.5	0.06	0.06	0.5	0.5	—	—
For pH adjustment								
	mol L ⁻¹		mL	mmol L ⁻¹	mL	mmol L ⁻¹	mL	mmol L ⁻¹
NaOH	1		—	—	—	—	—	—
HCl	6		0.09	1.1	1.3	15.6	0.7	8.4
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂ is not added to the simulated digestion fluids, see details in legend								
	g L ⁻¹	mol L ⁻¹		mmol L ⁻¹		mmol L ⁻¹		mmol L ⁻¹
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	44.1	0.3		1.5 (0.75*)		0.15 (0.075*)		0.6 (0.3*)

* * in brackets is the corresponding Ca²⁺ concentration in the final digestion mixture.

Πίνακας 4. Απαιτούμενες συγκεντρώσεις και ποσότητες διαλυμάτων αλάτων για την παρασκευή των διαλυμάτων πέψης SSF, SGF, SIF. [48]

Αρχικά έλαβε χώρα η παρασκευή των διαλυμάτων αλάτων KCl, KH₂PO₄, NaHCO₃, NaCl, MgCl₂(H₂O)₆, (NH₄)₂CO₃ στις κατάλληλες συγκεντρώσεις (διαλύματα Stock). Η μάζα των αλάτων που αναγράφεται αφορά την παρασκευή 500 mL διαλύματος άλατος. Στο πείραμά μας παρασκευάσαμε τους διπλάσιους όγκους. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την παρασκευή των διαλυμάτων αλάτων ήταν η εξής :

- Ζύγιση της ποσότητας άλατος σε ζυγό με ακρίβεια 2 δεκαδικών ψηφίων, μέσα σε μεγάλο ποτήρι ζέσεως.
- Διάλυση του άλατος με νερό HPLC μετά από ανάδευση (μαγνητικός αναδευτήρας) και συμπλήρωση μέχρι τελικού όγκου σε ογκομετρική φιάλη 1L.

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την παρασκευή των διαλυμάτων πέψης (SSF, SGF, SIF) τελικού όγκου 800 mL, ήταν η εξής :

- Μεταφορά κατάλληλης ποσότητας διαλυμάτων αλάτων σε 3 μεγάλα ποτήρια ζέσεως, ένα για κάθε διάλυμα πέψης και αραιώση με νερό HPLC μέχρι τελικού όγκου 800 mL.

- Ρύθμιση του pH στις τιμές που αναγράφει ο Πίνακας 4 με χρήση διαλύματος HCl 6M και διαλύματος NaOH 5M.
- Φύλαξη σε σωλήνες falcon 50 ml στην κατάψυξη (- 20 °C).

Προσομοίωση πέψης in vitro

Το πρωτόκολλο που θα ακολουθηθεί βασίζεται στη πειραματική πορεία που περιγράφηκε από τους Minekus et al (2014) [48] με τροποποιήσεις από το πρωτόκολλο των McDougall et al (2005) [47].

Αντιδραστήρια - Δείγματα

- Δείγματα αποξηραμένων φρούτων
- Διαλύματα SSF, SGF, SIF από την προηγούμενη διαδικασία
 - Α-αμυλάση (s), (Fisher chemical A-74a, 50 – 100 Unit / mg)
 - Πεψίνη (s), (Agros Organics, 417071000)
 - Παγκρεατίνη (s), (Sigma P 3292 – 100 g)
 - Χολικά άλατα (s), (Fluka analytical 48305 – 50 g – F)
 - HCl 6M (Sigma – Aldrich 30721 – 2,5 L)
 - Νερό HPLC (Fisher chemical W/0106/17)
 - Μεθανόλη HPLC (Fisher chemical M/4056/17)
 - Ethyl acetate HPLC (Fisher chemical E/0900/17)
 - Snakeskin (Thermo scientific, 22mm*10,7m)

Εργαστηριακά όργανα και σκεύη

- Αυτόματη πιπέτα (100-1000 µL) (Gilson S.A.S) - tips
- Αυτόματη πιπέτα (10-100 µL) (Gilson S.A.S) – tips
- Σιφώνια 5 ml, 10 ml, 25 ml
- Σπάτουλες
- Σωλήνες falcon 50 ml και 15 ml – στατώ
- Ποτήρια και σωλήνες φυγοκέντρου
- Χάρακας, κόλλα στιγμής, μαρκαδόρος, parafilm
- Σύριγγες 5 ml και προσαρμοζόμενα φίλτρα (HPLC), PET σύριγγας
- Πολυκόφτης κουζίνας
- pH – μετρο (Alpha analytical)
- Ανακινούμενο υδατόλουτρο (Schutzart DIN EN 60529 – IP 20)
- Vortex (J.P. Selecta, s.a.)
- Χρονόμετρο (Meizu M3 Note)

- Φυγόκεντρος (Hermle Z – 320)

Πορεία

Στο στατικό μοντέλο προσομοίωσης γαστρικής πέψης *in vitro* η πορεία της πέψης χωρίζεται σε τρεις φάσεις (μάσηση, γαστρική φάση, εντερική φάση). Οι φάσεις αυτές προσομοιάζουν την ανθρώπινη πέψη της τροφής και αναπαριστούν τις συνθήκες που επικρατούν στο στόμα, στον στομάχο και στο έντερο αντίστοιχα. Πιο συγκεκριμένα αναπαράγονται στο εργαστήριο οι διαδικασίες της μάσησης στο στόμα, της πέψης με τα γαστρικά ένζυμα στον στομάχο και της πέψης με τα παγκρεατικά ένζυμα στο έντερο. Όπως στην “βιολογική” πέψη έτσι και εργαστηριακά, το δείγμα κάθε φρούτου θα υποβληθεί με την σειρά στις συνθήκες του στόματος, του στομάχου και του εντέρου. Σε κάθε στάδιο απομονώνονται δείγματα ώστε να προσδιοριστεί η βιοπροσβάσιμη ποσότητα φαινολικών ενώσεων σε κάθε φάση. Η διαδικασία αφορά ένα αποξηραμένο φρούτο κάθε φορά από το οποίο λαμβάνεται κατάλληλος αριθμός δειγμάτων ώστε αυτά να επαρκούν για να συλλέγεται τριπλέτα δειγμάτων σε κάθε φάση. Ακολουθεί η περιγραφή των διαδικασιών.

Προετοιμασία των διαλυμάτων ενζύμων για κάθε φάση

Όλα τα διαλύματα ενζύμων και χολικών αλάτων ήταν προσφάτως παρασκευασμένα. Τα ένζυμα – α-αμυλάση, πεψίνη, παγκρεατίνη και τα χολικά άλατα είχαν ζωική ή βακτηριακή προέλευση. Ακολουθεί η διαδικασία παρασκευής των διαλυμάτων ενζύμων :

- Ζύγιση της απαιτούμενης ποσότητας του κάθε ενζύμου σε ζυγό με ακρίβεια 4^{ου} δεκαδικού ψηφίου, μέσα σε σωλήνα falcon 50 ml.
- Προσθήκη της κατάλληλης ποσότητας με σιφόνιο από το διάλυμα πέψης που αντιστοιχεί σε κάθε ένζυμο.

Οι πληροφορίες σχετικά με την ποσότητα των ενζύμων και των χολικών αλάτων καθώς και των διαλυμάτων πέψης που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή διαλυμάτων ενζύμων φαίνονται στον Πίνακα 5.

Ένζυμο	Α-αμυλάση	Πεψίνη	Παγκρεατίνη	Χολικά άλατα
Ποσότητα (mg ενζύμου * αριθμός δειγμάτων +1)	15 * (n + 1)	13,328 * (n + 1)	40 * (n + 1)	170 * (n + 1)
Διάλυμα πέψης	SSF	SGF	SIF	SIF
Ποσότητα δ/τος (mL δ/τος * αριθμός δειγμάτων +1)	0,5 * (n + 1)	1,6 * (n + 1)	5 * (n + 1)	2,5 * (n + 1)

Πίνακας 5. Ποσότητες ενζύμων (g) για να διαλυθούν στην ποσότητα του κατάλληλου διαλύματος πέψης.

Φάση μάσησης

Για την φάση μάσησης ακολουθείται η εξής διαδικασία:

- Ζύγιση 100 g αποξηραμένου φρούτου με ακρίβεια 2 δεκαδικών ψηφίων, μέσα στον πολυκόφτη. Η ποσότητα αυτή επαρκεί για 20 δείγματα (5g φρούτου / δείγμα).
- Προσθήκη 70 mL SSF στον πολυκόφτη.
- Ομογενοποίηση του δείγματος.
- Ζύγιση των δειγμάτων (8,50 g σε κάθε περιέκτη) (σωλήνες falcon 50 ml). Δημιουργούνται 18 διαφορετικά δείγματα.
- Σε κάθε περιέκτη προστίθενται :
 - 1) Διάλυμα α-αμυλάσης (0,5 mL)
 - 2) Διάλυμα CaCl_2 (25 μL)
 - 3) Νερό HPLC (975 μL)
- Ανάδευση για 2 λεπτά στο Vortex (ως επώαση).
- Παραλαβή 4 δειγμάτων προς μέτρηση βιοπροσβάσιμων φαινολικών ενώσεων, μετά την μάσηση.
- Στα 3 δείγματα προστίθεται μεθανόλη (5 mL) και στο άλλο 1 προστίθεται οξικός αιθυλεστέρας (5 mL).
- Τα 4 δείγματα αποθηκεύονται σε θερμοκρασία δωματίου, τα υπόλοιπα προχωρούν αμέσως για την γαστρική φάση.

Γαστρική φάση

Για την γαστρική φάση ακολουθείται η εξής διαδικασία:

- Στα δείγματα που προχώρησαν από την φάση μάσησης προστέθηκαν :
 - 1) Διάλυμα SGF (7,5 mL)
 - 2) Διάλυμα πεψίνης (1,6 mL)
 - 3) Διάλυμα CaCl_2 (5 μL)
- Ανάδευση στο Vortex.
- Ρύθμιση του pH ($\text{pH} = 1,7$) με στάγδην προσθήκη HCl 6 M.
- Επώαση σε ανακινούμενο υδατόλουτρο για 2 ώρες, στους 37 °C.
- Παραλαβή 4 δειγμάτων προς μέτρηση βιοπροσβάσιμων φαινολικών ενώσεων, μετά την γαστρική φάση.
- Στα 3 δείγματα προστίθεται μεθανόλη (10 ml) και στο 4^ο προστίθεται οξικός αιθυλεστέρας (10 ml).
- Τα 4 δείγματα αποθηκεύονται σε θερμοκρασία δωματίου, τα υπόλοιπα προχωρούν αμέσως για την παγκρεατική φάση.

Εντερική φάση

Για την γαστρική φάση ακολουθείται η εξής διαδικασία:

- Στα δείγματα που προχώρησαν από την γαστρική φάση προστέθηκαν :
 - 1) Διάλυμα SIF (11 mL)
 - 2) Διάλυμα παγκρεατίνης (5 mL)
 - 3) Διάλυμα χολικών αλάτων (2,5 mL)
 - 4) Διάλυμα CaCl_2 (40 μL)
- Ανάδευση στο Vortex.
- Ρύθμιση του pH ($\text{pH} = 7$) με στάγδην προσθήκη NaOH 5 M.
- Επώαση στο ανακινούμενο υδατόλουτρο για 2 ώρες, στους 37 °C.
- Τα δείγματα είτε επώαστηκαν ως έχουν (εντερική φάση) είτε υποβλήθηκαν σε διαδικασία προσομοίωσης διέλευσης δια του επιθηλίου. Τα δείγματα που ακολούθησαν την εντερική φάση κατεργάστηκαν ως εξής:
- Σε 3 δείγματα προστέθηκε μεθανόλη (16 mL) και στο 4^ο προστέθηκε οξικός αιθυλεστέρας (16 mL).
- Τα υπόλοιπα 3 δείγματα έμειναν ως είχαν.
- Για τα 3 δείγματα προσομοίωσης διέλευσης του επιθηλίου (Snakeskin) ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία:
 - ✓ Προετοιμασία τριών “σάκων” Snakeskin με κόλλα από την μια πλευρά.
 - ✓ Μεταφορά τριών δειγμάτων σε τρεις παχύτερους γυάλινους περιέκτες.
 - ✓ Προσθήκη ενός “σάκου” Snakeskin σε κάθε περιέκτη και προσθήκη 20 ml NaHCO_3 με σιφόνιο στο εσωτερικό του σάκου.
 - ✓ Σφράγιση των “σάκων” Snakeskin με κόλλα και στην πάνω πλευρά, σφράγιση των γυάλινων περιεκτών με parafilm.
- Για τα 3 δείγματα Snakeskin, έγινε διαχωρισμός του εξωτερικού τμήματος του δείγματος (Out) από το εσωτερικό (IN), έτσι δημιουργούνται 3 δείγματα IN (φαινολικές ενώσεις που απορροφήθηκαν) και 3 δείγματα OUT (φαινολικές ενώσεις που δεν απορροφήθηκαν).

Προετοιμασία δειγμάτων για τις αναλύσεις

Πριν την αποθήκευση των δειγμάτων στην κατάψυξη για περαιτέρω αναλύσεις ακολουθήθηκε διαδικασία με σκοπό την παραλαβή της υδατικής (υγρής) φάσης και την απόρριψη της στερεής φάσης που προκύπτει από τα άπεπτα κομμάτια φρούτου. Για τα δείγματα που παραλείφθηκαν μετά την φάση μάσησης και την γαστρική φάση η διαδικασία αυτή έγινε την ώρα αναμονής για την επόμενη επώαση. Η διαδικασία έχει ως εξής:

- Φυγοκέντρηση των δειγμάτων στις 4100 rpm για 5 min (εκτός από τα δείγματα IN των Snakeskin).
- Παραλαβή του υπερκείμενου και μεταφορά σε νέο περιέκτη (σωλήνας falcon 50 ml). Για τα δείγματα που προστέθηκε οξικός αιθυλεστέρας παραλήφθηκε η οργανική φάση του διφασικού συστήματος.
- Μέτρηση του όγκου των τελικών διαλυμάτων που παραλείφθηκαν.
- Διήθηση των δειγμάτων από φίλτρο σύριγγας PET.
- Αποθήκευση των δειγμάτων στην κατάψυξη (- 20 °C) για περεταίρω ανάλυση.

Βελτιστοποίηση μεθόδων

Για την διεξαγωγή του πειράματος προσομοίωσης γαστρικής πέψης *in vitro* έγινε αναζήτηση στην βιβλιογραφία όπου μελετήθηκαν διεξοδικά διάφορα ερευνητικά πρωτόκολλα και αποφασίστηκε να εφαρμοστεί η γενική ιδέα του πρωτοκόλλου που πρότειναν οι Minekus et al (2014) [48] με τροποποιήσεις από το πρωτόκολλο των Mc Dougall et. al. (2005) [47].

Για την εφαρμογή των πρωτοκόλλων αυτών στην περίπτωση των δειγμάτων τροφίμων που είχαμε επιλέξει, ακολουθήθηκε διαδικασία βελτιστοποίησης των πειραματικών συνθηκών. Οι παράμετροι που αξιολογήθηκαν κατά τη βελτιστοποίηση θα παρουσιαστούν με την σειρά που εμφανίζονται στην ροή του πειράματος προσομοίωσης γαστρικής πέψης *in vitro*.

- Στη φάση της μάσησης, αξιολογήθηκε η ομογενοποίηση με πολυκόφτη συγκρινόμενη με την πραγματική (*in vivo*) μάσηση για 2 min.
- Στη γαστρική φάση, αξιολογήθηκε και απορρίφθηκε η χρήση διαλύματος φωσφολιποειδών.
- Στην εντερική φάση, αξιολογήθηκε ο τρόπος προσθήκης του Snakeskin στα δείγματα καθώς και ο χρόνος κατά τον οποίο αυτά θα επωάζονται με το Snakeskin.
- Αξιολογήθηκε η διαδικασία παραλαβής των προς ανάλυση δειγμάτων (διακοπή ενζυμικής δραστηριότητας, χειρισμός δείγματος).

Αναλύσεις φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής δράσης

Αντιδραστήρια

- Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (FC)
- Διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3 , 20% w/v)
- Γαλλικό οξύ (Gallic acid, GA), 1mg GA/ mL σε μεθανόλη

- Αντιδραστήριο 4-διμεθυλάμινο-κινναμωμική αλδεϋδη (DMACA, 0,2% σε μεθανόλη)
- Διάλυμα υδροχλωρικού οξέος (HCl, 0,24 N σε μεθανόλη)
- Κατεχίνη (Catechin, CT), 32 mg/L σε μεθανόλη
- Διάλυμα χλωριούχου αργιλίου (2% AlCl₃ σε 5% οξικό οξύ σε μεθανόλη)
- Διάλυμα οξικού οξέος (5% σε μεθανόλη)
- Ρουτίνη (Rutin, Rut.), 100 mg/L σε μεθανόλη
- Διάλυμα KCl, pH 1.0 (0.025 M)
- Διάλυμα CH₃COONa, pH 4.5 (0.4 M)
- Διάλυμα 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλο-υδραζυλο (DPPH) (100 μM σε μεθανόλη)
- Trolox (ισοδύναμο βιταμίνης E), 1,6 mM σε μεθανόλη Διάλυμα χλωριούχου σιδήρου (FeCl₃) (3 mM σε 5 mM HCl)
- Διάλυμα 2,4,6-τρι-(2-πυριδυλο)-1,3,5-τριαζίνη TPTZ (1 mM σε 0,05M HCl)
- Ασκορβικό οξύ (Ascorbic Acid), 0,5 mM σε νερό
- Υδατικό διάλυμα HCOOH (1% v/v) και (10%v/v)
- Πυκνό διάλυμα υδροχλωρικού οξέος HCl 12M (Sigma – Aldrich 30721 – 2,5 L)
- Μεθανόλη HPLC (Fisher chemical M/4056/17)
- Νερό HPLC (Fisher chemical W/0106/17)

Εργαστηριακά όργανα και σκεύη

- Αυτόματη πιπέτα (100-1000 μL) (Gilson S.A.S) - tips
- Αυτόματη πιπέτα (10-100 μL) (Gilson S.A.S) – tips
- Eppendorf σωλήνες (1,5 ml)
- Cryoboxes
- Plates για αυτόματη φωτομέτρηση
- Vials και πώματα για HPLC
- Σύριγγες και φίλτρα σύριγγας (HPLC) PET
- Ογκομετρικές φιάλες 10 ml, 100 ml, 250 ml
- Φασματοφωτόμετρο ELISA Reader (POWER WAVE X52, BIOTEK)

Φασματοφωτομετρικές μέθοδοι

Προσδιορισμός του ολικού φαινολικού περιεχομένου με τη δοκιμή Folin-Ciocalteu (TF)

Αρχή μεθόδου

Πρόκειται για φωτομετρική μέθοδο που βασίζεται στην οξείδωση των φαινολικών ενώσεων από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Το κύριο αντιδραστήριο της μεθόδου, το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu, είναι κίτρινο διάλυμα σύνθετων συμπλόκων ιόντων που σχηματίζονται από φωσφομολυβδαινικά ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) και φωσφοβολφραμικά ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) και αντιδρούν με ενεργοποιημένους αρωματικούς πυρήνες υπό αλκαλικές συνθήκες. Η ενεργοποίηση του δακτυλίου καθορίζεται από την ύπαρξη ομάδων δοτών ηλεκτρονιακής πυκνότητας, π.χ. οι ομάδες υδροξυλίου. Ενεργοποιημένους δακτυλίους αποτελούν οι πολικές φαινολικές ενώσεις διαφόρων τροφίμων ενώ συναντώνται και σε αρωματικά αμινοξέα. Κατά την οξείδωση των φαινολικών ενώσεων, το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu ανάγεται προς μείγμα κυανών οξειδίων του βολφραμίου (W_8O_{23}) και του μολυβδαινίου (Mo_8O_{23}). Το σχηματιζόμενο κυανό χρώμα παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 750 nm και είναι ανάλογο με τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων. Η αλκαλικότητα ρυθμίζεται με διάλυμα Na_2CO_3 . Οι φαινολικές ουσίες που προσδιορίζονται με τη δοκιμή Folin-Ciocalteu εκφράζονται συχνά ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος [49].

Αναλυτική πορεία

Ο προσδιορισμός του ολικού φαινολικού περιεχομένου πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Arnous et al., (2002) [49]. Σε σωλήνες erpendorf προστέθηκε απιονισμένο νερό (0,79 ml) και κατόπιν το εκχύλισμα (0,01 mL) που είχε παραληφθεί όπως περιγράφεται προηγουμένως. Στη συνέχεια προστέθηκε αντιδραστήριο F-C (0,05 ml) στο μίγμα. Κατόπιν ανάδευσης και μετά την πάροδο 1 min, προστέθηκε διάλυμα Na_2CO_3 (0,15 ml). Το μίγμα ανακινήθηκε ξανά και φυλάχθηκε σε σκοτάδι για 120 min. Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετρήθηκε στα 750 nm ως προς δείγμα ελέγχου, ενώ κατασκευάστηκε και πρότυπη καμπύλη αναφοράς με γαλλικό οξύ (GA). Δείγμα ελέγχου παρασκευάστηκε αντικαθιστώντας το δείγμα με μεθανόλη.

Προσδιορισμός ολικών φλαβονολών (TFI)

Αρχή μεθόδου

Για τον προσδιορισμό των ολικών φλαβονολών, ακολουθήθηκε η μέθοδος της π-διμεθυλαμινοκινναμωμικής αλδεϋδης (DMACA), η οποία προτάθηκε από τους Nigel και Glories [50]. Οι κατεχίνες και οι προανθοκυανιδίνες, αντιδρούν με τις αρωματικές αλδεϋδες σε ισχυρά

όξινο περιβάλλον, αποδίδοντας μέσω αυτής της αντίδρασης προϊόντα με χαρακτηριστικό χρωματισμό. Συγκεκριμένα, οι φλαβανόλες αντιδρούν με τη π-διμεθυλαμινοκινναμωμική αλδεϋδη και το προϊόν της αντίδρασης έχει ανοιχτό πράσινο χρώμα, το οποίο παρουσιάζει μέγιστο απορρόφησης στα 640 nm, ενώ η έντασή του είναι ανάλογη της περιεκτικότητας του εκχυλίσματος σε φλαβανόλες. Τα αποτελέσματα συνήθως εκφράζονται ως ισοδύναμα κατεχίνης.

Αναλυτική πορεία

Ο προσδιορισμός του ολικού περιεχομένου σε φλαβανόλες πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Nigel & Glories, (1991) [50]. Σε eppendorf σωλήνα προστέθηκε εκχύλισμα (0,2 ml) κατάλληλα διαλυμένου σε μεθανόλη. Στην συνέχεια προστέθηκε HCl (0,24 N σε μεθανόλη, 0,5 ml) και DMACA (0,2 % σε μεθανόλη, 0,5 ml). Το μίγμα αφέθηκε να αντιδράσει για 5 min σε θερμοκρασία δωματίου. Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετρήθηκε στα 640 nm ως προς δείγμα ελέγχου, ενώ κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς με κατεχίνη (CTE). Δείγμα ελέγχου παρασκευάστηκε αντικαθιστώντας το δείγμα με μεθανόλη και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg ισοδυνάμων κατεχίνης (CTE) ανά 100 gr ξηρού φρούτου.

Προσδιορισμός ολικών φλαβονών (TFn)

Αρχή μεθόδου

Ο προσδιορισμός του συνολικού περιεχομένου σε φλαβόνες πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Cvek et al. (2007) [51]. Κατά την προσθήκη των εκχυλισμάτων σε διάλυμα χλωριούχου αργιλίου (AlCl_3) πραγματοποιείται αντίδραση με προϊόν χαρακτηριστικού χρώματος το οποίο φωτομετράται στα 415 nm. Τα αποτελέσματα εκφράζονται συνήθως ως ισοδύναμα ρουτίνης.

Αναλυτική πορεία

Ο προσδιορισμός του ολικού περιεχομένου σε φλαβόνες πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Cvek et al., (2007) [51]. Σε eppendorf σωλήνα προστέθηκε διάλυμα χλωριούχου αργιλίου (2% AlCl_3 σε 5% CH_3COOH σε μεθανόλη, 0,05 ml) και εκχύλισμα 0,5 ml. Στην συνέχεια προστέθηκε διάλυμα οξικού οξέος (5% σε μεθανόλη, 0,5 ml) και το μίγμα αφέθηκε να αντιδράσει για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετρήθηκε στα 415 nm ως προς δείγμα ελέγχου, ενώ κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς με ρουτίνη (RE.). Δείγμα ελέγχου παρασκευάστηκε αντικαθιστώντας το δείγμα με μεθανόλη και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg ισοδύναμου ρουτίνης (RE) ανά 100 g ξηρού φρούτου.

Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης *in vitro*

Ο προσδιορισμός της επιδεικνυόμενης αντιοξειδωτικής δράσης *in vitro*, έλαβε χώρα με δύο μεθόδους: α) μέσω της ικανότητας των εκχυλισμάτων να δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH (2,2-διφαινυλο-1-πικρυλο-υδραζυλο ελεύθερη ρίζα) (A_R) και β) μέσω της ικανότητάς τους να ανάγουν μεταλλικά κατιόντα (FRAP, P_R).

Ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών

Αρχή μεθόδου

Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιείται η 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλο-υδραζυλο ελεύθερη ρίζα (DPPH), η οποία έχει χαρακτηριστικό φάσμα UV-vis με μέγιστη απορρόφηση στα 515nm σε μεθανόλη. Η προσθήκη συστατικού που δρα ως αντιοξειδωτικό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση στην απορρόφηση, λόγω δέσμευσης των ελευθέρων ριζών από τις ενώσεις που επιδεικνύουν αντιοξειδωτική δράση, η οποία ακολουθείται από αλλαγή της έντονης χροιάς του χρώματος του διαλύματος και είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση και την αντιοξειδωτική ικανότητα της ουσίας που προστίθεται (Villano et al., 2007) [52].

Αναλυτική πορεία

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης *in vitro*, μέσω της ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Arnous et al., (2002) [49]. Σε erpendorf σωλήνα προστέθηκε αραιωμένο εκχύλισμα (0,025 ml) και διάλυμα DPPH (100 μ M σε μεθανόλη, 0,975 mL) και αναμίχθηκαν. Η απορρόφηση μετρήθηκε μετά από 30 min στα 515 nm ως προς δείγμα ελέγχου. Ως δείγμα ελέγχου χρησιμοποιήθηκε καθαρή μεθανόλη και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα mM Trolox ανά 100 g ξηρού βάρους.

Ικανότητα αναγωγής μεταλλικών κατιόντων

Αρχή μεθόδου

Η δοκιμή της ικανότητας των εκχυλισμάτων να ανάγουν μεταλλικά κατιόντα σιδήρου (FRAP) είναι μια άμεση φασματοφωτομετρική μέθοδος υπολογισμού της συνολικής αντιοξειδωτικής δύναμης ενός φυτικού εκχυλίσματος (Makris et al., 2007) [53] και στηρίζεται στην αναγωγή, κάτω από όξινες συνθήκες, του συμπλόκου Fe^{+3} -τριπυρίδυλο – τριαζίνη (Fe^{+3} -TPTZ) σε δισθενή μορφή, που αποκτά έντονο μπλε χρώμα και απορροφά στα 620 nm. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ισοδύναμα ασκορβικού οξέος.

Αναλυτική πορεία

Ο προσδιορισμός της αναγωγικής δύναμης με την μέθοδο FRAP πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Makris et al. (2007) [53]. Σε σωλήνα erpendorf προστέθηκε αραιωμένο εκχύλισμα (0,05 mL) και διάλυμα $FeCl_3$ (3 mM σε 5 mM HCl, 0,05 mL). Επώαστηκαν

σε υδατόλουτρο για 30 min στους 37°C. Στην συνέχεια προστέθηκε διάλυμα TPTZ (1 mM σε 0,05 M HCl, 0,9 mL) και αναδεύτηκαν. Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετρήθηκε στα 620 nm ως προς δείγμα ελέγχου, ενώ κατασκευάστηκε και πρότυπη καμπύλη αναφοράς με ασκορβικό οξύ. Δείγμα ελέγχου παρασκευάστηκε αντικαθιστώντας το διάλυμα FeCl₃ (3 mM σε 5 mM HCl) με απεσταγμένο νερό και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα mM ασκορβικού οξέος ανά 100 gr ξηρού φρούτου.

Αποτελέσματα

Αποξηραμένα φρούτα

Η διαδικασία προσομοίωσης γαστρικής πέψης *in vitro* καθώς και οι φωτομετρικές αναλύσεις και ο προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας όπως περιεγράφηκαν παραπάνω εκτελέστηκαν σε δείγματα από τα ξηρά φρούτα : σύκο Μεσσήνης, ξινό δαμάσκηνο, βιολογική σταφίδα, νεκταρίνι, βερίκοκο. Ακολουθούν οι πίνακες αποτελεσμάτων για κάθε φρούτο σε κάθε στάδιο πέψης. Σκοπός αυτού του τρόπου παρουσίασης είναι να συγκριθούν μεταξύ τους τα αποτελέσματα των διαφορετικών προσδιορισμών, σε όλες τις φάσεις της πέψης, για κάθε είδος φρούτου ξεχωριστά.

Σύκο Μεσσήνης

Σύκο Μεσσήνης	Φασματοφωτομετρικές μέθοδοι προσδιορισμού Φαινολικών ενώσεων			Αντιοξειδωτική δράση <i>in vitro</i>	
Φάσεις πέψης <i>in vitro</i>	Ολικές Φαινόλες	Ολικές Φλαβανόλες	Ολικές Φλαβόνες	(AA)	(P _R)
Μάσηση	70 ± 17	0,04 ± 0,00	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	1,0 ± 0,1
Γαστρική	114 ± 16	0,13 ± 0,10	14,2 ± 1,6	0,4 ± 0,0	5,7 ± 1,3
Εντερική	133 ± 37	0,10 ± 0,06	26,9 ± 5,1	0,58 ± 0,1	5 ± 2,3
Εντερικός Αυλός	144 ± 14	0,02 ± 0,06	30,6 ± 20,7	0,5 ± 0,3	5,8 ± 5,3
Επιθήλιο	38 ± 74	Ιχνη	Ιχνη	0,2 ± 0,1	Ιχνη

Πίνακας 6. Φαινολικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση κατά τις διάφορες φάσεις *in vitro* πέψης σύκου Μεσσήνης.

Έκφραση αποτελεσμάτων: Ολικές φαινόλες, mg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος (GAE)/100 g, Ολικές Φλαβανόλες, mg ισοδυνάμων κατεχίνης/100 g, Ολικές Φλαβόνες, mg ισοδυνάμων ρουτίνης/100 g, Ικανότητα δέσμευσης ελ. ριζών, mmol ισοδυνάμων Trolox/100 g, Ικανότητα αναγωγής μετ. κατιόντων, mg ισοδυνάμων ασκορβικού οξέος/100 g.

AA: Ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών, P_R Ικανότητα αναγωγής μεταλλικών κατιόντων

Το ολικό βιοπροσβάσιμο φαινολικό περιεχόμενο του σύκου Μεσσήνης βλέπουμε ότι αυξάνεται μέχρι την εντερική φάση όπου παρουσιάζει τη μέγιστη τιμή του. Η βιοπροσβάσιμη ποσότητα φαινολικών ενώσεων στον εντερικό αυλό είναι 2 φορές μεγαλύτερη από αυτή της μάσησης. Αντίστοιχες και μεγαλύτερες αυξήσεις παρατηρούνται και στις υπόλοιπες μεθόδους προσδιορισμού, με εξαίρεση τις ολικές φλαβόνες, των οποίων η συνεισφορά της μάσησης στην ολική ποσότητα είναι πολύ μικρή και την ικανότητα αναγωγής ελευθέρων ριζών που παραμένει σχετικά σταθερή από την γαστρική φάση και έπειτα. Επίσης βλέπουμε ότι υπήρξε απορρόφηση

φαινολικών ενώσεων (ολικές φαινόλες), η οποία όμως δεν συνοδεύτηκε από αντίστοιχη απορρόφηση φλαβανολών και φλαβονών.

Νεκταρίνι

Νεκταρίνι				Αντιοξειδωτική δράση <i>in vitro</i>	
Φάσεις πέψης <i>in vitro</i>	Ολικές Φαινόλες	Ολικές Φλαβανόλες	Ολικές Φλαβόνες	(AA)	(PR)
Μάσηση	35 ± 6	1,8 ± 0,1	7,5 ± 1,2	0,1 ± 0,00	3,3 ± 0,5
Γαστρική	72 ± 16	4,1 ± 0,4	1,8 ± 0,4	0,3 ± 0,03	6,9 ± 0,7
Εντερική	79 ± 18	3,1 ± 0,6	3,4 ± 1,7	0,5 ± 0,04	10,1 ± 1,1
Εντερικός Αυλός	90 ± 18	2,1 ± 0,4	11,2 ± 2,5	0,3 ± 0,02	15,9 ± 2,1
Επιθήλιο	12 ± 4	Ίχνη	Ίχνη	0,2 ± 0,02	Ίχνη

Πίνακας 7. Φαινολικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση κατά τις διάφορες φάσεις *in vitro* πέψης νεκταρινιού.

Έκφραση αποτελεσμάτων: Ολικές φαινόλες, mg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος (GAE)/100 g, Ολικές Φλαβανόλες, mg ισοδυνάμων κατεχίνης/100 g, Ολικές Φλαβόνες, mg ισοδυνάμων ρουτίνης/100 g, Ικανότητα δέσμευσης ελ. ριζών, mmol ισοδυνάμων Trolox/100 g, Ικανότητα αναγωγής μετ. κατιόντων, mg ισοδυνάμων ασκορβικού οξέος/100 g.

Το ολικό βιοπροσβάσιμο φαινολικό περιεχόμενο του νεκταρινιού βλέπουμε ότι αυξάνεται μέχρι την γαστρική φάση ενώ κατά την εντερική φάση παραμένει σταθερό. Η βιοπροσβάσιμη ποσότητα φαινολικών ενώσεων κατά την γαστρική φάση είναι 2 φορές μεγαλύτερη από αυτή κατά τη μάσηση και στον εντερικό αυλό είναι 2,6 φορές μεγαλύτερη αντίστοιχα. Βλέπουμε ότι υπήρξε απορρόφηση φαινολικών ενώσεων, όχι όμως φλαβανολών και φλαβονών. Οι ολικές φλαβανόλες έφτασαν τη μέγιστη βιοπροσβασιμότητα κατά την γαστρική φάση και στην συνέχεια μειώνονταν. Για τις ολικές φλαβόνες παρατηρήθηκαν διακυμάνσεις ενώ τόσο στην περίπτωση των φλαβανολών όσο και των φλαβονών στο εντερικό επιθήλιο ήταν ασήμαντη. Σχετικά με την αντιοξειδωτική ικανότητα, αυτή αυξήθηκε μέχρι τον εντερικό αυλό στην περίπτωση της αναγωγής μεταλλικών κατιόντων ενώ αυξήθηκε μόνο μέχρι την εντερική φάση στην περίπτωση της δέσμευσης ελεύθερων ριζών.

Ξινό δαμάσκηνο

Ξινό δαμάσκηνο				Αντιοξειδωτική δράση <i>in vitro</i>	
	Φάσεις πέψης <i>in vitro</i>	Ολικές Φαινόλες	Ολικές Φλαβανόλες	Ολικές Φλαβόνες	(AA) (P _R)
Μάσηση		70 ± 13	0,5 ± 0,1	4,7 ± 1,8	0,1 ± 0,0 4,5 ± 0,3
Γαστρική		149 ± 23	1,3 ± 0,3	6,9 ± 0,4	0,3 ± 0,0 8,4 ± 0,8
Εντερική		236 ± 39	0,7 ± 0,4	19,7 ± 11,2	0,5 ± 0,2 22,3 ± 3,7
Εντερικός Αυλός		151 ± 64	0,2 ± 0,2	32,8 ± 4,5	0,4 ± 0,1 16,7 ± 1,5
Επιθήλιο		20 ± 3	Ίχνη	4,3 ± 1,1	0,2 ± 0,0 Ίχνη

Πίνακας 8. Φαινολικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση κατά τις διάφορες φάσεις *in vitro* πέψης ξινού δαμάσκηνου.

Έκφραση αποτελεσμάτων: Ολικές φαινόλες, mg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος (GAE)/100 g, Ολικές Φλαβανόλες, mg ισοδυνάμων κατεχίνης/100 g, Ολικές Φλαβόνες, mg ισοδυνάμων ρουτίνης/100 g, Ικανότητα δέσμευσης ελ. ριζών, mmol ισοδυνάμων Trolox/100 g, Ικανότητα αναγωγής μετ. κατιόντων, mg ισοδυνάμων ασκορβικού οξέος/100 g.

Το ολικό βιοπροσβάσιμο φαινολικό περιεχόμενο του ξινού δαμάσκηνου βλέπουμε ότι αυξάνεται μέχρι την εντερική φάση, όπου παρουσιάζει και την μέγιστη τιμή του. Η βιοπροσβάσιμη ποσότητα φαινολικών ενώσεων κατά την εντερική φάση είναι περίπου 3 φορές μεγαλύτερη από αυτή κατά τη μάσηση και στον εντερικό αυλό είναι 2 φορές μεγαλύτερη αντίστοιχα. Βλέπουμε υπήρξε απορρόφηση φαινολικών ενώσεων, όπως αποτυπώνεται στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο, στις ολικές φλαβόνες και στην ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών. Οι ολικές φλαβανόλες έφτασαν την μέγιστη βιοπροσβασιμότητα κατά την γαστρική φάση και στην συνέχεια μειώνονταν. Αντίθετα οι ολικές φλαβόνες αύξησαν την βιοπροσβασιμότητα τους μέχρι τον εντερικό αυλό, όπου και παρουσίασαν την μέγιστη τιμή τους. Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα αυξήθηκε με μέχρι την εντερική φάση τόσο στην περίπτωση της αναγωγής μεταλλικών κατιόντων όσο και στην περίπτωση της δέσμευσης ελεύθερων ριζών ενώ στον εντερικό αυλό μειώθηκε.

Βερίκοκο				Αντιοξειδωτική δράση <i>in vitro</i>	
Φάσεις πέψης <i>in vitro</i>	Ολικές Φαινόλες	Ολικές Φλαβανόλες	Ολικές Φλαβόνες	(AA)	(P _R)
Μάσηση	12 ± 2	0,2 ± 0,1	1,2 ± 0,3	0,1 ± 0,01	2,0 ± 1,3
Γαστρική	68 ± 8	1,2 ± 0,2	3,4 ± 0,5	0,4 ± 0,03	7,3 ± 0,5
Εντερική	101 ± 63	0,6 ± 0,7	8,4 ± 7,5	0,4 ± 0,08	11 ± 2
Εντερικός Αυλός	87 ± 32	0,2 ± 0,1	34,6 ± 8,1	0,2 ± 0,07	11,1 ± 1
Επιθήλιο	7 ± 3	Ίχνη	6,8 ± 3,1	0,2 ± 0,08	Ίχνη

Πίνακας 9. Φαινολικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση κατά τις διάφορες φάσεις *in vitro* πέψης βερίκοκου.

Έκφραση αποτελεσμάτων: Ολικές φαινόλες, mg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος (GAE)/100 g, Ολικές Φλαβανόλες, mg ισοδυνάμων κατεχίνης/100 g, Ολικές Φλαβόνες, mg ισοδυνάμων ρουτίνης/100 g, Ικανότητα δέσμευσης ελ. ριζών, mmol ισοδυνάμων Trolox/100 g, Ικανότητα αναγωγής μετ. κατιόντων, mg ισοδυνάμων ασκορβικού οξέος/100 g.

Το ολικό βιοπροσβάσιμο φαινολικό περιεχόμενο του βερίκοκου βλέπουμε ότι αυξάνεται μέχρι την εντερική φάση όπου παρουσιάζει τη μέγιστη τιμή του. Η βιοπροσβάσιμη ποσότητα φαινολικών ενώσεων στην εντερική φάση είναι περίπου 8 φορές μεγαλύτερη από αυτή κατά τη μάσηση και 1,5 φορές μεγαλύτερη από αυτή κατά την γαστρική φάση. Βλέπουμε ότι υπήρξε απορρόφηση φαινολικών ενώσεων, όπως αποτυπώνεται στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο και τις ολικές φλαβόνες. Επίσης, οι ολικές φλαβόνες ενώ παρουσίασαν αύξηση στην βιοπροσβασιμότητά τους έχοντας χαμηλές τιμές μέχρι την εντερική φάση, στον εντερικό αυλό παρουσίασαν αύξηση, ενώ πολύ σημαντική ποσότητα τους απορροφήθηκε από το επιθήλιο. Οι ολικές φλαβανόλες είχαν πολύ μικρή συνεισφορά σε όλες τις φάσεις. Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα αυξήθηκε μέχρι την γαστρική φάση και μετά μειώθηκε στον εντερικό αυλό αλλά βρέθηκε σημαντική τιμή στο επιθήλιο, στην περίπτωση της αναγωγής μεταλλικών κατιόντων και αυξανόταν μέχρι την εντερική φάση χωρίς να βρεθεί στο επιθήλιο στην περίπτωση της δέσμευσης ελεύθερων ριζών.

Βιολογική σταφίδα	Φασματοφωτομετρικές μέθοδοι προσδιορισμού Φαινολικών ενώσεων			Αντιοξειδωτική δράση <i>in vitro</i>	
	Ολικές φαινόλες	Ολικές Φλαβανόλες	Ολικές Φλαβόνες	(AA)	(P _R)
Μάσηση	98 ± 14	3,5 ± 0,3	5,6 ± 0,4	0,3 ± 0,01	3,4 ± 0,3
Γαστρική	172 ± 37	7,4 ± 1,3	12 ± 1,8	0,7 ± 0,02	8,7 ± 1,0
Εντερική	200 ± 33	1,8 ± 1,1	11,3 ± 3,5	1 ± 0,3	9,6 ± 2,3
Εντερικός Αυλός	157 ± 26	0,1 ± 0,1	20,3 ± 4,5	0,4 ± 0,04	9,4 ± 4,0
Επιθήλιο	17 ± 5	Ίχνη	6,6 ± 3,9	0,2 ± 0,04	Ίχνη

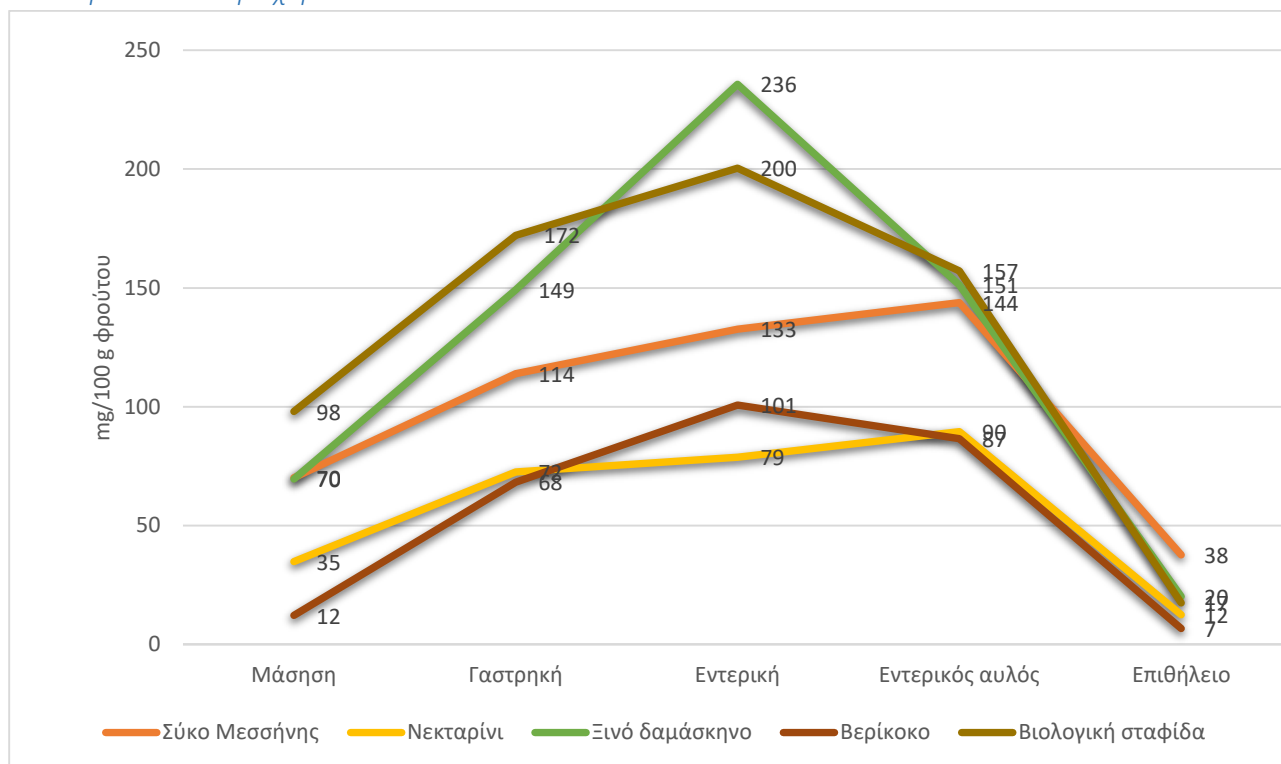
Πίνακας 10. Φαινολικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση κατά τις διάφορες φάσεις *in vitro* πέψης βιολογικής Κορινθιακής σταφίδας.

Έκφραση αποτελεσμάτων: Ολικές φαινόλες, mg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος (GAE)/100 g, Ολικές Φλαβανόλες, mg ισοδυνάμων κατεχίνης/100 g, Ολικές Φλαβόνες, mg ισοδυνάμων ρουτίνης/100 g, Ικανότητα δέσμευσης ελ. ριζών, mmol ισοδυνάμων Trolox/100 g, Ικανότητα αναγωγής μετ. κατιόντων, mg ισοδυνάμων ασκορβικού οξέος/100 g.

Το ολικό βιοπροσβάσιμο φαινολικό περιεχόμενο της βιολογικής Κορινθιακής σταφίδας βλέπουμε ότι αυξάνεται μέχρι την εντερική φάση, όπου παρουσιάζει και την μέγιστη τιμή του. Η βιοπροσβάσιμη ποσότητα φαινολικών ενώσεων κατά την εντερική φάση είναι 2 φορές μεγαλύτερη από αυτή κατά τη μάσηση και 1,16 φορές μεγαλύτερη από αυτή στην γαστρική φάση. Βλέπουμε ότι υπήρξε απορρόφηση φαινολικών ενώσεων όπως αυτή εκφράζεται από το ολικό φαινολικό φορτίο και τις ολικές φλαβόνες, ενώ φλαβανόλες δεν απορροφήθηκαν. Οι ολικές φλαβανόλες έφτασαν την μέγιστη βιοπροσβασιμότητα κατά την γαστρική φάση και στην συνέχεια μειώνονταν. Αντίθετα η βιοπροσβάσιμη ποσότητα ολικών φλαβονών αυξήθηκε κατά τη γαστρική φάση και παρέμεινε υψηλή κατά την εντερική φάση. Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα αυξήθηκε μέχρι την εντερική φάση και στην συνέχεια μειώθηκε στην περίπτωση της ικανότητας δέσμευσης ελευθέρων ριζών ενώ παρέμεινε σταθερή και ελαφρώς αυξανόμενη από την γαστρική φάση μέχρι την εντερική φάση στην περίπτωση της αναγωγής μεταλλικών κατιόντων.

Συγκριτική αξιολόγηση των ξηρών φρούτων

Παραπάνω παρουσιάστηκαν τα αποτελέσματα του συνόλου των προσδιορισμών που έγιναν για κάθε φρούτο ξεχωριστά. Σε αυτό το μέρος θα παρουσιαστούν ξεχωριστά τα αποτελέσματα κάθε προσδιορισμού που έγινε, συμπεριλαμβάνοντας το σύνολο των φρούτων κάθε φορά. Τα αποτελέσματα θα παρουσιαστούν σε μορφή διαγραμμάτων. Σκοπός αυτού του τρόπου παρουσίασης είναι να συγκριθούν τα αποτελέσματα φρούτα μεταξύ τους, σε κάθε σημείο της πέψης, στον εκάστοτε προσδιορισμό.



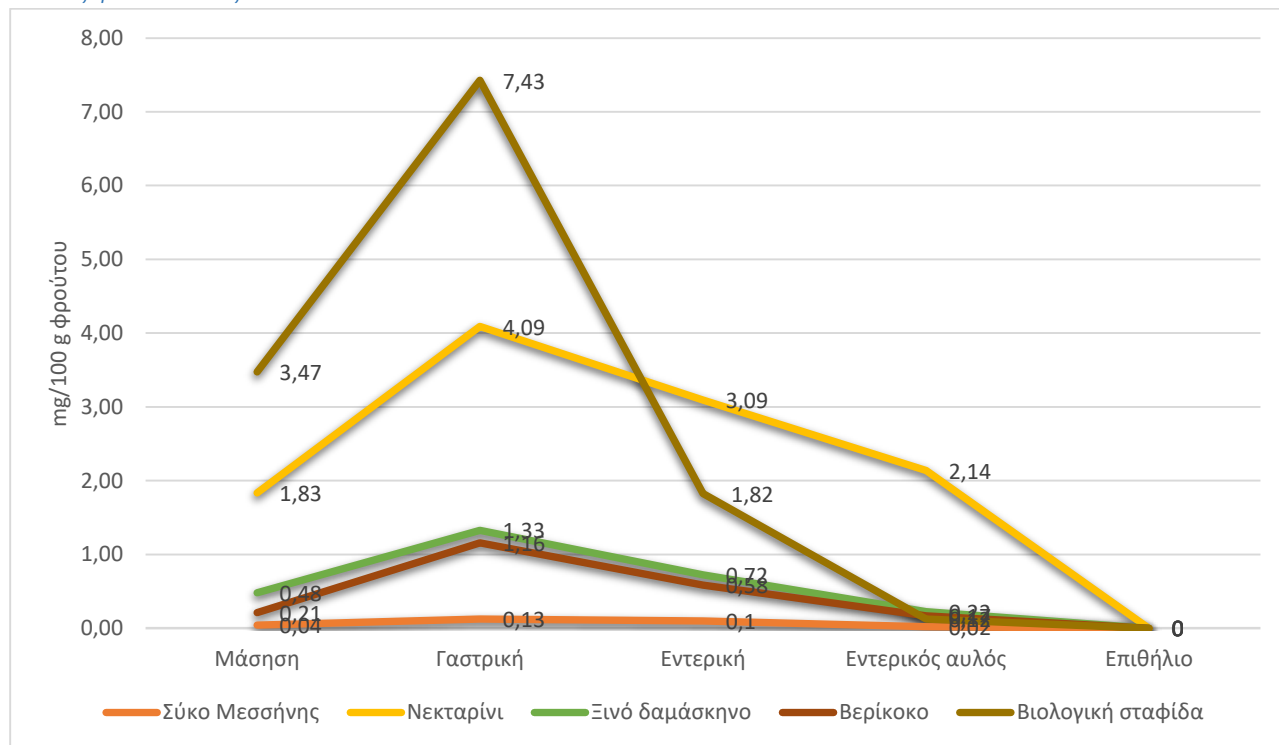
Διάγραμμα 4. Ολικό φαινολικό περιεχόμενο των αποξηραμένων φρούτων κατά την διαδικασία προσομοίωσης πέψης.

Οι τιμές εκφράζονται σε mg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος (GAE)/100 g φρούτου.

Στο διάγραμμα φαίνεται ότι σε όλα τα αποξηραμένα φρούτα εντοπίστηκε σημαντική ποσότητα φαινολικών ενώσεων κατά τα διάφορα στάδια πέψης. Τα αποξηραμένα φρούτα ως προς το ολικό φαινολικό τους φορτίο με φθίνουσα σειρά είναι : το ξινό δαμάσκηνο, η βιολογική σταφίδα, το σύκο Μεσσήνης, το βερίκοκο και το νεκταρίνι σειρά η οποία ισχύει σχεδόν για όλες τις φάσεις της προσομοίωσης πέψης. Σε όλα τα φρούτα η ποσότητα βιοπροσβάσιμων φαινολικών ενώσεων αυξήθηκε σημαντικά από την φάση μάσησης στη γαστρική φάση. Προχωρώντας από την γαστρική φάση στην εντερική η βιοπροσβάσιμη ποσότητα φαινολικών ενώσεων αυξήθηκε σημαντικά στο ξινό δαμάσκηνο, ενώ στα υπόλοιπα φρούτα οι αυξήσεις ήταν μικρότερες. Στον εντερικό αυλό, η βιοπροσβάσιμη ποσότητα φαινολικών ενώσεων του ξινού δαμάσκηνου και της βιολογικής σταφίδας μειώθηκαν σημαντικά παραμένοντας όμως σε πολύ υψηλά επίπεδα. Για τα φρούτα αυτά υπήρξε σημαντική αύξηση των βιοπροσβάσιμων φαινολικών ενώσεων στα προηγούμενα στάδια. Αντίθετα, το σύκο Μεσσήνης, το νεκταρίνι και το βερίκοκο που είχαν πιο ήπιες αυξήσεις στα προηγούμενα στάδια παρουσίασαν ήπιες μεταβολές της βιοπροσβάσιμης ποσότητας φαινολικών ενώσεων στον εντερικό αυλό. Μάλιστα, η ποσότητα αυτή για το σύκο Μεσσήνης έφτασε κοντά στα επίπεδα της βιολογικής σταφίδας και του ξινού δαμάσκηνου. Τελικά η ποσότητα φαινολικών ενώσεων που απορροφήθηκε από το επιθήλιο ήταν μικρή συγκριτικά με

τις προηγούμενες τιμές, ωστόσο μπορεί να χαρακτηριστεί σημαντική για όλα τα φρούτα και ειδικότερα για αυτά με την αρχικά μεγαλύτερη ποσότητα βιοπροσβάσιμων φαινολικών ενώσεων.

Ολικές φλαβανόλες

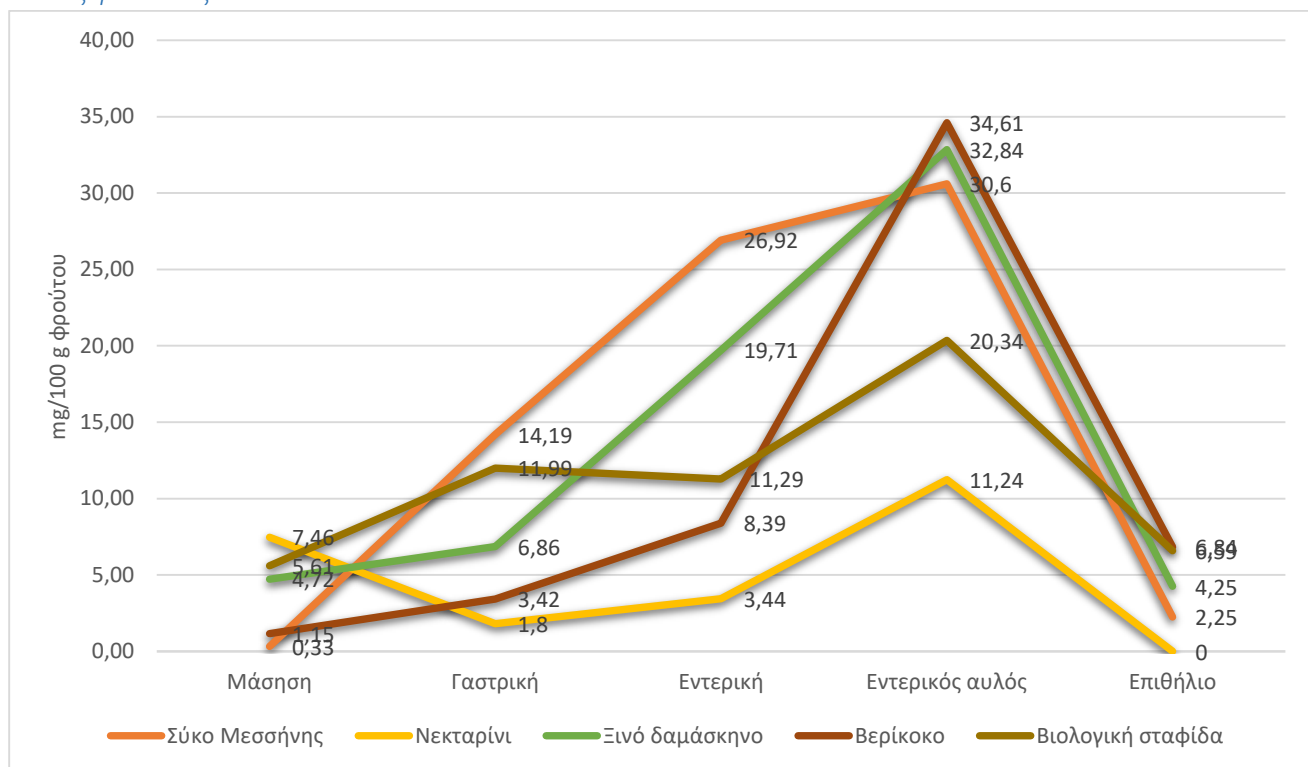


Διάγραμμα 5. Ολικές φλαβανόλες των αποξηραμένων φρούτων κατά την διαδικασία προσομοίωσης πέψης.

Οι τιμές εκφράζονται σε mg ισοδυνάμων κατεχίνης/100 g φρούτου.

Στο διάγραμμα φαίνεται ότι σε όλα τα αποξηραμένα φρούτα με εξαίρεση το σύκο Μεσσήνης, εντοπίστηκε ποσότητα φλαβανολών. Τα αποξηραμένα φρούτα ως προς τις ολικές φλαβανόλες με φθίνουσα σειρά είναι : η βιολογική σταφίδα, το νεκταρίνι, το ξινό δαμάσκηνο, το βερίκοκο και το σύκο Μεσσήνης, ωστόσο υπάρχει διαφορά μεταξύ της βιολογικής σταφίδας και του νεκταρινιού στις διάφορες φάσεις της πέψης. Τα φρούτα είχαν σημαντική διαφορά στην αρχική ποσότητα φλαβανολών κατά την μάσηση με μεγάλη ποσότητα να βρίσκεται στην βιολογική σταφίδα και το νεκταρίνι. Σε όλα τα φρούτα η ποσότητα βιοπροσβάσιμων φαινολικών ενώσεων αυξήθηκε σημαντικά από την φάση μάσησης στην γαστρική φάση, όπου βρέθηκε η μέγιστη τιμή για όλα τα φρούτα. Προχωρώντας από την γαστρική φάση στην εντερική η βιοπροσβάσιμη ποσότητα φλαβανολών μειώθηκε σημαντικά στη βιολογική σταφίδα ενώ στα άλλα φρούτα οι μειώσεις ήταν ηπιότερες, με αποτέλεσμα η ποσότητα φλαβανολών στο νεκταρίνι να ξεπερνά αυτή στην βιολογική σταφίδα. Στον εντερικό αυλό, η βιοπροσβάσιμη ποσότητα φλαβανολών για όλα τα φρούτα εκτός από το νεκταρίνι έφτασε κοντά στο μηδέν. Το νεκταρίνι έδωσε σημαντική ποσότητα φλαβανολών στον αυλό. Τελικά δεν απορροφήθηκε ανιχνεύσιμη ποσότητα φλαβανολών στο επιθήλιο, για κανένα φρούτο.

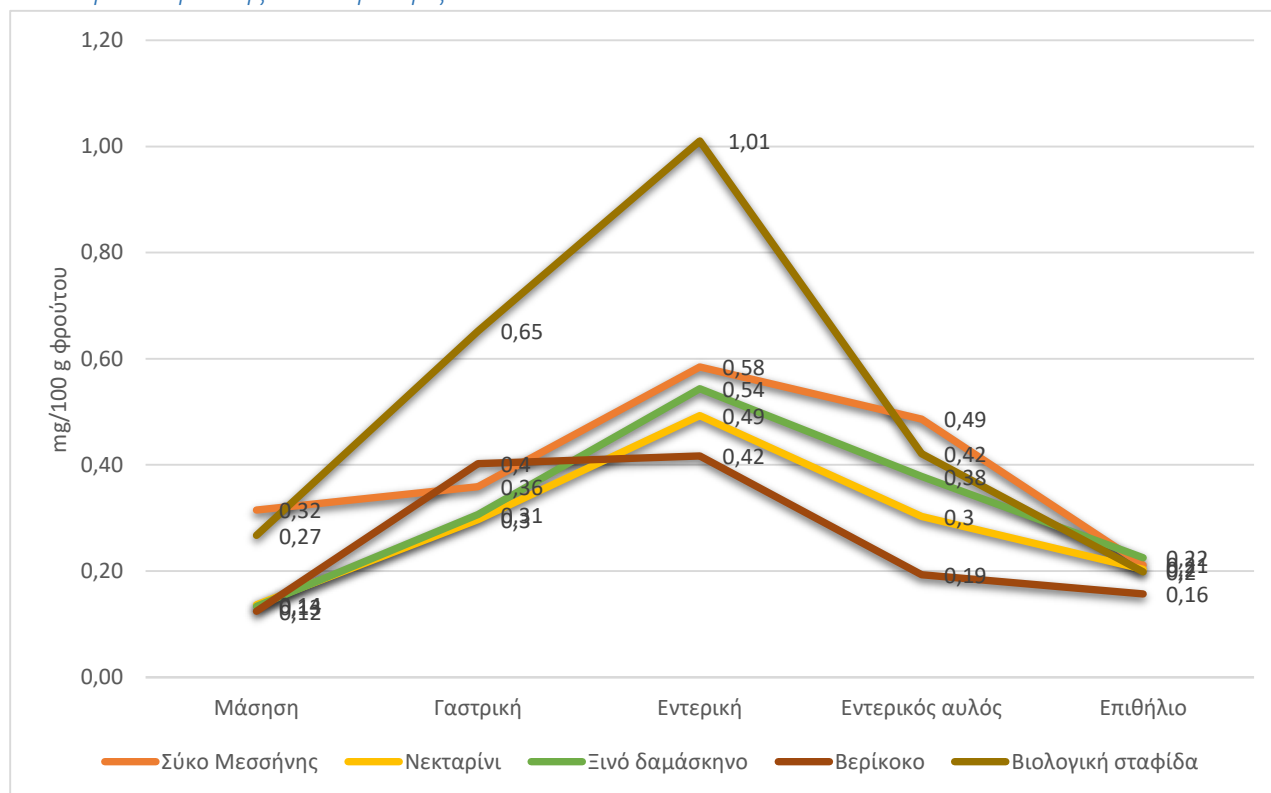
Ολικές φλαβόνες



Διάγραμμα 6. Ολικές φλαβόνες των αποξηραμένων φρούτων κατά την διαδικασία προσομοίωσης πέψης.

Οι τιμές εκφράζονται σε mg ισοδυνάμων ρουτίνης/100 g φρούτου.

Στο διάγραμμα φαίνεται ότι σε όλα τα αποξηραμένα φρούτα εντοπίστηκε σημαντική ποσότητα φλαβονών. Λόγω του γεγονότος ότι υπάρχουν σημαντικές διαφοροποιήσεις στην κατάταξη των φρούτων ως προς την ποσότητα φλαβονών σε κάθε φάση δεν είναι εύκολο να υπάρξει συνολική κατάταξη. Τα φρούτα είχαν σημαντική διαφορά στην αρχική ποσότητα βιοπροσβάσιμων φλαβονών κατά την μάσηση. Μάλιστα αυτά που είχαν τις μικρότερες ποσότητες ήταν αυτά που έδωσαν τις μεγαλύτερες βιοπροσβάσιμες ποσότητες σε επόμενες φάσεις. Τα περισσότερα φρούτα αύξησαν σημαντικά την βιοπροσβάσιμη ποσότητα φλαβονών στην γαστρική φάση με το σύκο Μεσσήνης να έχει την εντυπωσιακότερη αύξηση. Εξαιρέση αποτέλεσε το νεκταρίνι στο οποίο οι βιοπροσβάσιμες φλαβόνες μειώθηκαν κατά πολύ. Προχωρώντας από την γαστρική φάση στην εντερική η βιοπροσβάσιμη ποσότητα φλαβονών αυξήθηκε σημαντικά για όλα τα φρούτα με εξαίρεση τη βιολογική σταφίδα της οποίας η ποσότητα μειώθηκε ελαφρώς. Στον εντερικό αυλό, η βιοπροσβάσιμη ποσότητα φλαβονών φάνηκε σημαντικά αυξημένη συγκριτικά με αυτή της εντερικής φάσης για όλα τα φρούτα, γεγονός μη αναμενόμενο. Εντυπωσιακές αυξήσεις σημείωσε το βερίκοκο και το ξινό δαμάσκηνο, ενώ η αύξηση για την βιολογική σταφίδα ήταν μικρότερη. Τελικά για 4 από τα 5 φρούτα σημειώθηκε απορρόφηση φλαβονών από το επιθήλιο με την φθίνουσα σειρά να έχει ως εξής : βερίκοκο, βιολογική σταφίδα, ξινό δαμάσκηνο, σύκο Μεσσήνης.

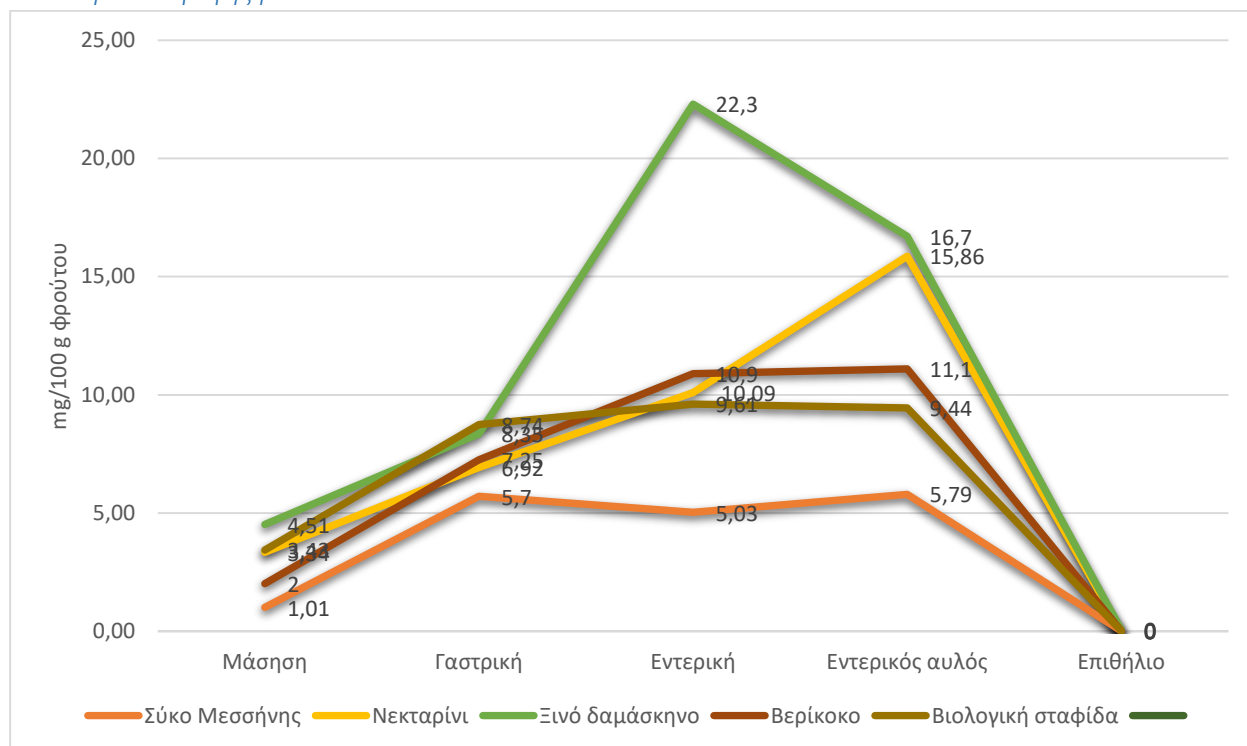


Διάγραμμα 7. Ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών (AA) των αποξηραμένων φρούτων κατά την διαδικασία προσομοίωσης πέψης.

Οι τιμές εκφράζονται σε mmol ισοδυνάμων Trolox/100 g φρούτου.

Στο διάγραμμα φαίνεται ότι όλα τα αποξηραμένα φρούτα μπόρεσαν να δεσμεύσουν ελεύθερες ρίζες σε όλες τις φάσεις. Τα αποξηραμένα φρούτα ως προς της ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών με φθίνουσα σειρά είναι : η βιολογική σταφίδα, το σύκο Μεσσήνης, το ξινό δαμάσκηνο, το νεκταρίνι και το βερίκοκο. Σε όλα τα φρούτα η ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών έχει κωδωνοειδή καμπύλη και παρουσιάζει τη μέγιστη τιμή στην εντερική φάση, ξεκινώντας από χαμηλή ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών κατά την μάσηση. Για τη βιολογική σταφίδα η τιμή της βιοπροσβασιμότητας στην εντερική φάση είναι πολύ υψηλότερη από αυτή των άλλων φρούτων. Το πιο ενδιαφέρον εύρημα ίσως είναι ότι στο διάλυμα που απορροφήθηκε από το επιθήλιο εντοπίζεται ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών σε τιμές συγκρίσιμες με αυτές κατά την μάσηση.

Ικανότητα αναγωγής μεταλλικών κατιόντων



Διάγραμμα 8. Ικανότητα αναγωγής μεταλλικών κατιόντων (PR) των αποξηραμένων φρούτων κατά την διαδικασία προσομοίωσης πέψης.

Οι τιμές εκφράζονται σε mg ισοδυνάμων ασκορβικού οξέος/100 g. φρούτου.

Στο διάγραμμα φαίνεται ότι όλα τα αποξηραμένα φρούτα μπόρεσαν να ανάξουν μεταλλικά κατιόντα μέχρι την φάση του εντερικού αυλού. Τα αποξηραμένα φρούτα ως προς της ικανότητα αναγωγής μεταλλικών κατιόντων με φθίνουσα σειρά είναι : το ξινό δαμάσκηνο, το νεκταρίνι, το βερίκοκο, η βιολογική σταφίδα και το σύκο Μεσσήνης. Σε όλα τα φρούτα η ικανότητα δέσμευσης μεταλλικών κατιόντων ξεκινάει με χαμηλές τιμές κατά την μάσηση και αυξάνεται σημαντικά κατά την γαστρική φάση. Κατά την εντερική φάση η ικανότητα δέσμευσης μεταλλικών κατιόντων του ξινού δαμάσκηνου αυξάνεται σημαντικά, ενώ για τα άλλα φρούτα οι αυξήσεις είναι πιο ήπιες, το σύκο Μεσσήνης καταγράφει μικρή μείωση. Στον εντερικό αυλό η ικανότητα δέσμευσης μεταλλικών κατιόντων του νεκταρινιού αυξάνεται σημαντικά και προσεγγίζει αυτή του ξινού δαμάσκηνου η οποία μειώνεται. Για τα υπόλοιπα φρούτα οι τιμές είναι παρόμοιες αυτών της εντερικής φάσης. Κανένα από τα φρούτα δεν εμφανίζει ανιχνεύσιμη ικανότητα δέσμευσης μεταλλικών κατιόντων στο επιθήλιο.

Αξιολόγηση αποτελεσμάτων - συζήτηση

Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε έδωσε αρκετά αποτελέσματα. Τα περισσότερα παρουσιάστηκαν και αναλύθηκαν παραπάνω. Μεταξύ των αποτελεσμάτων υπάρχουν αρκετά ενδιαφέροντα ευρήματα που θα ήταν χρήσιμο να συνοψιστούν σε αυτό το

σημείο. Από την αναζήτηση στην βιβλιογραφία βρέθηκε πολύ περιορισμένος αριθμός μελετών που έχουν εφαρμόσει *in vitro* προσομοίωση γαστρικής πέψης σε αποξηραμένα φρούτα. Η βασικότερη μελέτη η οποία έχει συγκρίσιμα αποτελέσματα με τα δικά μας για τα φρούτα σύκο, βερίκοκο, σταφίδα (αλλά σουλτανίνα) είναι αυτή των Capanoglu et. al. (2014) [54].

Για όλα τα αποξηραμένα φρούτα οι βιοπροσβάσιμες ολικές φαινολικές ενώσεις καθώς και οι υποκατηγορίες που μετρήσαμε (ολικές φλαβανόλες, ολικές φλαβόνες) ήταν εν γένει χαμηλές κατά την μάσηση. Θα μπορούσαμε να έχουμε κάνει απευθείας εξαγωγή φαινολικών ενώσεων από τα δείγματα μας ώστε να έχουμε την αρχική τιμή ως μέτρο σύγκρισης. Αυτό δεν έγινε λόγω ήδη μεγάλου όγκου του πειράματος. Όμως αυτά τα πειράματα, για τα συγκεκριμένα δείγματα φρούτων της μελέτης μας, έχουν λάβει χώρα στο πλαίσιο της πτυχιακής εργασίας της κ. Μαγγιώρου Ελένης η οποία είναι σε εξέλιξη. Λόγω της έλλειψης των αρχικών τιμών, ο σχολιασμός των αποτελεσμάτων ξεκινάει από την μάσηση. Κατά τη διαδικασία της προσομοίωσης πέψης η βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών ενώσεων αυξανόταν πολύ στην γαστρική φάση.

Κατά την εντερική φάση η ποσότητα βιοπροσβάσιμων φαινολικών ενώσεων αλλά και των υποκατηγοριών τους σε γενικές γραμμές μειωνόταν ή αυξανόταν ενώ κάποιες φορές παρέμεινε σταθερή. Η βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών ενώσεων στο έντερο είναι η σημαντικότερη γιατί εκεί ασκούν κυρίως την ευεργετική δράση τους και μπορούν να απορροφηθούν. Η μεταβολή από την γαστρική στην εντερική φάση εξαρτάται από το είδος των φαινολικών ενώσεων που μετρούνται κάθε φορά, αλλά όχι αποκλειστικά. Είδαμε ότι για ίδια κατηγορία φαινολικών ενώσεων οι τιμές στα διαφορετικά φρούτα μπορεί να αυξάνονταν ή να μειώνονταν κατά την εντερική φάση. Το τελικό αποτέλεσμα προέρχεται από την συνισταμένη δύο αντίρροπων δυνάμεων. Αφενός στο έντερο λόγω των παγκρεατικών ενζύμων απελευθερώνεται και γίνεται βιοπροσβάσιμη επιπλέον ποσότητα φαινολικών ενώσεων. Αφετέρου λόγω του ήπια αλκαλικού περιβάλλοντος σημαντική ποσότητα από τις ήδη βιοπροσβάσιμες από προηγούμενα στάδια φαινολικές ενώσεις καταστρέφεται. Στα αποτελέσματα του πειράματος η θεωρία αυτή φαίνεται να επιβεβαιώνεται καθώς σε γενικές γραμμές φάνηκε ότι όταν κάποιο δείγμα αύξανε κατά πολύ την βιοπροσβασιμότητα στην γαστρική φάση, κατά την εντερική φάση η βιοπροσβασιμότητα έμενε σταθερή ή μειωνόταν σημαντικά. Αντίθετα, φάνηκε ότι δείγματα που είχαν χαμηλή βιοπροσβασιμότητα κατά τις προηγούμενες φάσεις, μάλλον προστάτευαν τις φαινολικές ενώσεις που απελευθερώνονταν τελικά κατά την εντερική φάση.

Όπως ήταν αναμενόμενο οι ποσότητες φαινολικών ενώσεων που απορροφήθηκαν από το επιθήλιο ήταν πολύ μικρές, πολλές φορές ουσιαστικά κάτω του ορίου ανίχνευσης, όπως στις ολικές φλαβανόλες για όλα τα δείγματα. Ωστόσο υπήρξαν κάποια θετικά αποτελέσματα όπως

αυτά των ολικών φλαβονών, της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών ή του ολικού φαινολικού φορτίου της βιολογικής Κορινθιακής σταφίδας και του σύκου Μεσσήνης.

Όσον αφορά το σύκο Μεσσήνης, τη σταφίδα (Κορινθιακή ή σουλτανίνα) και το βερίκοκο, η Caranoglu και οι συνεργάτες της μέτρησαν ολικό φαινολικό φορτίο και αντιοξειδωτική ικανότητα με τις μεθόδους που χρησιμοποιήσαμε και εμείς, σε αντίστοιχες Τούρκικες ποικιλίες φρούτων. [55] Στα επίπεδα ολικού φαινολικού φορτίου οι τιμές που βρήκαν η Caranoglu και οι συνεργάτες της ήταν ασύγκριτα υψηλότερες από τις δικές μας, η διαφορά ήταν τέτοια που δεν μπορεί να εξηγηθεί λόγω διαφορετικών ποικιλιών φρούτων. Οι διαφορές στην αντιοξειδωτική ικανότητα τόσο με την μέθοδο δέσμευσης ελεύθερων ριζών όσο και με την μέθοδο αναγωγής μεταλλικών κατιόντων είναι ακόμα μεγαλύτερη. Ένας λόγος που εξηγεί αυτές τις διαφορές είναι ότι η ομάδα της Caranoglu λυοφιλοποίησε τα δείγματα της και έκανε το πείραμα της προσομοίωσης πέψης χρησιμοποιώντας τα δείγματα σε σκόνη.

Τέλος, θεωρώ ότι χρειάζεται να γίνει παραπάνω έρευνα στο κομμάτι της προσομοίωσης γαστρικής πέψης *in vitro*. Μέχρι στιγμής η βιβλιογραφία καλύπτει αρκετά το κομμάτι των νωπών συμβατικών φρούτων και λαχανικών καθώς και ροφημάτων. Ωστόσο υπάρχει μεγάλο κενό όσον αφορά τα σύνθετα τρόφιμα καθώς και τα επεξεργασμένα φρούτα και λαχανικά, όπως δηλαδή τα αποξηραμένα φρούτα. Επιπλέον, ενδιαφέρον θα μπορούσε να υπάρξει στην διερεύνηση των διαφορετικών καλλιεργητικών τεχνικών και συνθηκών. Τέλος, να αναφερθεί ότι τα αποτελέσματα από τις εργαστηριακές μετρήσεις θα πρέπει να συνδυαστούν με αυτά *in vivo* δοκιμών για να υπάρχει σφαιρικότερη και αντικειμενικότερη απόκτηση γνώσης σε αυτό το θέμα.

Βιβλιογραφία

- [1]: Vermerris W. , Nicholson R., Phenolic Compound Biochemistry (2006), Pages 1-34.
- [2]: Harborne J.B., Williams C.A., Advances in flavonoid research since 1992, Phytochemistry (2000), Pages 481-504.
- [3]: Tsao R., Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols, Nutrients (2010), Pages 1231-1246.
- [4]: Shahidi F., Ambigaipalan P., Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review, Journal of Functional Foods (2015), Pages 820-897.
- [5]: Naczk M., Shahidi F., Extraction and analysis of phenolics in food, Journal of Chromatography Volume 1054, Issues 1–2, 29 (2004), Pages 95–111.
- [6]: Cheynier V., Phenolic compounds: from plants to foods, Photochemistry Reviews (2012) Pages 153–177.
- [7]: Zobel A.M., Tomas-Barber F.A., Robbins R.J. (Eds.), Phytochemistry of Fruit and Vegetables, (1997), Pages 173–204.
- [8]: US Department of Agriculture, Agricultural Research Service USDA Database for the flavonoid content of selected foods, Release 3.0. (2011) <http://www.ars.usda.gov/nutrientdata/flav>
- [9]: Neveu V, Perez-Jimenez J, Vos F. et al Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. (2010).
- [10]: Quideau S, Deffieux D, Douat-Casassus C, Pouyse 'gu L Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. Angewandte Chemie International Edition (2011) Volume 50, Issue 3, Pages 586–621.
- [11]: Haminiuk C., Maciel G., Plata-Oviedo M.S.V, Peralta R.M., Phenolic compounds in fruits – an overview, International Journal of Food Science and Technology (2012), Volume 47, Pages 2023–2044.
- [12]: Shirley B.W., Flavonoids in seeds and grains: physiological function, agronomic importance and the genetics of biosynthesis, Seed Science Research (1998) Volume 8, Pages 415–422.
- [13]: Naczk M., Shahidi F., Review : Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis (2006) Volume 41, Pages 1523–1542.
- [14]: Akyol H., Riciputi Y., Capanoglu E., Caboni M.F., Verardo V., Phenolic Compounds in the Potato and Its Byproducts: An Overview International Journal of Molecular Science (2016), 17(3), 835.
- [15]: Xu B.J., Chang S.K.C., A Comparative Study on Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Legumes as Affected by Extraction Solvents, Journal of Food Science (2007) Volume 72, Issue 2, Pages 159–166.
- [16]: Chu Y.F., Sun J. , Wu X., Liu R.H., Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Vegetables Agric Journal of Food Chemistry (2002) Volume 50 (23), Pages 6910–6916.

- [17]: Alonso G., M., Teresa P., Buelga S., Gonzalo R., Evaluation of the antioxidant properties of fruits Food Chemistry (2004), Pages 13-18.
- [18]: Vinson J.A., Su X., Zubik L., Bose P., Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Fruits, Journal of Agriculture and Food Chemistry (2001), Volume 49 (11), Pages 5315–5321.
- [19]: Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganda G., Structure - Antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, Free Radical Biology & Medicine (1996) Vol. 20, No. 7, Pages 933-956.
- [20]: Martins N., Barros L., Ferreira I., In vivo antioxidant activity of phenolic compounds: Facts and gaps, Trends in Food Science & Technology 48 (2016) Pages 1-12.
- [21]: Mosele J.I., Macià A., Motilva M.J., Metabolic and Microbial Modulation of the Large Intestine Ecosystem by Non-Absorbed Diet Phenolic Compounds: A Review, Molecules (2015), Volume 20, Pages 17429-17468.
- [22]: Joven J., Micol V., Polyphenols and the Modulation of Gene Expression Pathways: Can We Eat Our Way Out of the Danger of Chronic Disease?, Critical Reviews in Food Science and Nutrition (2014), Volume 54 Pages 985–1001.
- [23]: Huerta O.D.R., Villaescusa B.P., Aguilera M, Gil A., A Systematic Review of the Efficacy of Bioactive Compounds in Cardiovascular Disease: Phenolic Compounds, Nutrients (2015), Volume 7, Pages 5177-5216.
- [24]: WHO Geneva <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs355/en/>, (Jan 2015).
- [25]: Aguilera Y., Cabrejas M.A.M., Mejia E.G., Phenolic compounds in fruits and beverages consumed as part of the mediterranean diet: their role in prevention of chronic diseases, Phytochemical Reviews (2016) Volume 5, Pages 405–423.
- [26]: U.S. Food and Drug Administration, Qualified Health Claims: Letter Responding to Health Claim Petition (2004), Green Tea and Reduced Risk of Cancer Health Claim (2011) (Docket number FDA-2004-Q-0427).
- [27]: Mejia E. G., Johnson MH, Anthocyanins from berries: chemistry and roles in inflammation and diabetes (2014). Nutraceuticals Fundam Foods, in Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), Developed under the Auspices of the UNESCO, Eolss Publishers, Paris, France, <http://www.eolss.net> Gonzalez CA, L.
- [28]: Janick, J., The origin of fruits, fruit growing, and fruit breeding. Plant Breeding Review (2005). Volume 25, Pages 255-320.
- [29]: Chiou A., Panagopoulou E. Karathanos V., Anthocyanins and other flavonoids in dried fruits of the Mediterranean area, Handbook of Anthocyanins (Editor: Leah M. Warner) Chapter 15.
- [30]: INC, World Nuts & Dried Fruits Trade Map 2014 - 2015, INC Statistics Database.
- [31]: Kalogeropoulos N., Chiou A., Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries, Food Chemistry (2010), Volume 121, Issue 3, 1, Pages 682–690.
- [32]: Calixto F.C., Serrano J, González I., Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet, Science direct, Food Chemistry (2007), Volume 101 Pages 492–501.

- [33]: Fernández-García E., Carvajal-Lérída I., Pérez-Gálvez A., In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency, Science direct, Nutrition Research (2009) Volume 29, Pages 751–760.
- [34]: Parada J., Aguilera J.M., Food Microstructure Affects the Bioavailability of Several Nutrients, Journal of Food Science (2007), Volume 72 Pages R21-R32.
- [35]: Southon S, Increased fruit and vegetable consumption: potential health benefits, Nutrition and Metabolic Cardiovascular Disease. (2001), Pages 78-81.
- [36]: Carbonell-Capella J.M., Buniowska M., Barba F.J., Esteve M.J., Frígola A., Analytical Methods for Determining Bioavailability and Bioaccessibility of Bioactive Compounds from Fruits and Vegetables: A Review, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety (2014), Volume 13 Pages 155-171.
- [37]: Scalbert A., Williamson G., Dietary intake and bioavailability of polyphenols. Journal of Nutrition (2000) Volume 130 Pages 2073S–2085S.
- [38]: Manach C., Scalbert A., Polyphenols: food sources and bioavailability, American Journal of Clinical Nutrition (2004), Volume 79 Pages 727–747.
- [39]: Gutiérrez-Grijalva E.P, Ambriz-Pérez D.L., Leyva-López N., Castillo-López R.I., Heredia J.B., Bioavailability of dietary phenolic compounds: Review, Nutrition and Human Diet, (2016), Volume 20(2) Pages 140 – 147.
- [40]: Palafox-Carlos H., Ayala-Zavala J.F., Gonzalez-Aguilar G.A., The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of Fruit and Vegetable Antioxidants, Journal of Food Science (2011) Volume 76, Pages R6-R15.
- [41]: Tagliazucchi D., In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols, Food Chemistry (2010), Volume 120 Pages 599–606.
- [42]: Correa-Betanzo J, Stability and biological activity of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) polyphenols during simulated in vitro gastrointestinal digestion, Food Chemistry (2014), Volume 165 Pages 522–531.
- [43]: Kamiloglu S., Pasli A.A., Influence of different processing and storage conditions on in vitro bioaccessibility of polyphenols in black carrot jams and marmalades, Food Chemistry (2015) Volume 186 Pages 74–82.
- [44]: Chen G.L., Chen S.G., Total phenolic contents of 33 fruits and their antioxidant capacities before and after in vitro digestion, Industrial Crops and Products 57 (2014) Pages 150–157.
- [45]: Kamiloglu S, Demirci M., Home processing of tomatoes (*Solanum lycopersicum*): effects on in vitro bioaccessibility of total lycopene, phenolics, flavonoids, and antioxidant capacity, Journal of Science and Food Agriculture (2014), Volume 94 Pages 2225–2233.
- [46]: Kamiloglu S., Capanoglu Esra, Investigating the in vitro bioaccessibility of polyphenols in fresh and sun-dried figs (*Ficus carica* L.), International Journal of Food Science and Technology (2013), Volume 48, Pages 2621–2629.
- [47]: McDougall, G.J., Dobson, P., Smith, P., Blake, A., & Stewart, D., Assessing potential bioavailability of raspberry anthocyanins using an in vitro digestion system. Journal of Agricultural and Food Chemistry (2005), Volume 53 Pages 5896-5904.

- [48]: Minekus M. et. al., A standardised static in vitro digestion method suitable for food - an international consensus., *Food Function* (2014), Volume 6 Pages 1113 – 1124.
- [49]: Arnous, A., Makris, D. P., & Kefalas, P., Correlation of Pigment and Flavanol Content with Antioxidant Properties in Selected Aged Regional Wines from Greece. *Journal of Food composition and Analysis* (2002), Volume 15, Pages 655 – 665.
- [50]: Nigel, C.W., & Glories, Y., Use of a modified dimethylaminocinnamaldehyde reagent for analysis of flavonols. *American Journal of Enology and Viticulture* (1991), Volume 42, Pages 364-366.
- [51]: Cvek, J., Medić-Šarić, M., Jasprica I., Zubčić, S., Vitali, D., Mornar, A., Vedrina-Dragojević, I., Tomić, S., Optimisation of an extract procedure and chemical characterisation of Croatian propolis tinctures. *Phytochemical Analysis* (2007), Volume 18, Pages 451-459.
- [52]: Villano, D., Fernandez-Pachon M.S., Moya M. L., Troncoso A.M., Garcia- Parilla M.C., Radical scavenging ability of phenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta* (2007), Volume 71, Pages 230–235.
- [53]: Makris D. P., Boskou G., Andrikopoulos N.K., Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* (2007), Volume 20(2), Pages 125-132.
- [54]: Kamiloglu S, Pasli A.A., Ozcelik B., Capanoglu E., Evaluating the in vitro bioaccessibility of phenolics and antioxidant activity during consumption of dried fruits with nuts, *Food Science and Technology* (2014), Volume 56 Pages 284-289.