



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ - ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Πολικές φαινολικές ενώσεις σε ξηρά φρούτα της Μεσογείου

Πτυχιακή εργασία

Μαγγιώρου Ελένη



Αθήνα, 2018



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ - ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Χίου Αντωνία (Επιβλέπουσα Καθηγήτρια)
Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής,
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Καλογερόπουλος Νικόλαος
Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής,
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Καραθάνος Βάιος
Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής,
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1) Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δεν 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.

Στους γονείς μου



«Η γνώση είναι δύναμη»

Francis Bacon, 1597

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια κ. Αντωνία Χίου για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε δίνοντάς μου την ευκαιρία να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον ερευνητικό θέμα καθώς και για τη συνεχή της καθοδήγηση.

Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω την Διδάκτορα Ειρήνη Παναγοπούλου για το αμείωτο ενδιαφέρον, τη συνεχή καθοδήγηση καθώς και τον πολύτιμο χρόνο που αφιέρωσε στην παρούσα μελέτη.

Ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω και στους κ. Νικόλαο Καλογερόπουλο και κ. Βάιο Καραθάνο για τη συμμετοχή τους στην Τριμελή Εξεταστική Επιτροπή αυτής της πτυχιακής εργασίας και τον πολύτιμο χρόνο που διέθεσαν.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου για την αγάπη τους και τη συνεχή υποστήριξή τους σε ό,τι κάνω.

Πίνακας Περιεχομένων

Περίληψη	9
Abstract	10
Κατάλογος Διαγραμμάτων	11
Κατάλογος Πινάκων	12
Κατάλογος Σχημάτων	13
Εισαγωγή: Γενικά - Ιστορική Αναδρομή	15
Θεωρητικό Μέρος	18
Κεφάλαιο 1 ^ο : Αποξηραμένα Φρούτα	18
1.1 Τα αποξηραμένα φρούτα στο παρόν	18
1.2 Μέθοδοι ξήρανσης	21
1.3 Σύσταση ξηρών φρούτων	24
Κεφάλαιο 2 ^ο : Πολικές Φαινολικές Ενώσεις	26
2.1 Ορισμός	26
2.2 Βιοσύνθεση πολικών φαινολικών ενώσεων	26
2.3 Ταξινόμηση πολικών φαινολικών ενώσεων	27
2.4 Πηγές πολικών φαινολικών ενώσεων	34
2.5 Μηχανισμοί δράσης πολικών φαινολικών ενώσεων στον ανθρώπινο οργανισμό ...	36
Κεφάλαιο 3 ^ο : Πολικές Φαινολικές Ενώσεις και Ξηρά Φρούτα	41
3.1 Περιεχόμενο νωπών και ξηρών φρούτων σε πολικά φαινολικά συστατικά	41
3.2 Επίδραση της ξήρανσης στα φαινολικά συστατικά	44
3.3 Βιοπροσβασιμότητα και βιοδιαθεσιμότητα φαινολικών ενώσεων	46
3.4 Ξηρά Φρούτα και Υγεία	49
Πειραματικό Μέρος	53
Σκοπός	53
Κεφάλαιο 4 ^ο : Πειραματικές διαδικασίες	54
4.1 Δείγματα και Δειγματοληψία	54
4.2 Παραλαβή φαινολικών συστατικών	54
4.3 Φασματοφωτομετρικοί προσδιορισμοί	56
4.3.1 Προετοιμασία φασματοφωτομετρικών προσδιορισμών	56
4.3.2 Προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου με τη δοκιμή Folin-Ciocalteu	57
4.3.3 Προσδιορισμός Ολικών Φλαβονολών	58

4.3.4 Προσδιορισμός Ολικών Φλαβονών/Φλαβονολών	60
4.3.5 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης <i>in vitro</i>	61
4.3.5.1 Ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών	61
4.3.5.2 Ικανότητα αναγωγής μεταλλικών κατιόντων.....	62
4.4 Προσδιορισμοί με χρήση Υγρής χρωματογραφίας Υψηλής Πίεσης (HPLC).....	63
4.4.1 Προσδιορισμός επιμέρους ανθοκυανινών	63
4.5 Στατιστική Ανάλυση	64
Κεφάλαιο 5 ^ο : Αποτελέσματα	65
5.1 Αποτελέσματα - Συζήτηση	65
5.2 Συμπέρασμα	74

Περίληψη

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη πραγματεύεται το θέμα του περιεχομένου φαινολικών ενώσεων σε παραδοσιακά αποξηραμένα ελληνικά φρούτα.

Τα αποξηραμένα φρούτα αποτελούν από την αρχαιότητα σημαντικό κομμάτι της διατροφής των ανθρώπων. Στην Ελλάδα, μάλιστα, αποτελούν παραδοσιακά προϊόντα στενά συνδεδεμένα με τα ήθη και τα έθιμα ενώ η ξήρανση στον ήλιο αποτελεί την αρχαιότερη και απλούστερη μέθοδο αφυδάτωσης των τροφίμων.

Η παγκόσμια παραγωγή αποξηραμένων φρούτων φαίνεται να αυξάνεται τα τελευταία χρόνια τόσο λόγω των πλεονεκτημάτων που προσφέρουν έναντι των αντίστοιχων φρέσκων (μεγαλύτερος χρόνος συντήρησης, μειωμένο κόστος) όσο και επειδή αποτελούν συμπυκνωμένες μορφές θρεπτικών συστατικών.

Στα αποξηραμένα φρούτα αποδίδονται σήμερα πολλές ωφέλιμες δράσεις για την υγεία μεγάλο μέρος των οποίων αποδίδεται στις φαινολικές ενώσεις που περιέχουν. Περισσότερες από 8000 φαινολικές δομές είναι γνωστές μέχρι στιγμής.

Οι φαινολικές ενώσεις αποτελούν δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών που κατατάσσονται στις εξής επιμέρους ομάδες: φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή, στυλβένια, κουμαρίνες, λιγνάνες και ταννίνες.

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η αξιολόγηση αποξηραμένων φρούτων που παράγονται και ξηραίνονται παραδοσιακά στην Ελλάδα ως προς το περιεχόμενό τους σε πολικές φαινολικές ενώσεις (βερίκοκα, βύσσина, δαμάσκηνα, κεράσια, νεκταρίνια, ροδάκινα, σύκα). Πιο συγκεκριμένα, προσδιορίστηκε το ολικό φαινολικό περιεχόμενο, το ολικό περιεχόμενο σε φλαβανόλες και φλαβόνες/φλαβονόλες, το περιεχόμενο σε επιμέρους ανθοκυανίνες καθώς και η αντιοξειδωτική ικανότητα *in vitro* βάσει της ικανότητας αναγωγής μεταλλικών κατιόντων και δέσμευσης ελευθέρων ριζών.

Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν πως υπάρχουν σημαντικές ποσότητες φαινολικών ενώσεων στα αποξηραμένα φρούτα, με το βύσσινο να κυριαρχεί σε όλες τις επιμέρους μετρήσεις καθώς και στην αντιοξειδωτική ικανότητα *in vitro* των ενώσεων αυτών. Ενδεικτικά, το ολικό φαινολικό περιεχόμενο του βύσσινου ανέρχεται στα 551.4 ± 27.1 mg GAE/100g. Ακόμη αναδείχθηκαν οι διαφορές στα αποτελέσματα ανάμεσα σε διαφορετικά φρούτα καθώς και ανάμεσα σε διαφορετικά είδη φαινολικών ενώσεων.

Λέξεις κλειδιά: αποξηραμένα/ ξηρά φρούτα, ξήρανση στον ήλιο, φαινολικές ενώσεις, φαινολικό περιεχόμενο, αντιοξειδωτική δράση

Abstract

This diploma thesis' objective is to evaluate the phenolic content in traditional dried Greek fruits.

Dried fruits are since antiquity an important part of human's diet. In fact, in Greece dried fruits are considered traditional products closely related to Greek customs, while sun-drying is supposed to be the oldest and simplest method of food dehydration.

World production of dried fruits seems to have increased in recent years, both because of the advantages they offer compared to the fresh ones (longer maintenance time, reduced cost) and their high concentration in nutrients.

Nowadays, many beneficial health effects are attributed to dried fruits, many of which are attributed to the phenolic compounds they contain. More than 8000 phenolic structures are known so far.

Phenolic compounds are secondary metabolites of plants classified in the following sub-groups: phenolic acids, flavonoids, stilbenes, coumarins, lignans and tannins.

The purpose of this diploma thesis is to evaluate dried fruits that are produced and traditionally dried in Greece, in terms of their content in polar phenolic compounds (apricots, sour cherries, prunes, cherries, nectarines, peaches, figs). More specifically the total phenolic content, total content in flavanols and flavones/flavonols and the content in some specific anthocyanins were determined, as well as the *in vitro* antioxidant capacity based on metal cation reduction and free radicals binding.

The results of the experiments have shown that dried fruits contain significant amounts of phenolic compounds, with sour cherries dominating all the individual measurements. For example, the total phenolic content of sour cherries was found 551.4 ± 27.1 mg GAE/100g. The differences in the results between different fruits and different types of phenolic compounds were also revealed.

Keywords: dried fruits, sun-drying, phenolic compounds, phenolic content, antioxidant capacity

Κατάλογος Διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1.1. Παγκόσμια παραγωγή αποξηραμένων φρούτων (τόνοι).....	20
--	----

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1.1. Στοιχεία έκτασης και παραγωγής ξηρών σύκων 2014	20
Πίνακας 1.2. Σύσταση ξηρών φρούτων σε μακροθρεπτικά συστατικά	24
Πίνακας 1.3. Σύσταση φρέσκων φρούτων σε μακροθρεπτικά συστατικά	25
Πίνακας 2.1. Τάξεις φαινολικών ενώσεων	28
Πίνακας 2.2. Παραδείγματα υδροξυ-βενζοϊκών οξέων	29
Πίνακας 2.3. Παραδείγματα υδροξυ-κινναμωμικών οξέων	30
Πίνακας 2.4. Χημικές δομές ανθοκυανιδινών.....	32
Πίνακας 5.1. Φασματοφωτομετρικοί Προσδιορισμοί	66
Πίνακας 5.2. Αντιοξειδωτική Δράση in vitro	68
Πίνακας 5.3. Προσδιορισμός επιμέρους ανθοκυανινών	70
Πίνακας 5.4. Ολικό φαινολικό περιεχόμενο σε ποσότητες αποξηραμένων φρούτων που αντιστοιχούν σε ένα ισοδύναμο φρούτου	75

Κατάλογος Σχημάτων

Σχήμα 2.1. Μονο-υδροξυ-βενζόλιο ή Καρβολικό οξύ - Η πιο απλή Φαινόλη.....	26
Σχήμα 2.2. Μονοπάτια σύνθεσης φαινολικών ενώσεων	27
Σχήμα 2.3. Ταξινόμηση Φαινολικών Αντιοξειδωτικών Ενώσεων	28
Σχήμα 2.4. Γενική δομή υδροξυ-βενζοϊκών οξέων	29
Σχήμα 2.5. Γενική δομή υδροξυ-κινναμωμικών οξέων	30
Σχήμα 2.6. Δομή σκελετού κύριων τάξεων φλαβονοειδών	30
Σχήμα 2.7. Χημική δομή ισοραμνετίνης	31
Σχήμα 2.8. Γενική δομή ανθοκυανιδινών	32
Σχήμα 2.9. Χημική δομή σεκοϊσολαρικρετινόλης	33
Σχήμα 3.1. Σχέση Βιοδιαθεσιμότητας, Βιοπροσβασιμότητας και Βιοδραστικότητας	47
Σχήμα 5.1. - Χρωματογράφημα 1: Πρότυπο ανθοκυανινών.....	71
Σχήμα 5.2. - Χρωματογράφημα 2: Αποξηραμένο Βύσσινο	71
Σχήμα 5.3. - Χρωματογράφημα 3: Αποξηραμένο Μαύρο Κεράσι	71
Σχήμα 5.4. - Χρωματογράφημα 4: Αποξηραμένο Ξανθό Κεράσι.....	71
Σχήμα 5.5. - Χρωματογράφημα 5: Πρότυπο ανθοκυανινών.....	72
Σχήμα 5.6. - Χρωματογράφημα 6: Αποξηραμένο Γλυκόξινο Δαμάσκηνο.....	72
Σχήμα 5.7. - Χρωματογράφημα 7: Αποξηραμένο Ξινό Δαμάσκηνο.....	72
Σχήμα 5.8. - Χρωματογράφημα 8: Πρότυπο ανθοκυανινών.....	73
Σχήμα 5.9. - Χρωματογράφημα 9: Αποξηραμένο Νεκταρίνι.....	73
Σχήμα 5.10. - Χρωματογράφημα 10: Αποξηραμένο Ροδάκινο	73
Σχήμα 5.11. - Χρωματογράφημα 11: Αποξηραμένο Βερίκοκο.....	73
Σχήμα 5.12. - Χρωματογράφημα 12: Πρότυπο ανθοκυανινών.....	74
Σχήμα 5.13. - Χρωματογράφημα 13: Αποξηραμένο Λευκά Σύκα που έχουν υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό	74

Συντομογραφίες

GAE	Ισοδύναμα Γαλλικού Οξέος
CTE	Ισοδύναμα Κατεχίνης
RE	Ισοδύναμα Ρουτίνης
CyGE	Ισοδύναμα Γλυκοζίτη Κυανιδίνης
TRE	Ισοδύναμα Trolox
AAE	Ισοδύναμα Ασκορβικού Οξέος
SOD	Δισμουτάση Υπεροξειδίου
CAT	Καταλάση
GSH-Px	Υπεροξειδάση της Γλουταθειόνης
SCFAs	Λιπαρά Οξέα Βραχείας Αλύσου
FC	Folin-Ciocalteu
DMACA	π-διμεθυλαμινοκινναμωμική αλδεΰδη
DPPH	2,2-διφαινυλο-1-πικρυλο-υδραζυλο ελεύθερη ρίζα
TPTZ	Τριπυρίδυλο-τριαζίνη

Εισαγωγή: Γενικά - Ιστορική Αναδρομή

Τα φρούτα φαίνεται να έχουν μακρά παράδοση στην διατροφή των ανθρώπων καθώς η γεωργία οπωροφόρων δέντρων ήταν πολύ διαδεδομένη από την αρχαιότητα. Κείμενα των Ασσυρίων και των Βαβυλωνίων και γραπτά κλασσικών συγγραφέων κάνουν αναφορά στους χουρμάδες, τα σύκα, τα μήλα, το ρόδι, τα κυδώνια, το κίτρο και τον λωτό ενώ και η Βίβλος αναφέρει τα σύκα αρκετές φορές (Giugliano, Sedge, & Sepe, 2000).

Τα αποξηραμένα φρούτα αποτελούσαν επίσης από την αρχαιότητα πολύ σημαντικό κομμάτι της ανθρώπινης διατροφής καθώς υπάρχουν ιστορικά αρχεία από τη Μεσοποταμία που χρονολογούνται σχεδόν από το 1700 π.Χ. ενώ και τα γεύματα των αρχαίων Ελλήνων συνήθως τελείωναν με επιδόρπιο που περιελάμβανε είτε φρέσκα είτε αποξηραμένα φρούτα, κυρίως σύκα και σταφύλια (A Chiou, Panagoroulou, & Karathanos, 2015; Giugliano et al., 2000). Στην ευρύτερη περιοχή της Μεσογείου, τα αποξηραμένα φρούτα όπως οι σταφίδες, τα δαμάσκηνα και τα σύκα χρησιμοποιούνται συμπληρωματικά με το μέλι ως γλυκαντικά μέσα.

- Αποξηραμένα Βερίκοκα

Τα βερίκοκα (*Prunus armeniaca* L.) ανήκουν στην οικογένεια Rosaceae και πιο συγκεκριμένα στην υπο-οικογένεια Prunoidae (Čanadanović-Brunet, Vulić, Četković, Djilas, & Šaponjac, 2013). Έχουν κίτρινο χρώμα με κοκκινωπή επικάλυψη κατά τόπους και γλυκιά γεύση (Alasalvar & Shahidi, 2013). Η προέλευση των βερίκοκων αμφισβητείται. Ήταν γνωστά στην Αρμενία από την αρχαιότητα, ενώ υπάρχουν και άλλα συγγενικά είδη όπως το *Prunus brigantiae* που προέρχεται από τη Γαλλία και την Ιταλία (A Chiou et al., 2015). Τα βερίκοκα έχει βρεθεί ότι καλλιεργούνταν πριν από περισσότερα από 5000 χρόνια στην περιοχή του Ιράν, του Τουρκιστάν, του Αφγανιστάν, της Μέσης Ασίας και της Δυτικής Κίνας ενώ σήμερα το μεγαλύτερο ποσοστό βερίκοκων παγκοσμίως παράγεται σε χώρες γύρω από τη Μεσόγειο θάλασσα όπως η Τουρκία, η Ισπανία, η Ιταλία, η Γαλλία και η Ελλάδα (Alasalvar & Shahidi, 2013).

- Αποξηραμένα Βύσσινα και Κεράσια

Τα κεράσια (*Prunus* spp.) αποτελούν μέλη της οικογένειας των πυρηνόκαρπων φρούτων Rosaceae. Ανήκουν στο γένος *Prunus* και στα υπογένη *Cerasus* και *Padus* και αποτελούνται από εκατοντάδες είδη τα οποία ταξινομούνται βάσει του τύπου ταξιανθίας τους σε δύο ομάδες:

corymb και racemosa. Από τα σημαντικότερα είδη στην ταξιανθία corymb του υπογένους *Cerasus* είναι τα *Prunus avium* L., γνωστά ως «γλυκά κεράσια» και τα *Prunus cerasus* L., γνωστά ως βύσσина. Οι ποικιλίες του βύσσινου διαιρούνται σε 3 κύριες ομάδες βάσει των χαρακτηριστικών του καρπού: κεράσια Kentish, morellos και marasca (Ferretti, Bacchetti, Belleggia, & Neri, 2010). Τα γλυκά κεράσια φύονται στην Ευρώπη και τη δυτική Ασία ενώ τα βύσσина θεωρείται πως προέρχονται από τα βουνά του Καυκάσου, την ανατολική Ευρώπη και την Ανατολία (A Chiou et al., 2015).

- Αποξηραμένα Δαμάσκηνα

Τα δαμάσκηνα (*Prunus domestica* L.) καλλιεργούνταν από την αρχαιότητα κοντά στα βουνά του Καυκάσου, στην περιοχή που συνορεύει με την Κασπία θάλασσα και θεωρείται ότι προέκυψαν από δύο ακόμη αρχαιότερα άγρια είδη δαμάσκηνων: *Prunus cerasifera* Ehrh. και *Prunus spinosa* L (Maria Stacewicz-Sapuntzakis, Bowen, Hussain, Damayanti-Wood, & Farnsworth, 2001). Τα αποξηραμένα δαμάσκηνα παράγονται από διάφορες Ευρωπαϊκές ποικιλίες όπως d'Agen από τη Γαλλία, Sugar από την Ιταλία και President, καθώς και από ποικιλίες της Μέσης Ανατολής (M. Stacewicz-Sapuntzakis, 2013).

- Αποξηραμένα Νεκταρίνια και Ροδάκινα

Τα ροδάκινα (*Prunus persica*) ανήκουν στο γένος *Prunus* της οικογένειας Rosaceae, έχουν ροζ άνθη και χυμώδες, γλυκό καρπό και κατατάσσονται στην κατηγορία των πυρηνόκαρπων φρούτων (Siddiq, Liavoga, & Greiby, 2012). Αυτός ο καρπός προήλθε αρχικά από την Κίνα, αργότερα έγινε γνωστός στην Περσία, τη σημερινή χώρα του Ιράν, από όπου και εισήχθη στην Ελλάδα και διαδόθηκε σε ολόκληρη την Ευρώπη ενώ οι Ισπανοί ήταν αυτοί που έφεραν διάφορες ποικιλίες ροδάκινου στη Νότιο Αμερική. Αν και εμπορεύονται ως διαφορετικά φρούτα τα ροδάκινα και τα νεκταρίνια ανήκουν στο ίδιο είδος, έχουν είτε λευκή είτε κίτρινη σάρκα και υπάρχουν πολυάριθμες διαφορετικές ποικιλίες (A Chiou et al., 2015; Siddiq et al., 2012). Τα νεκταρίνια μπορούν να διακριθούν από τα ροδάκινα από την υφή της φλούδας τους καθώς είναι πιο λεία ενώ αντίθετα τα ροδάκινα έχουν χνουδωτή ή βελούδινη υφή. Η έλλειψη της χνουδωτής υφής στο νεκταρίνι οφείλεται σε ένα μόνο γονίδιο (Alasalvar & Shahidi, 2013; Siddiq et al., 2012).

- Αποξηραμένα Σύκα

Τα σύκα (*Ficus carica* L.) ανήκουν στο γένος *Ficus* της οικογένειας Moraceae. Είναι ευρέως διαδεδομένα τόσο φρέσκα όσο και ξηρά και καλλιεργούνται κυρίως σε ζεστό και ξηρό κλίμα. Προέρχονται από την νοτιοδυτική Ασία και την ανατολική Μεσόγειο και αποτελούν ένα από τα πρώτα φυτά που καλλιέργησε ο άνθρωπος (Alasalvar & Shahidi, 2013; Mawa, Husain, & Jantan, 2013).

Συνεχώς αυξανόμενα δεδομένα δείχνουν πως δίαιτες πλούσιες σε φυτικά τρόφιμα δρουν προστατευτικά έναντι μιας μεγάλης ποικιλίας ασθενειών. Αυτές οι προστατευτικές ιδιότητες αποδίδονται κυρίως στην παρουσία βιοδραστικών φυτοχημικών στα οποία συμπεριλαμβάνονται και οι φαινολικές ενώσεις, ο προσδιορισμός των οποίων αποτελεί και τον σκοπό αυτής της πτυχιακής μελέτης (Martins, Barros, & C.F.R.Ferreira, 2016).

Θεωρητικό Μέρος

Κεφάλαιο 1^ο: Αποξηραμένα Φρούτα

1.1 Τα αποξηραμένα φρούτα στο παρόν

Η ξήρανση θεωρείται από τις παλαιότερες τεχνικές για την συντήρηση των τροφίμων, καθιστώντας τα διαθέσιμα όλες τις εποχές (Lacey, 1994). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα περισσότερα φρέσκα φρούτα που παράγονται σε εποχιακή βάση και συνεπώς δεν είναι διαθέσιμα καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου. Γι' αυτόν ακριβώς το λόγο επεξεργάζονται με διάφορες τεχνικές ώστε να αποξηραθούν και έτσι να παραταθεί ο χρόνος ζωής τους (Chang, Alasalvar, & Shahidi, 2016). Εκτός αυτού όμως, τα αποξηραμένα φρούτα παρέχουν επιπλέον πλεονεκτήματα που απορρέουν από το μειωμένο βάρος και τον μειωμένο όγκο τους καθώς η συσκευασία, η αποθήκευση, η μεταφορά και η διανομή τους έχουν μικρότερο κόστος σε σχέση με τα φρέσκα φρούτα, ενώ οι ίδιοι αυτοί παράγοντες διευκολύνουν την κατανάλωσή τους (A Chiou et al., 2015).

Η παγκόσμια παραγωγή αποξηραμένων φρούτων για το έτος 2013 έχει υπολογιστεί πως ξεπέρασε τους 7.5 εκατομμύρια τόνους. Παρακάτω θα αναφερθούμε σε ορισμένα στατιστικά στοιχεία για την παγκόσμια και εγχώρια παραγωγή και κατανάλωση των αποξηραμένων φρούτων που πραγματεύεται αυτή η πτυχιακή εργασία, που καταδεικνύουν το πόσο σημαντικό κομμάτι της διατροφής αποτελούν ακριβώς λόγω των παραπάνω πλεονεκτημάτων τους αλλά και των οφελών που προσφέρουν στην υγεία.

- Αποξηραμένα Βερίκοκα

Την περίοδο 2016/2017 η παγκόσμια παραγωγή αποξηραμένων βερίκοκων έφτασε τους 169.450 τόνους. Η Τουρκία που αποτελεί την πρώτη χώρα στην παραγωγή αποξηραμένου βερίκοκου παρουσίασε την μεγαλύτερη αύξηση στην παραγωγή της (22% σε σχέση με την περίοδο 2015/2016), το Ιράν, η δεύτερη σε σειρά χώρα παραγωγής διατήρησε παρόμοια επίπεδα και η Κίνα που είναι η τρίτη σε παραγωγή χώρα κατάφερε αύξηση της τάξης του 20% (INC, 2017).

Στην Ελλάδα, η βερικοκιά καλλιεργείται κυρίως στη Στερεά Ελλάδα, την Εύβοια, την Πελοπόννησο, τη Θεσσαλία και τη Μακεδονία και παράγονται περίπου 75.000 τόνοι βερικοκά τα οποία καταναλώνονται φρέσκα, κονσερβοποιημένα ή αποξηραμένα (ΥΑΑΤ, 2013).

- Κεράσια και Βύσσινα

Δεδομένα του 2008 δείχνουν την Τουρκία ως την κύρια χώρα παραγωγής κερασιών (338.361 τόνοι), ακολουθούμενη από τις Η.Π.Α (225.073 τόνοι). Πιο συγκεκριμένα, για την κατηγορία του βύσσινου η Πολωνία ήταν η κύρια παραγωγός χώρα (201.681 τόνοι) ακολουθούμενη από την Τουρκία (185.435 τόνοι). Στις Η.Π.Α η κύρια Πολιτεία παραγωγής βύσσινου είναι το Μίσιγκαν ενώ γλυκού κερασιού η Ουάσινγκτον (Alasalvar & Shahidi, 2013).

- Αποξηραμένα Δαμάσκηνα

Περίπου το 40% της παραγωγής αποξηραμένων δαμάσκηνων προήλθε την περίοδο 2016/2017 από τη Χιλή ενώ άλλες χώρες που παρήγαγαν σημαντικές ποσότητες ήταν η Γαλλία και οι Η.Π.Α, με την παγκόσμια παραγωγή να φτάνει τους 180.180 τόνους (INC, 2017).

- Ροδάκινα και Νεκταρίνια

Η παγκόσμια παραγωγή ροδάκινου και νεκταρινιού έχει παραμείνει σχετικά σταθερή τα τελευταία χρόνια. Την περίοδο 2004 - 2008 κυμαινόταν μεταξύ 16.71 και 18.43 εκατομμύρια τόνους με την Κίνα να συμβάλλει περίπου το 45%. Άλλες χώρες που παράγουν ροδάκινα και νεκταρίνια είναι η Ιταλία, οι Η.Π.Α, η Ισπανία και η Ελλάδα (Siddiq et al., 2012).

- Αποξηραμένα Σύκα

Η παγκόσμια παραγωγή αποξηραμένων σύκων έφτασε την περίοδο 2016/2017 τους 139.500 τόνους με την Τουρκία να συμβάλλει το 55% της παραγωγής. Ακολουθούν το Ιράν και οι Η.Π.Α συμβάλλοντας το 17% και 7% της παγκόσμιας παραγωγής, αντίστοιχα (INC, 2017).

Στην Ελλάδα σήμερα παράγονται περίπου 5.500 τόνοι αποξηραμένα σύκα. Οι κύριοι νομοί παραγωγής είναι οι: Μεσσηνίας, Λακωνίας, Αρκαδίας και Εύβοιας ενώ σημαντικό μέρος της παραγωγής (περίπου 3.500 τόνοι) διακινείται σε διάφορες χώρες τόσο της Ευρωπαϊκής Ένωσης όσο και τρίτες χώρες (π.χ. Η.Π.Α, Καναδάς, Αυστραλία).

Στην αγορά κυκλοφορούν δύο κυρίως τύποι αποξηραμένων σύκων:

α. ο φυσικός τύπος που έχει ανοιχτό καφέ χρώμα, πλούσιο μελίτωμα και γλυκιά φρουτώδη γεύση και

β. ο λευκασμένος τύπος που παράγεται αφού ο καρπός υποστεί θείωση με SO₂ πριν την ξήρανση με αποτέλεσμα ο φλοιός να λευκαίνεται και να αποκτά όξινη γεύση.

Από τα αποξηραμένα σύκα που κυκλοφορούν στην αγορά, αναγνωρισμένα με Προστατευμένη Ονομασία Προέλευσης είναι:

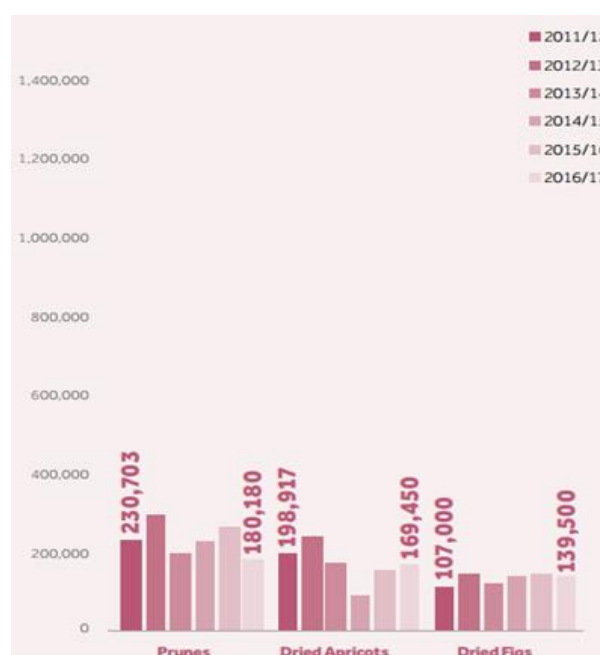
- Τα ξηρά σύκα Κύμης: Χαρακτηριστικό των σύκων αυτών είναι ότι πριν τοποθετηθούν στον ήλιο για ξήρανση σχίζονται και ανοίγονται και αφού τελειώσει η διαδικασία ξήρανσης κλείνονται ξανά τα δύο σε ένα και προκύπτει η "ασκάδα".
- Τα ξηρά σύκα Ταξιάρχη

Στον πίνακα 1.1 φαίνονται ορισμένα στοιχεία για την έκταση της καλλιέργειας σύκων καθώς και την ποσότητα παραγωγής τους το έτος 2014 (ΥΑΑΤ, 2016).

Πίνακας 1.1. Στοιχεία έκτασης και παραγωγής ξηρών σύκων 2014 (ΥΑΑΤ, 2016)

Νομός	Καλλιεργηθείσα έκταση (στρέμματα)	Ποσότητα Τελικών Προϊόντων (τόνοι)
Μεσσηνίας	9.000	2.220
Εύβοιας	12.000	1.727
Σύνολο	21.000	3.947

Στο διάγραμμα 1.1 φαίνεται η παγκόσμια παραγωγή ορισμένων σημαντικών αποξηραμένων φρούτων την τελευταία εξαετία.



Διάγραμμα 1.1. Παγκόσμια παραγωγή αποξηραμένων φρούτων (τόνοι) (INC, 2017)

1.2 Μέθοδοι ξήρανσης

Ο όρος ξήρανση αναφέρεται στην απομάκρυνση της υγρασίας από ένα υλικό. Όπως προαναφέρθηκε, εκτός της παράτασης της συντήρησης που επιτυγχάνεται λόγω της μείωσης της μικροβιακής δραστηριότητας, το μειωμένο βάρος και ο ελαττωμένος όγκος των αφυδατωμένων προϊόντων μειώνουν επίσης το κόστος συσκευασίας, διαχείρισης και μεταφοράς τους (Omolola, Jideani, & Kapila, 2017).

Οι βασικές μέθοδοι αφυδάτωσης των τροφίμων είναι:

α) η εφαρμογή θερμότητας και

β) η οσμωτική αφυδάτωση όπου το προς αφυδάτωση προϊόν τοποθετείται σε υπέρτονο υδατικό διάλυμα για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, με αποτέλεσμα τη μεταφορά νερού από το προϊόν στο υπέρτονο διάλυμα και την αντίστοιχη διάχυση διαλυμένων ουσιών από το διάλυμα στο προϊόν.

Στην αφυδάτωση των τροφίμων με εφαρμογή θερμότητας διακρίνουμε τις εξής επιμέρους διαδικασίες: α) ξήρανση στον ήλιο, β) έκθεση του προϊόντος σε ρεύμα θερμού αέρα, γ) επαφή του προϊόντος με θερμή επιφάνεια, δ) έκθεση του προϊόντος σε μικροκύματα ή υπέρυθρη ακτινοβολία, ε) λυοφιλίωση κ.ά. (Μπλούκας, 2004).

Κάθε προϊόν διατροφής μπορεί να ξηραίνεται με διαφορετικό τρόπο χρησιμοποιώντας κατάλληλα βήματα πριν και μετά την επεξεργασία όπως οσμωτική αφυδάτωση, ζεμάτισμα, αλάτισμα και μούλιασμα σε διάφορα διαλύματα, μαζί με κατάλληλο τύπο ξηραντήρα καθώς η προεργασία έχει ιδιαίτερη σημασία στη μείωση του χρόνου ξήρανσης και την παραγωγή προϊόντων καλύτερης ποιότητας (A Chiou et al., 2015). Η επιλογή της πλέον κατάλληλης μεθόδου για την αφυδάτωση ενός συγκεκριμένου προϊόντος γίνεται με αξιολόγηση διαφόρων παραγόντων, οι σπουδαιότεροι από τους οποίους είναι: η φύση του προϊόντος, οι επιθυμητές ιδιότητες που πρέπει να έχει, η ευαισθησία του προϊόντος στη θέρμανση, το είδος των προκατεργασιών που απαιτούνται για την αφυδάτωση, το κόστος εξοπλισμού και οι επιδράσεις στο περιβάλλον από τη συγκεκριμένη μέθοδο (Μπλούκας, 2004).

Τα φρούτα μπορούν να αποξηραθούν τόσο ολόκληρα (π.χ., σταφύλια, βατόμουρα, βερίκοκα και δαμάσκηνα) όσο και μετά από τεμαχισμό (π.χ., μάνγκο, παπάγια και ακτινίδια) ενώ

ορισμένες φυσικές μεταβολές που μπορούν να προκύψουν κατά την ξήρανσή τους είναι η συρρίκνωση και η κρυστάλλωση. Κατά περίπτωση μπορεί να προκύψουν επίσης επιθυμητές ή ανεπιθυμητές χημικές και βιοχημικές αντιδράσεις που οδηγούν σε μεταβολές του χρώματος, της υφής, της οσμής ή άλλων ιδιοτήτων τους (Chang et al., 2016; Omolola et al., 2017).

Στις περισσότερες περιπτώσεις τα αποξηραμένα φρούτα της Μεσογείου παράγονται με απλή ξήρανση με απευθείας έκθεση στον ήλιο ή σε ξηραντήρες θερμού αέρα. Υπάρχουν βέβαια και άλλοι τρόποι παραγωγής αποξηραμένων φρούτων όπως η έγχυση γλυκαντικής ύλης στο φρέσκο φρούτο πριν την ξήρανσή του - π.χ., cranberries και βατόμουρα - ενώ διάφορα φρούτα του εμπορίου που πωλούνται ως αποξηραμένα μπορεί να είναι «ζαχαρωμένα» (τύπου γλασέ) (A Chiou et al., 2015).

Παρακάτω θα αναφερθούν συνοπτικά ορισμένες από τις ευρύτερα χρησιμοποιούμενες μεθόδους ξήρανσης των φρούτων (Kamiloglu et al., 2016), με έμφαση στην ηλιακή ξήρανση που είναι η μέθοδος ξήρανσης των φρούτων που πραγματεύεται η παρούσα πτυχιακή μελέτη.

- Κατά την αφυδάτωση των τροφίμων σε ρεύμα θερμού αέρα γίνεται εισαγωγή του αέρα που έχει θερμανθεί κατάλληλα σε ξηραντήρες που λειτουργούν σε ατμοσφαιρική πίεση. Έτσι ο θερμός αέρας έρχεται σε άμεση επαφή με το προϊόν και του μεταδίδει θερμότητα επαγωγικά ενώ ταυτόχρονα προσλαμβάνει τους υδρατμούς που εξέρχονται από αυτό κατά την αφυδάτωση (Μπλούκας, 2004). Αρχικά η υγρασία που εξέρχεται προέρχεται από την επιφάνεια του προϊόντος όμως στη συνέχεια γίνεται μεταφορά νερού από το εσωτερικό του προϊόντος προς την επιφάνειά του με διάχυση (A Chiou et al., 2015). Η αφυδάτωση των στερεών προϊόντων όπως είναι τα φρούτα γίνεται με ένα μεγάλο αριθμό ξηραντήρων οι σπουδαιότεροι από τους οποίους είναι: ο φούρνος αφυδάτωσης, οι θάλαμοι αφυδάτωσης, οι σήραγγες αφυδάτωσης, ο ξηραντήρας με μεταφορική ταινία κ.ά.
- Η λυοφιλίωση είναι μέθοδος αφυδάτωσης κατά την οποία το προϊόν πρώτα καταψύχεται και στη συνέχεια υφίσταται εξάχνωση των παγοκρυστάλλων (Μπλούκας, 2004). Η λυοφιλίωση έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην ξήρανση διαφόρων φρούτων όπως σύκα, κεράσια, φράουλες και ροδάκινα.

Μερικά πλεονεκτήματα της μεθόδου αυτής σε σχέση με την ποιότητα του τελικού προϊόντος είναι η ελάχιστη συρρίκνωση του προϊόντος, η μεγάλη διατήρηση της θρεπτικής του αξίας καθώς και η υψηλή διατήρηση της γεύσης και του αρώματος σε συνδυασμό με εύκολη επανυδάτωση του προϊόντος. Ωστόσο παρά τα τόσα πλεονεκτήματα, η χρήση της μεθόδου αυτής είναι ακόμη περιορισμένη λόγω του υψηλού της κόστους (Omolola et al., 2017).

- Μέθοδοι ξήρανσης όπως η έκθεση σε θερμό αέρα και η ξήρανση στον ήλιο εμφανίζουν προβλήματα όπως ο μεγάλος χρόνος ξήρανσης που μπορεί να επιδράσει στη γεύση, το χρώμα και το θρεπτικό περιεχόμενο των ξηρών φρούτων ενώ στην περίπτωση της έκθεσης στον ήλιο το κύριο πρόβλημα είναι η αδυναμία χειρισμού μεγάλων ποσοτήτων και η αδυναμία επίτευξης συνέπειας στην ποιότητα. Προκειμένου να εξαλειφθούν αυτά τα προβλήματα αναπτύχθηκε η μέθοδος ξήρανσης με έκθεση σε μικροκύματα που εμφανίζει βασικά πλεονεκτήματα όπως: μεγάλη διεισδυτικότητα που οδηγεί σε ομοιόμορφη ξήρανση των φρούτων, επιλεκτική προσρόφηση των μικροκυμάτων που οδηγεί σε ομοιόμορφο προφίλ υγρασίας εντός του προϊόντος και ευκολία ελέγχου της μεθόδου λόγω της γρήγορης απόκρισης των μικροκυμάτων (Omolola et al., 2017).
- Η ξήρανση στον ήλιο αποτελεί την αρχαιότερη, απλούστερη και οικονομικότερη μέθοδο αφυδάτωσης των τροφίμων (Μπλούκας, 2004). Σήμερα χωρίζεται σε δύο επιμέρους βασικούς τύπους, την άμεση και την έμμεση ξήρανση. Κατά την άμεση μέθοδο το φρούτο τοποθετείται απευθείας πάνω σε δίσκους σε υπαίθριους χώρους όπου μόνο η προσπίπτουσα ηλιακή ακτινοβολία χρησιμοποιείται ως πηγή ενέργειας για την ξήρανση ενώ αντίθετα η έμμεση μέθοδος περιλαμβάνει τη χρήση μηχανικών ηλιακών ξηραντήρων οι οποίοι βασίζονται στην ηλιακή ακτινοβολία για να θερμαίνουν τον αέρα ξήρανσης ο οποίος στη συνέχεια ρέει προς το προϊόν με φυσικά ή τεχνητά μέσα. Το γεγονός πως η πηγή ενέργειας των ξηραντήρων αυτών είναι ανανεώσιμη αποτελεί και το κυριότερο πλεονέκτημά τους. Η ηλιακή ξήρανση είναι χρονοβόρα διαδικασία σε σχέση με άλλες μεθόδους ενώ η χρήση της είναι κατάλληλη μόνο σε περιοχές με τροπικό κλίμα όπου ο ζεστός ήλιος και η ξηρή ατμόσφαιρα επικρατούν για μεγάλο χρονικό διάστημα (Omolola et al., 2017).

1.3 Σύσταση ξηρών φρούτων

Εφόσον τα αποξηραμένα φρούτα είναι μια συμπυκνωμένη μορφή των αντίστοιχων φρέσκων με λιγότερη υγρασία (Chang et al., 2016), γίνεται κατανοητό ότι αποτελούν και συμπυκνωμένες πηγές θρεπτικών συστατικών. Πιο συγκεκριμένα, έχουν υψηλή περιεκτικότητα σακχάρων, κυρίως φρουκτόζη και γλυκόζη, ενώ αποτελούν και καλές πηγές φυτικών ινών. Περιέχουν απαραίτητα μέταλλα όπως κάλιο, χαλκό, σίδηρο, μαγνήσιο, φώσφορο και ασβέστιο και περιέχουν επίσης φυτοχημικά, υδατοδιαλυτές και λιποδιαλυτές βιταμίνες (A Chiou et al., 2015). Τα αποξηραμένα φρούτα αποδίδουν σημαντικά ποσά ενέργειας, από 239 Kcal/100 g για τα ροδάκινα και τα νεκταρίνια έως 325 Kcal/100 g για τα κεράσια και τα βύσσινα, ενώ αντίθετα, τα φρέσκα φρούτα αποδίδουν από 39 Kcal/100 g για τα ροδάκινα έως 79.11 Kcal/100 g για τα σύκα (USDA, 2016).

Στον πίνακα 1.2 παρουσιάζεται η σύσταση σε μακροθρεπτικά συστατικά των ξηρών φρούτων που αποτελούν αντικείμενο μελέτης αυτής της πτυχιακής εργασίας, ενώ στον πίνακα 1.3 παρουσιάζεται η σύσταση των αντίστοιχων φρέσκων φρούτων. Για τα αποξηραμένα νεκταρίνια οι τιμές που παρουσιάζονται στον πίνακα αναφέρονται από τους Alasalvar & Shahidi (2013). Σχετικά με τα αποξηραμένα κεράσια και τα αποξηραμένα βύσσινα, στη βάση δεδομένων του USDA γίνεται αναφορά σε “dried cherries” χωρίς να προσδιορίζεται αν πρόκειται για αποξηραμένα κεράσια ή βύσσινα και αυτά αναγράφονται στον πίνακα 1.3.

Πίνακας 1.2. Σύσταση ξηρών φρούτων σε μακροθρεπτικά συστατικά (Alasalvar & Shahidi, 2013; USDA, 2016)

Φρούτα	Συστατικά ανά 100 g					
	Νερό (g)	Πρωτεΐνες (g)	Ολικά λιποειδή (g)	Υδατάνθρακες, εκ διαφοράς (g)	Διαιτητικές ίνες (g)	Ολικά σάκχαρα (g)
Βερίκοκα	30.89	3.39	0.51	62.64	7.30	53.44
Δαμάσκηνα	30.92	2.18	0.38	63.88	7.10	38.13
Κεράσια	15.00	2.50	0.00	80.00	2.50	67.50
Νεκταρίνια	20.00	4 - 6	0.60	46 - 66	5 - 7	-
Ροδάκινα	31.80	3.61	0.76	61.33	8.20	41.74
Σύκα	30.05	3.30	0.93	63.87	9.80	47.92

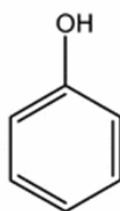
Πίνακας 1.3. Σύσταση φρέσκων φρούτων σε μακροθρεπτικά συστατικά (USDA, 2016)

Φρούτα	Συστατικά ανά 100 g					
	Νερό (g)	Πρωτεΐνες (g)	Ολικά λιποειδή (g)	Υδατάνθρακες, εκ διαφοράς (g)	Διαιτητικές ίνες (g)	Ολικά σάκχαρα (g)
Βερίκοκα	86.35	1.40	0.39	11.12	2.0	9.24
Βύσσινα	86.13	1.0	0.30	12.18	1.6	8.49
Δαμάσκηνα	87.23	0.70	0.28	11.42	1.4	9.92
Κεράσια	82.25	1.06	0.20	16.01	2.1	12.82
Νεκταρίνια	87.59	1.06	0.32	10.55	1.7	7.89
Ροδάκινα	88.87	0.91	0.25	9.54	1.5	8.39
Σύκα	79.11	0.75	0.30	19.18	2.9	16.26

Κεφάλαιο 2^ο: Πολικές Φαινολικές Ενώσεις

2.1 Ορισμός

Οι φαινολικές ενώσεις είναι οργανικές ενώσεις που φέρουν μία ή περισσότερες ομάδες υδροξυλίου ($-OH$) απευθείας συνδεδεμένες σε έναν αρωματικό δακτύλιο. Η φαινόλη που φαίνεται στο σχήμα 2.1 είναι η κύρια δομή πάνω στην οποία βασίζεται αυτή η ομάδα ενώσεων (Castañeda-Ovando, Pacheco-Hernández, Páez-Hernández, Rodríguez, & Galán-Vidal, 2009; Vermerris & Nicholson, 2008).



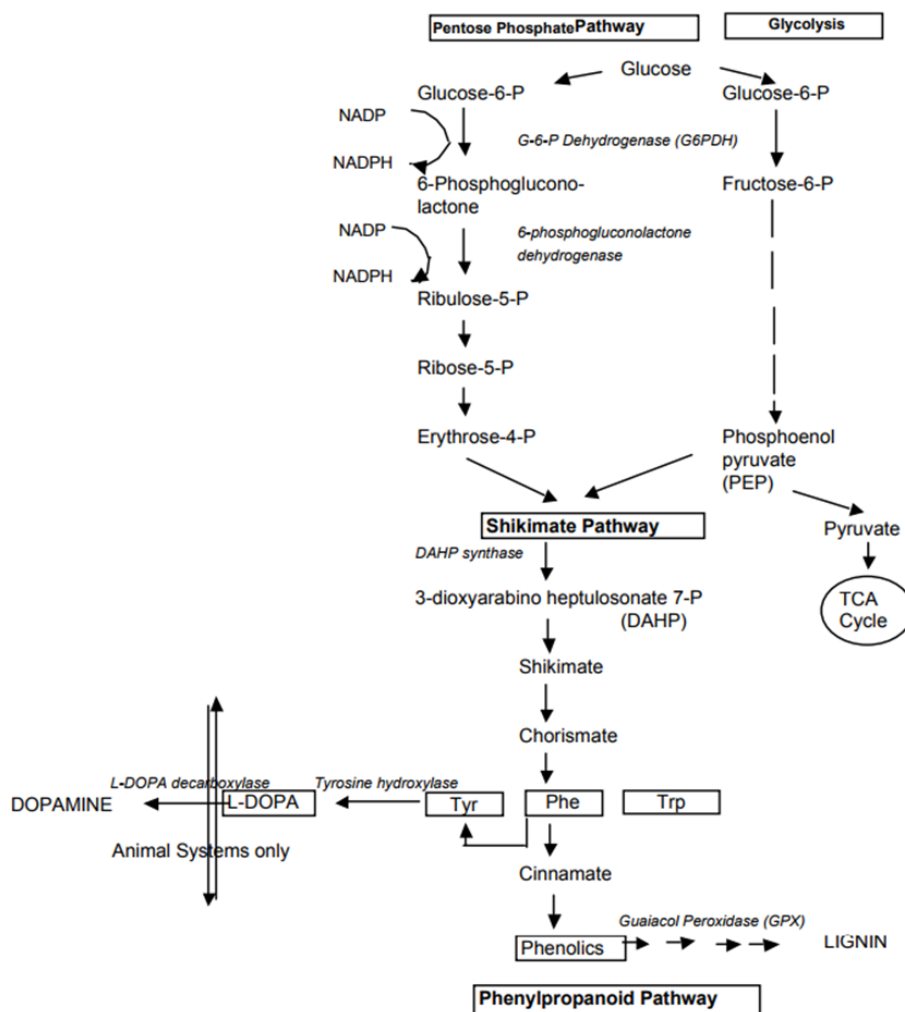
Σχήμα 2.1. Μονο-υδροξυ-βενζόλιο ή Καρβολικό οξύ - Η πιο απλή Φαινόλη (Vermerris & Nicholson, 2008)

Πολυφαινόλες ονομάζονται οι φαινολικές ενώσεις που προκύπτουν ως προϊόντα πολυμερισμού απλών φαινολών (Vermerris & Nicholson, 2008).

Στη βιβλιογραφία έχει προταθεί να αναφερόμαστε στις δύο αυτές ομάδες μαζί ως «πολικές φαινολικές ενώσεις» ή «βιοδραστικές φαινόλες» (Tsimidou & Boskou, 2015).

2.2 Βιοσύνθεση πολικών φαινολικών ενώσεων

Οι φαινολικές ενώσεις είναι δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών (Balasundram, Sundram, & Samman, 2006). Συντίθενται κυρίως μέσω των μονοπατιών φωσφοπεντοζών, σικιμικού οξέος και φαινυλοπροπανοειδών, όπως φαίνεται στο σχήμα 2.2, τόσο κατά τη φυσιολογική ανάπτυξη του φυτού όσο και κατά την απόκριση σε διάφορες καταστάσεις stress όπως μόλυνση, τραυματισμός και υπεριώδης ακτινοβολία (Naczki & Shahidi, 2004; Randhir, Lin, & Shetty, 2004). Σήμερα είναι γνωστές περισσότερες από 8000 φαινολικές δομές (Zern & Fernandez, 2005).



Σχήμα 2.2. Μονοπάτια σύνθεσης φαινολικών ενώσεων (Randhir et al., 2004)

2.3 Ταξινόμηση πολικών φαινολικών ενώσεων

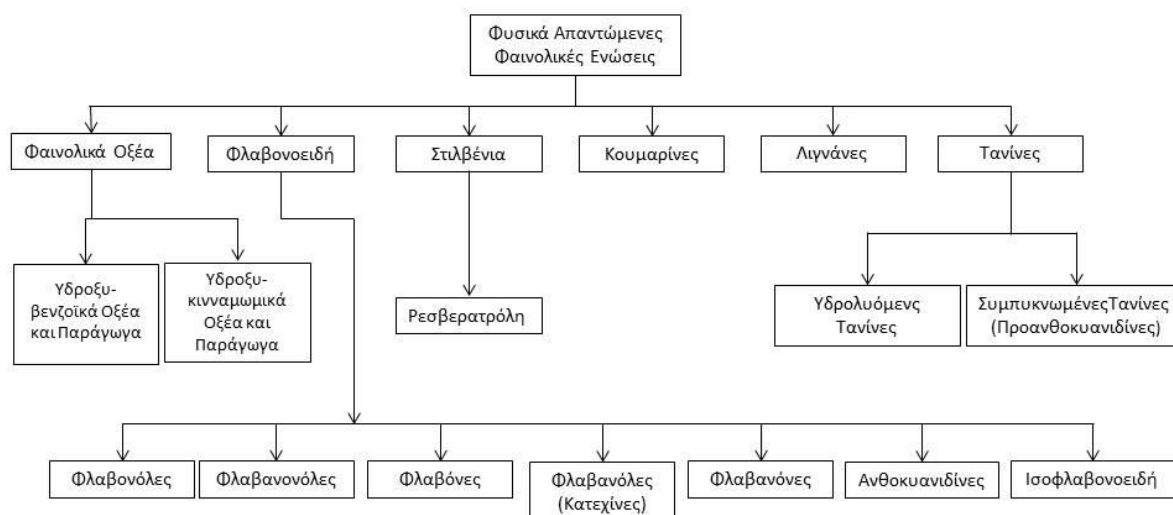
Όπως προαναφέρθηκε, οι φαινολικές ενώσεις αποτελούν μια ομάδα ενώσεων με μεγάλη δομική ποικιλομορφία. Οι περισσότερες φυσικά απαντώμενες φαινολικές ενώσεις βρίσκονται συζευγμένες με μονο- και πολυ- σακχαρίτες, συνδεδεμένους σε μία ή περισσότερες φαινολικές ομάδες, ενώ μπορούν επίσης να εμφανιστούν ως λειτουργικά παράγωγα όπως εστέρες και μεθυλεστέρες (Balasundram et al., 2006).

Οι φαινολικές ενώσεις μπορούν να ταξινομηθούν βάσει της χημικής τους δομής, όπως φαίνεται στον πίνακα 2.1.

Πίνακας 2.1. Τάξεις φαινολικών ενώσεων (Balasundram et al., 2006)

Κατηγορία	Δομή
Απλές φαινολικές ενώσεις, βενζοκινόνες	C_6
Υδροξυ-βενζοϊκά οξέα	$C_6 - C_1$
Ακετοφαινόνες, Φαινυλοξικά οξέα	$C_6 - C_2$
Υδροξυ-κινναμωμικά οξέα, Φαινυλοπροπανοειδή (Κουμαρίνες, Ισοκουμαρίνες, Χρωμόνες, Χρωμενίδια)	$C_6 - C_3$
Ναφθοκινόνες	$C_6 - C_4$
Ξανθόνες	$C_6 - C_1 - C_6$
Στυλβένια, Ανθρακινόνες	$C_6 - C_2 - C_6$
Φλαβονοειδή, Ισοφλαβονοειδή	$C_6 - C_3 - C_6$
Λιγνάνες, Νεολιγνάνες	$(C_6 - C_3)_2$
Διφλαβονοειδή	$(C_6 - C_3 - C_6)_2$
Λιγνίνες	$(C_6 - C_3)_n$
Συμπυκνωμένες Ταννίνες (Προανθοκυανιδίνες ή Φλαβολάνες)	$(C_6 - C_3 - C_6)_n$

Στο σχήμα 2.3 φαίνεται ένας άλλος τρόπος ταξινόμησης των φυσικά απαντώμενων φαινολικών ενώσεων στα φυτά (Shahidi & Ambigaipalan, 2015).



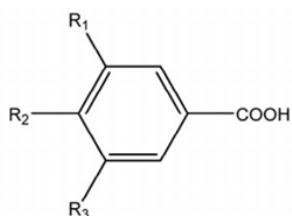
Σχήμα 2.3. Ταξινόμηση Φαινολικών Αντιοξειδωτικών Ενώσεων (Shahidi & Ambigaipalan, 2015)

Από τις παραπάνω ενώσεις, τα φαινολικά οξέα, τα φλαβονοειδή και οι ταννίνες θεωρούνται ως οι κυριότερες διαιτητικές φαινολικές ενώσεις (Balasundram et al., 2006).

- **Φαινολικά Οξέα:** Τα φαινολικά οξέα αποτελούν περίπου το 1/3 των διαιτητικών φαινολικών ενώσεων και περιλαμβάνουν 2 υποομάδες, τα υδροξυ-βενζοϊκά και τα υδροξυ-κινναμωμικά

οξέα, καθώς και τα παράγωγά τους. Υπό αυστηρή χημική άποψη, μόνο τα παράγωγα του βενζοϊκού οξέος είναι φαινολικά οξέα ενώ τα παράγωγα του κινναμωμικού οξέος είναι φαινυλοπροπανοειδή (Haminiuk, Maciel, Plata-Oviedo, & Peralta, 2012; Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

○ Υδροξυ-βενζοϊκά ($C_6 - C_1$): Βρίσκονται σε διάφορα φρούτα και εμφανίζονται κυρίως με τη μορφή εστέρων. Στα φρούτα τα συνηθέστερα απαντώμενα φαινολικά οξέα αυτής της κατηγορίας είναι το γαλλικό, το βανιλικό, το ελλαγικό και το συριγγικό οξύ (Haminiuk et al., 2012). Τα παράγωγα των υδροξυ-βενζοϊκών οξέων παρουσιάζονται κυρίως με τη μορφή γλυκοζιτών (Shahidi & Ambigaipalan, 2015) ενώ υπάρχουν και υδροξυ-βενζοϊκές αλδεΐδες όπως η βανιλίνη (Vermeris & Nicholson, 2008). Στο σχήμα 2.4 και στον πίνακα 2.2 παρουσιάζονται ορισμένες χημικές δομές υδροξυ-βενζοϊκών οξέων.

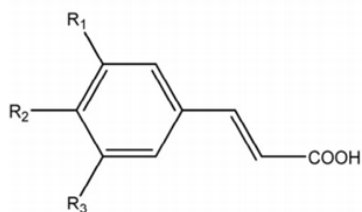


Σχήμα 2.4. Γενική δομή υδροξυ-βενζοϊκών οξέων (Shahidi & Ambigaipalan, 2015)

Πίνακας 2.2. Παραδείγματα υδροξυ-βενζοϊκών οξέων

Οξύ	R ₁	R ₂	R ₃
p - Υδροξυ-βενζοϊκό	H	OH	H
Πρωτοκατεχικό	OH	OH	H
Βανιλικό	OCH ₃	OH	H
Συριγγικό	OCH ₃	OH	OCH ₃
Γαλλικό	OH	OH	H

○ Υδροξυ-κινναμωμικά οξέα ($C_6 - C_3$): Κύριοι εκπρόσωποι είναι το p-κουμαρικό, το καφεϊκό, το φερουλικό και το σιναπικό οξύ. Τα οξέα αυτά συνήθως ανιχνεύονται ως γλυκοζυλιωμένα παράγωγα ή εστέρες κινικού, σικιμικού και τρυγικού οξέος και σπάνια στην ελεύθερη μορφή τους, με εξαίρεση τα επεξεργασμένα τρόφιμα που έχουν υποστεί κατάψυξη, αποστείρωση, ή ζύμωση. Το καφεϊκό και το κινικό οξύ συχνά συνδυάζονται για να σχηματίσουν χλωρογενικό οξύ, το οποίο βρίσκεται σε πολλά είδη φρούτων (Manach, Scalbert, Morand, Révész, & Jiménez, 2004). Οι δομές των κυριότερων υδροξυ-κινναμωμικών οξέων παρουσιάζονται στο σχήμα 2.5 και στον πίνακα 2.3.

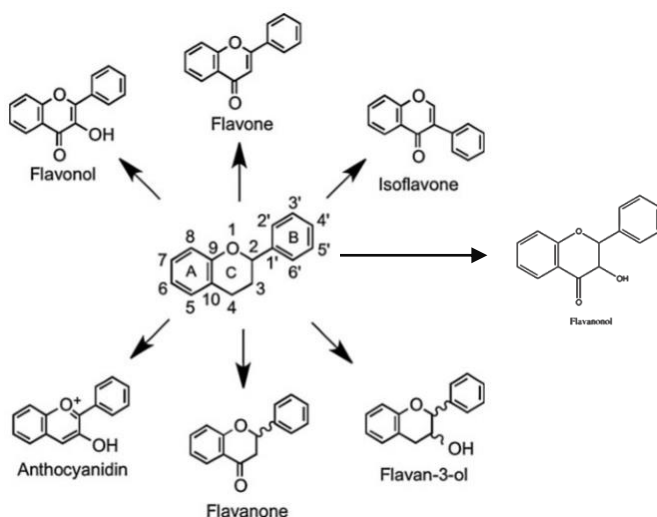


Σχήμα 2.5. Γενική δομή υδροξυ-κινναμωμικών οξέων (Shahidi & Ambigaipalan, 2015)

Πίνακας 2.3. Παραδείγματα υδροξυ-κινναμωμικών οξέων

Οξύ	R ₁	R ₂	R ₃
p – Κουμαρικό	H	OH	H
Καφεϊκό	OH	OH	H
Φερουλικό	OCH ₃	OH	H
Σιναπικό	OCH ₃	OH	OCH ₃

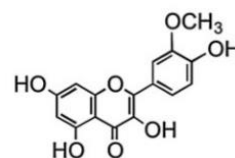
• **Φλαβονοειδή (C₆ - C₃ - C₆):** Τα φλαβονοειδή αποτελούν τη μεγαλύτερη ομάδα φαινολικών ενώσεων στα φυτά αντιπροσωπεύοντας περίπου τα 2/3 των πολικών φαινολικών ενώσεων. Σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί περισσότερα από 6000 φλαβονοειδή (Shahidi & Ambigaipalan, 2015). Πρόκειται για ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους, που αποτελούνται από 15 άτομα άνθρακα στην εξής διαμόρφωση: C₆ - C₃ - C₆. Ουσιαστικά, η δομή αποτελείται από δύο αρωματικούς δακτυλίους A και B ενωμένους με μια γέφυρα τριών ατόμων άνθρακα, συνήθως με τη μορφή ετεροκυκλικού δακτυλίου C. Η βιοχημική δραστηριότητα των φλαβονοειδών και των μεταβολιτών τους εξαρτάται από τις χημικές τους δομές και τον σχετικό προσανατολισμό των διαφόρων ομάδων στα μόριά τους. Μεταβολές στα πρότυπα υποκατάστασης του δακτυλίου C οδηγούν στις κύριες τάξεις φλαβονοειδών: φλαβόνες, φλαβονόλες, ισοφλαβόνες, φλαβανόνες, φλαβανονόλες, φλαβανόλες (ή κατεχίνες) και ανθοκυανιδίνες. Από αυτές, οι φλαβόνες και οι φλαβονόλες είναι οι πιο διαδεδομένες και έχουν τη μεγαλύτερη δομική ποικιλομορφία. Οι υποκαταστάσεις στους δακτυλίους A και B μπορεί να αφορούν οξυγόνωση, αλκυλίωση, γλυκοζυλίωση, ακυλίωση και θείωση και οδηγούν στις διαφορετικές ενώσεις εντός κάθε τάξης φλαβονοειδών (Balasundram et al., 2006). Στο σχήμα 2.6 παρουσιάζονται οι γενικές δομές των διαφόρων τάξεων φλαβονοειδών.



Σχήμα 2.6. Δομή σκελετού κύριων τάξεων φλαβονοειδών (Del Rio et al., 2013; Shahidi & Ambigaipalan, 2015)

○ Φλαβόνες: Οι ενώσεις αυτές διαθέτουν έναν διπλό δεσμό μεταξύ C-2 και C-3 καθώς και μία ομάδα κετόνης στον ετεροκυκλικό δακτύλιο. Στα φυτά έχουν ταυτοποιηθεί περίπου 100 φλαβόνες (Shahidi & Ambigaipalan, 2015; Vermerris & Nicholson, 2008). Μία μεγάλη ποικιλία υποκαταστάσεων είναι δυνατή στις ενώσεις αυτές, συμπεριλαμβανομένων: υδροξυλίωσης, μεθυλίωσης, αλκυλίωσης καθώς και γλυκοζυλίωσης (Del Rio et al., 2013). Χαρακτηριστικά παραδείγματα φλαβονών αποτελούν η απιγενίνη και η λουτεολίνη (Haminiuk et al., 2012).

○ Φλαβονόλες: Οι ενώσεις αυτές διαθέτουν έναν διπλό δεσμό μεταξύ C-2 και C-3 καθώς και μία ομάδα κετόνης στον ετεροκυκλικό δακτύλιο. Διαφέρουν από τις φλαβόνες στην ομάδα υδροξυλίου (-OH) που διαθέτουν στον C-3. Στα φυτά έχουν ταυτοποιηθεί περίπου 200 φλαβονόλες (Shahidi & Ambigaipalan, 2015). Χαρακτηριστικά παραδείγματα φλαβονολών αποτελούν η καμφερόλη, η κερκετίνη, η ισοραμνετίνη και η μυρισετίνη που συνήθως εμφανίζονται με τη μορφή γλυκοζιτών (Del Rio et al., 2013). Η χημική δομή της ισοραμνετίνης παρουσιάζεται στο σχήμα 2.7.



Σχήμα 2.7. Χημική δομή ισοραμνετίνης (Del Rio et al., 2013)

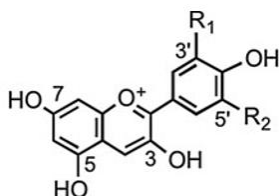
○ Ισοφλαβόνες: Αποτελούνται από έναν φαινολικό δακτύλιο A συζευγμένο με έναν εξαμελή ετεροκυκλικό δακτύλιο και έναν ακόμη φαινολικό δακτύλιο B συνδεδεμένο με τον C-3. Παρά τις μικρές τους διαφορές με τα αντίστοιχα φλαβονοειδή, κάποια ισοφλαβονοειδή εμφανίζουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση (Shahidi & Ambigaipalan, 2015). Χαρακτηριστικά παραδείγματα ισοφλαβονών αποτελούν η δαϊσδεΐνη και η γενιστεΐνη οι οποίες απαντώνται είτε στην ελεύθερη μορφή τους είτε ως γλυκοζίτες (Del Rio et al., 2013).

○ Φλαβανόνες: Οι φλαβανόνες χαρακτηρίζονται από την απουσία διπλού δεσμού μεταξύ C2 - C3 και την παρουσία ενός κέντρου ασυμμετρίας στον C-2. Συνήθως εμφανίζονται ως υδροξυλιωμένα, γλυκοζυλιωμένα και O-μεθυλιωμένα παράγωγα (Del Rio et al., 2013). Οι φλαβανόνες υφίστανται μια σειρά μετασχηματισμών που επηρεάζουν τον ετεροκυκλικό δακτύλιο για να δημιουργήσουν ανθοκυανίνες και κατεχίνες (Shahidi & Ambigaipalan, 2015). Χαρακτηριστικά παραδείγματα φλαβανονών αποτελούν η εσπερετίνη και η ναριγκενίνη (Haminiuk et al., 2012).

ο Φλαβανονόλες: Χαρακτηρίζονται από την παρουσία απλού δεσμού μεταξύ C2 - C3 και την παρουσία ενός ατόμου οξυγόνου (καρβονυλομάδα) στη θέση 4. Οι φλαβανονόλες διαφέρουν από τις φλαβανόνες στη ύπαρξη ομάδας υδροξυλίου στη θέση 3 και γι' αυτό συχνά αναφέρονται ως 3-υδροξυ-φλαβανόνες ή διϋδρο-φλαβονόλες (Shahidi & Ambigaipalan, 2015). Παράδειγμα φλαβανονόλης αποτελεί η ταξιφολίνη επίσης γνωστή ως διϋδρο-κερκετίνη (Vermeris & Nicholson, 2008).

ο Φλαβανόλες: Είναι δομικά παρόμοιες με τις ανθοκυανιδίνες αλλά δεν έχουν θετικά φορτισμένο άτομο οξυγόνου ούτε διπλούς δεσμούς στον δακτύλιο C. Οι πιο σημαντικές φλαβανόλες είναι η κατεχίνη (φλαβαν-3-όλη) και η γαλλοκατεχίνη (Guidi, Penella, & Landi, 2015).

ο Ανθοκυανιδίνες: Οι ανθοκυανιδίνες τυπικά ανευρίσκονται ως γλυκοζίτες που ονομάζονται ανθοκυανίνες. Ευρέως καταγεγραμμένες, έγχρωμες ανθοκυανιδίνες είναι η πελαργονιδίνη (πορτοκαλί - κόκκινη), η κυανιδίνη (κόκκινη), η πεονιδίνη (ροζ - κόκκινη), η δελφινιδίνη (μπλε - βιολετί), η πετουνιδίνη (μπλε - μωβ) και η μαλβιδίνη (μωβ) οι δομές των οποίων εμφανίζονται στο σχήμα 2.8 και στον πίνακα 2.4. Η πιο συνηθισμένη ανθοκυανιδίνη είναι η κυανιδίνη (Vermeris & Nicholson, 2008).



Σχήμα 2.8. Γενική δομή ανθοκυανιδινών
(Del Rio et al., 2013)

Πίνακας 2.4. Χημικές δομές
ανθοκυανιδινών

Ανθοκυανιδίνες	R ₁	R ₂
Πελαργονιδίνη	H	H
Κυανιδίνη	OH	H
Δελφινιδίνη	OH	OH
Πεονιδίνη	OCH ₃	H
Πετουνιδίνη	OCH ₃	OH
Μαλβιδίνη	OCH ₃	OCH ₃

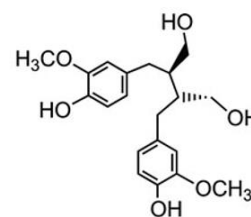
– Ανθοκυανίνες: Είναι υδατοδιαλυτοί γλυκοζίτες ανθοκυανιδινών με τον συνηθέστερο γλυκοζίτη να είναι ο 3-O-γλυκοζίτης. Οι ανθοκυανίνες μπορούν επίσης να ακυλιωθούν δηλαδή ένα οργανικό οξύ να εστεροποιηθεί με το σάκχαρο (Vermeris & Nicholson, 2008). Μέχρι σήμερα περισσότερο από το 90% των απομονωμένων ανθοκυανινών στη φύση - που ανέρχονται σε περισσότερες από 635 - βασίζονται στις προαναφερόμενες έξι ανθοκυανιδίνες (πίνακας 2.4) Μεταξύ των φλαβονοειδών, οι ανθοκυανίνες παρέχουν την

πλειοψηφία των κόκκινων έως μπλε αποχρώσεων των λουλουδιών, των φρούτων και των φύλλων (Guidi et al., 2015; Haminiuk et al., 2012).

- **Στιλβένια ($C_6 - C_2 - C_6$):** Απαρτίζονται κυρίως από την trans-ρεσβερατρόλη και τον γλυκοζίτη της. Στα φυτά μία κύρια μορφή ρεσβερατρόλης είναι ο 3-O-β-D-γλυκοζίτης της trans-ρεσβερατρόλης συχνά αναφερόμενος ως πισεΐδη ή πολυδατίνη. Η πτεροστιλβένη, ένα παράγωγο της ρεσβερατρόλης με μία μόνο ομάδα υδροξυλίου (-OH), έχει βρεθεί να είναι περισσότερο ωφέλιμη από την ρεσβερατρόλη για την υγεία (Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

- **Κουμαρίνες ($C_6 - C_3$):** Διαθέτουν έναν ετεροκυκλικό δακτύλιο με οξυγόνο ενώ χαρακτηριστική κουμαρίνη είναι η ουμπελλιφερόνη (Vermerris & Nicholson, 2008).

- **Λιγνάνες ($C_6 - C_3$)₂:** Είναι μια ομάδα ενώσεων με μεγάλη ποικιλομορφία. Αποτελούνται κυρίως από δύο φαιnyλο-προπανοειδείς μονάδες συνδεδεμένες μέσω του C-8 της πλευρικής αλυσίδας και αποτελούν μία από τις κυριότερες κατηγορίες φυτοοιστρογόνων, δηλαδή χημικών ουσιών που μοιάζουν με οιστρογόνα (Haminiuk et al., 2012). Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι η σεκοΐσολαρικρετινόλη, η ματαιρετινόλη, η μεδιορετινόλη, η πινορετινόλη, η σησαμίνη και η λαρικρετινόλη. Η δομή της σεκοΐσολαρικρετινόλης φαίνεται στο σχήμα 2.9 (Del Rio et al., 2013; Vermerris & Nicholson, 2008).



Σχήμα 2.9. Χημική δομή σεκοΐσολαρικρετινόλης (Del Rio et al., 2013)

- **Ταννίνες:** Οι ταννίνες είναι πικρές ουσίες με διαφορετικά μοριακά βάρη που έχουν την ικανότητα να κατακρημνίζουν πρωτεΐνες. Οι δύο βασικοί τύποι ταννινών είναι οι υδρολυόμενες και οι συμπυκνωμένες (Haminiuk et al., 2012).

- Υδρολυόμενες ταννίνες: Αποτελούν εστέρες γαλλικού οξέος (γαλλοτανίνες και ελλαγιτανίνες) (Balasundram et al., 2006).

- Γαλλοταννίνες: Χαρακτηρίζονται από έναν πυρήνα πολυόλης υποκατεστημένο με 10-12 μονάδες γαλλικού οξέος που διαθέτουν χαρακτηριστικούς meta-εστερικούς δεσμούς ανάμεσά τους. Η πιο συχνά απαντώμενη πολυόλη είναι η D-γλυκόζη αν και μερικές

γαλλοταννίνες περιέχουν ως πυρήνα πολυόλης μονάδες κατεχίνης και τριτερπενοειδείς μονάδες. Ένα παράδειγμα γαλλοταννίνης είναι η ένωση 2-O-διγαλλοϋλο-1,3,4,6-τετρα-γαλλοϋλο-β-D-γλυκοκυρανοζη (Vermerris & Nicholson, 2008).

– Ελλαγιταννίνες: Προέρχονται από πεντα-γαλλοϋλο-γλυκόζη αλλά αντίθετα από τις γαλλοταννίνες διαθέτουν επιπλέον δεσμούς C-C μεταξύ των γειτονικών τμημάτων μονάδων γαλλικού εστέρα στο μόριο της πεντα-γαλλοϋλο-γλυκόζης (Vermerris & Nicholson, 2008). Χαρακτηριστικά παραδείγματα ελλαγιταννινών αποτελούν η H-6 σανγκουίνη και η πουνικαλαγίνη (Del Rio et al., 2013).

○ Συμπυκνωμένες ταννίνες ($C_6 - C_3 - C_6$)_n: Είναι ολιγομερή και πολυμερή φλαβονοειδών, συγκεκριμένα φλαβαν-3-όλης (κατεχίνης) και αναφέρονται επίσης ως προανθοκυανιδίνες καθώς η υδρόλυσή τους αποδίδει ανθοκυανιδίνες. Τα πολυμερή σχηματίζονται με τη δράση οξέων ή ενζύμων. Όσα από αυτά τα πολυμερή σχηματίζονται από 2-10 μονομερή ονομάζονται φλαβολάνες, ενώ έχουν ταυτοποιηθεί και πολυμερή με περισσότερες από 50 μονάδες κατεχίνης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα συμπυκνωμένης ταννίνης είναι η προκυανιδίνη B₂ (Vermerris & Nicholson, 2008).

2.4 Πηγές πολικών φαινολικών ενώσεων

Όπως προαναφέρθηκε οι φαινολικές ενώσεις είναι δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών (Balasundram et al., 2006). Έχουν ταυτοποιηθεί αρκετές χιλιάδες μόρια με δομή φαινόλης σε ανώτερα φυτά και μερικές εκατοντάδες που βρίσκονται σε βρώσιμα φυτά (Manach et al., 2004). Η παρουσία τους σε ζωικούς ιστούς και μη φυτικής προέλευσης υλικά οφείλεται στην πρόσληψη από φυτικές τροφές (Shahidi & Naczk, 2004).

Στα φυτά η κατανομή των φαινολικών ενώσεων σε ιστικό, κυτταρικό και υποκυτταρικό επίπεδο δεν είναι ομοιόμορφη. Για παράδειγμα οι αδιάλυτες φαινολικές ενώσεις ανευρίσκονται στα κυτταρικά τοιχώματα ενώ οι διαλυτές βρίσκονται στα κυτταρικά κενοτόπια. Ακόμη τα εξωτερικά στρώματα των φυτών περιέχουν υψηλότερα επίπεδα φαινολικών ενώσεων σε σχέση με τα εσωτερικά τους μέρη (Naczk & Shahidi, 2004). Τέλος ορισμένες οικογένειες φαινολικών ενώσεων είναι ευρέως διαδεδομένες στη διατροφή ενώ άλλες περιορίζονται σε συγκεκριμένα τρόφιμα (Cheynier, 2012).

Το περιεχόμενο σε ορισμένες φαινολικές ενώσεις μπορεί να αυξηθεί υπό συνθήκες stress όπως έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία, μόλυνση από παθογόνα και παράσιτα, τραυματισμό και έκθεση σε ακραίες θερμοκρασίες (Naczk & Shahidi, 2006). Εδώ πρέπει να αναφερθεί πως η ενζυμική οξείδωση των φαινολικών ενώσεων που καταλύεται από τις πολυφαινυλοξειδάσες, λακάσες και υπεροξειδάσες εμπλέκεται στην αμαύρωση που παρατηρείται όταν διαταράσσονται τα φυτικά κύτταρα όπως κατά το κόψιμο, την άσκηση πίεσης, τα χτυπήματα ή την ξήρανση (Cheynier, 2012). Τα επίπεδα φαινολικών ενώσεων στις διάφορες φυτικές πηγές εξαρτώνται επίσης από παράγοντες όπως οι τεχνικές καλλιέργειας, η ποικιλία, οι συνθήκες ανάπτυξης, η διαδικασία ωρίμανσης καθώς και οι συνθήκες επεξεργασίας και αποθήκευσης (Naczk & Shahidi, 2006).

Στα φυτά οι φαινολικές ενώσεις είναι σημαντικές για τον χρωματισμό, την αναπαραγωγή, την ανάπτυξη και την προστασία από παθογόνους παράγοντες και υπεριώδη ακτινοβολία (Manach et al., 2004; Zern & Fernandez, 2005). Αντίστοιχα, στα τρόφιμα οι φαινολικές ενώσεις συνεισφέρουν στην πικρή γεύση, στο χρώμα, την οσμή, τη γεύση και την οξειδωτική σταθερότητα (Naczk & Shahidi, 2006). Στη βιομηχανία οι φαινολικές ενώσεις χρησιμοποιούνται στην παραγωγή χρωμάτων, χαρτιού και καλλυντικών καθώς και ως πρόσθετα τροφίμων. Ωστόσο τα τελευταία χρόνια οι πολικές φαινολικές ενώσεις λαμβάνουν όλο και μεγαλύτερη προσοχή ως προς την επίδρασή τους στην πρόληψη ασθενειών (Zern & Fernandez, 2005).

Φαινολικές ενώσεις συναντάμε σε φυτικά τρόφιμα όπως: φρούτα, λαχανικά, όσπρια δημητριακά, ελαιούχοι σπόροι, φυτικά έλαια, ξηροί καρποί, αφεψήματα και ποτά φυτικής προέλευσης καθώς και σε βότανα και μπαχαρικά (Cheynier, 2012; Chu, Sun, Wu, & Liu, 2002; Kurosawa et al., 2005; Mekinić et al., 2014; Morton, Caccetta, Puddey, & Croft, 2000; Naczk & Shahidi, 2006; Shahidi & Ambigaipalan, 2015; Xu & Chang, 2007).

Φρούτα: είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικά εκ των οποίων τα πιο άφθονα είναι οι πολικές φαινόλες, οι βιταμίνες A, B, C και E και τα καροτενοειδή. Οι πολικές φαινολικές ενώσεις, οι περισσότερες από τις οποίες είναι φλαβονοειδή, βρίσκονται κυρίως με τη μορφή εστέρων και γλυκοζιτών (Shahidi & Ambigaipalan, 2015). Οι García-Alonso, Pascual-Teresa, Santos-Buelga, και Rivas-Gonzalo (2004) αναφέρουν το υψηλότερο περιεχόμενο σε φλαβανόλες στα δαμάσκηνα, τα μήλα, τα ροδάκινα, τις φράουλες και τα κεράσια (70-370 mg/ 100 g ξηρού

βάρους) και το χαμηλότερο περιεχόμενο στο αβοκάντο, τις μπανάνες και τα αχλάδια (<4 mg/100 g ξηρού βάρους). Σύμφωνα με τους Vinson, Su, Zubik, και Bose (2001), τα cranberries έχουν το υψηλότερο φαινολικό περιεχόμενο ακολουθούμενα από τα κόκκινα σταφύλια (Shahidi & Ambigaipalan, 2015). Τα αποξηραμένα φρούτα που αποτελούν αντικείμενο αυτής της πτυχιακής μελέτης αποτελούν συνεπώς πηγές φαινολικών ενώσεων στη δίαιτα.

Οι κύριες βάσεις δεδομένων για την εύρεση του περιεχομένου τροφίμων σε πολικές φαινόλες έχουν αναπτυχθεί από το USDA (United States Department of Agriculture) και είναι διαθέσιμες σε αρχεία PDF τα οποία είχαν αναθεωρηθεί τελευταία φορά τον Νοέμβριο του 2015. Υπάρχουν 3 διαφορετικές βάσεις δεδομένων: για φλαβονοειδή, ισοφλαβόνες και προανθοκυανιδίνες που περιλαμβάνουν δεδομένα για 506, 560 και 284 τρόφιμα, αντίστοιχα (Castañeda-Ovando et al., 2009; Neveu et al., 2010). Ωστόσο πρέπει να αναφερθεί πως κατά τον προσδιορισμό των συγκεκριμένων ενώσεων όλοι οι γλυκοζίτες είχαν μετατραπεί σε μη γλυκοζιτικές μορφές γεγονός που οδηγεί στην απώλεια δυνητικά χρήσιμων δεδομένων (Neveu et al., 2010).

Ακόμη έχει αναπτυχθεί από τους Neveu et al. (2010) μια ολοκληρωμένη βάση δεδομένων «Phenol-Explorer» (<http://phenol-explorer.eu>) η οποία περιέχει δεδομένα για όλες τις γνωστές φαινολικές ενώσεις στα τρόφιμα (Neveu et al., 2010).

2.5 Μηχανισμοί δράσης πολικών φαινολικών ενώσεων στον ανθρώπινο οργανισμό

Συνεχώς αυξανόμενα δεδομένα δείχνουν πως δίαιτες πλούσιες σε φυτικά τρόφιμα δρουν προστατευτικά έναντι μιας μεγάλης ποικιλίας ασθενειών. Αυτές οι προστατευτικές ιδιότητες αποδίδονται κυρίως στην παρουσία βιοδραστικών φυτοχημικών στα οποία συμπεριλαμβάνονται και οι φαινολικές ενώσεις.

Η αντιοξειδωτική δράση είναι μία από τις πλέον μελετημένες βιολογικές δράσεις των φαινολικών ενώσεων. Πέραν της επίδρασης εξωτερικών παραγόντων, στον ανθρώπινο οργανισμό φυσιολογικά παράγονται ελεύθερες ρίζες. Ως εκ τούτου οι ενδογενείς διεργασίες αποτοξίνωσης και εξουδετέρωσης πρέπει να λειτουργούν αποτελεσματικά προκειμένου να προλαμβάνουν πιθανές βλάβες. Τα 3 σημαντικότερα ένζυμα που εξουδετερώνουν ελεύθερες ρίζες είναι η δισμουτάση υπεροξειδίου (SOD), η καταλάση (CAT) και η υπεροξειδάση της

γλουταθειόνης (GSH-Px). Στην αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού συμμετέχουν επίσης μικρά μόρια (π.χ. βιταμίνη E) είτε ενδογενή είτε διατροφικά προσλαμβανόμενα (Martins et al., 2016). Οι φαινολικές ενώσεις αποτελούν δεσμευτές ελευθέρων ριζών και μεταλλικών κατιόντων (Fraga, Galleano, Verstraeten, & Oteiza, 2010; Shahidi & Ambigaipalan, 2015). Ένας σημαντικός περιορισμός για την αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών είναι η σχετικά χαμηλή βιοδιαθεσιμότητά τους ακόμη και μετά από κατανάλωση τροφίμων πλούσιων σε αυτές τις ενώσεις (Fraga et al., 2010).

Στη συνέχεια θα αναφερθούν διάφοροι άλλοι μηχανισμοί δράσης των φαινολικών ενώσεων που έχουν προταθεί για να εξηγήσουν τις βιολογικές τους δράσεις στα ζώα.

- Αλληλεπίδραση των φαινολικών ενώσεων με τις κυτταρικές μεμβράνες

Η αλληλεπίδραση των φαινολικών ενώσεων με μεμβρανικά λιποειδή και πρωτεΐνες φαίνεται να μεσολαβεί σε ορισμένες βιολογικές δράσεις των φαινολών καθώς συνεχείς παρατηρήσεις δείχνουν πως πολλές από αυτές τις ενώσεις προκαλούν κυτταρική απόκριση παρά το γεγονός πως δεν εισέρχονται στο εσωτερικό των κυττάρων. Πιο συγκεκριμένα μπορούν να επηρεάσουν την κυτταρική λειτουργία τροποποιώντας τη δομή και ορισμένα φυσικά χαρακτηριστικά της κυτταρικής μεμβράνης όπως τη ρευστότητα και τις ηλεκτρικές της ιδιότητες. Αυτές οι τροποποιήσεις μπορούν να οδηγήσουν σε λειτουργικές μεταβολές της κυτταρικής μεμβράνης όπως μεταβολές στη δραστικότητα μεμβρανικών ενζύμων, την αλληλεπίδραση μορίων με τον υποδοχέα τους, στη ροή ιόντων ή/και μεταβολιτών και στη διαμόρφωση μεταγωγής σήματος. Λαμβάνοντας υπόψη την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, οι φαινόλες της μεμβρανικής επιφάνειας μπορούν να παρέχουν επίσης φυσικό φραγμό για υδατοδιαλυτές ρίζες ενώ οι πολυφαινόλες στο εσωτερικό της λιπιδικής διπλοστοιβάδας μπορούν να απομακρύνουν λιποδιαλυτές ρίζες προστατεύοντας έτσι τις μεμβράνες και τα συστατικά τους από οξείδωση.

- Αλληλεπίδραση φαινολικών ενώσεων με ένζυμα

Οι πολυφαινόλες αποτελούν αποτελεσματικούς αναστολείς μεγάλου αριθμού ενζύμων, όπως αυτών που έχουν ως υποστρώματα πουρίνες (κινάσες, ATPάσες, αδενυλική κυκλάση, RNA και DNA πολυμεράσες, ριβονουκλεάσες κ.ά.) καθώς και ενζύμων που έχουν ως συμπράγοντα NADPH (αναγωγή αλδόξης, μηλική αφυδρογονάση, γαλακτική αφυδρογονάση κ.ά.). Τα ένζυμα της πρώτης κατηγορίας πιθανώς αναστέλλονται από τις

φαινολικές ενώσεις μέσω ανταγωνιστικής δέσμευσής τους στη θέση που κανονικά δεσμεύεται το ATP. Δεδομένης της ομοιότητας μεταξύ της δομής ATP και NADPH τα ένζυμα που εξαρτώνται από το NADPH θα επηρεάζονται επίσης από τις φαινολικές ενώσεις.

- Αλληλεπίδραση φαινολικών ενώσεων με μεταγραφικούς παράγοντες

Μεταξύ των πολυφαινολών, οι φλαβανόλες (όπως η κατεχίνη και ορισμένες προκυανιδίνες) μπορούν να διαμορφώσουν την έκφραση πολυάριθμων γονιδίων που εμπλέκονται στη φλεγμονή και την καρκινογένεση αλληλεπιδρώντας με μεταγραφικούς παράγοντες και συγκεκριμένα αναστέλλοντας την δράση του παράγοντα NF-κΒ. Η επικατεχίνη και οι διμερείς Β2 προκυανιδίνες αναστέλλουν την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ στα Jurkat T κύτταρα και στα κύτταρα του λεμφώματος Hodgkin's.

- Αλληλεπίδραση με υποδοχείς

Τα οιστρογόνα των ζώων είναι στεροειδείς ενώσεις που οι φυσιολογικές τους αποκρίσεις διαμεσολαβούνται από την αλληλεπίδρασή τους με δύο υποδοχείς. Η ομοιότητα της δομής των ισοφλαβονών με τα οιστρογόνα τους δίνει τη δυνατότητα να δρουν ως αγωνιστές και ανταγωνιστές οιστρογόνων. Εκτός όμως από τις ισοφλαβόνες με τους υποδοχείς οιστρογόνων μπορούν να αλληλεπιδράσουν και άλλα φλαβονοειδή όπως η ανθοκυανιδίνη δελφινιδίνη. Ακόμη η ρεσβερατρόλη και άλλα στιλβένια έχουν κάποια χαρακτηριστικά που ομοιάζουν τη δομή των οιστρογόνων και μπορούν επίσης να αλληλεπιδράσουν αποτελεσματικά με τους υποδοχείς αυτούς.

- Οι φαινολικές ενώσεις έχει φανεί να μειώνουν τη δραστηριότητα της παγκρεατικής λιπάσης. Ωστόσο, η άμεση αλληλεπίδραση με το ενεργό τμήμα της παγκρεατικής λιπάσης δεν αποτελεί τον μοναδικό μηχανισμό αναστολής. Η πέψη και η απορρόφηση των λιπιδίων στο γαστρεντερικό σύστημα απαιτεί την ενζυμική υδρόλυση των τριγλυκεριδίων τα οποία πρέπει να γαλακτωματοποιούνται ώστε να αποτελούν κατάλληλο υπόστρωμα για την παγκρεατική λιπάση με το μέγεθος των σταγονιδίων λίπους να είναι αυτό που καθορίζει την ενζυμική δραστηριότητα. Τα μικρότερα σταγονίδια επιτρέπουν μεγαλύτερη καταλυτική δραστηριότητα άρα οι φλαβανόλες του τσαγιού που αλλάζουν τις ιδιότητες των γαλακτωματοποιημένων λιπιδίων αυξάνοντας το μέγεθος των σταγονιδίων έχουν ως αποτέλεσμα την αναστολή της ενζυμικής δραστηριότητας. Ακόμη έχει προταθεί πως οι υδροξυλικές ομάδες των πολυφαινολών αλληλεπιδρούν με τις υδρόφιλες κεφαλές της

φωσφατιδυλοχολίνης που είναι προσανατολισμένη προς το εξωτερικό των σταγονιδίων μέσω δεσμών υδρογόνου. Τέτοιες αλληλεπιδράσεις μπορούν να οδηγήσουν στο σχηματισμό συνδέσεων μεταξύ των σταγονιδίων που τελικά καταλήγουν να αυξάνουν το μέγεθος των σταγονιδίων λίπους και να μειώνουν την ικανότητα της παγκρεατικής λιπάσης να υδρολύει τριγλυκερίδια.

- Ένα άλλο παράδειγμα είναι ο σχηματισμός μονοξειδίου του αζώτου στον στόμαχο. Πειράματα σε προσομοιωμένο γαστρικό χυμό ($\text{pH}=2$) δείχνουν πως η αλληλεπίδραση διαιτητικών φαινολών με νιτρώδη παράγει μονοξείδιο του αζώτου (NO) το οποίο στη συνέχεια διαχέεται μέσω του στομάχου προκαλώντας χαλάρωση των λείων μυών (Fraga et al., 2010).

Όπως θα δούμε και παρακάτω, ένα μείγμα εκατοντάδων φαινολικών ενώσεων εισέρχεται στον γαστρεντερικό σωλήνα μέσω της δίαιτας. Οι ενώσεις αυτές μπορούν είτε να απελευθερωθούν μερικώς και να απορροφηθούν, είτε να καταλήξουν στο παχύ έντερο. Αρκετές μελέτες αναφέρουν πως ένα σημαντικό μέρος των προσλαμβανόμενων φαινολικών ενώσεων φθάνουν τελικά στο παχύ έντερο όπου υφίστανται μια σειρά μικροβιακών μετασχηματισμών, με αποτέλεσμα την παραγωγή μεταβολιτών.

Η διέλευση των θρεπτικών συστατικών και των φαινολικών ενώσεων μέσω του λεπτού εντέρου διαρκεί περίπου 2 - 4 ώρες αλλά ο χρόνος διέλευσης αυξάνεται σημαντικά στο παχύ έντερο όπου μπορεί να ξεπεράσει τις 24 ώρες. Στο διάστημα αυτό οι φαινολικές ενώσεις μπορούν να εκδηλώσουν τοπικά ευεργετικές για την υγεία δράσεις. Η παρουσία τους, μπορεί ακόμη να επηρεάσει το μεταβολικό προφίλ ενισχύοντας ή αναστέλλοντας την παραγωγή προϊόντων ζύμωσης που προκύπτουν από ενδογενείς και διαιτητικές ενώσεις. Με τη σειρά τους, οι αλλαγές στο μεταβολικό προφίλ του εντέρου σχετίζονται ορισμένες φορές με την τροποποίηση των μορφών 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 που παρατηρείται σε μια νόσο. Στην βιβλιογραφία υπάρχουν, επίσης, δεδομένα για πιθανή επίδραση των μη απορροφήσιμων φαινολικών ενώσεων που φτάνουν στο παχύ έντερο, στο μετασχηματισμό εντερικών μεταβολιτών όπως είναι τα λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (SCFAs), οι στερόλες και τα μικροβιακά προϊόντα από μη απορροφούμενες πρωτεΐνες (Mosele, Macià, & Motilva, 2015).

Σε αυτό το σημείο πρέπει να τονιστεί πως παραπάνω αναφέρθηκαν οι μηχανισμοί δράσης των πολυφαινολών από την πλευρά της θετικής τους επίδρασης προς την υγεία. Ωστόσο, οι αρνητικές επιδράσεις των πολυφαινολών δεν μπορούν να αγνοηθούν τελείως (Fraga et al., 2010). Για παράδειγμα, υπό ορισμένες συνθήκες, όπως υψηλές συγκεντρώσεις, υψηλό pH και παρουσία οξειδοαναγωγικών μετάλλων, οι φαινολικές ενώσεις μπορούν να δρουν ως προ-οξειδωτικά (León-González, Auger, & Schini-Kerth, 2015). Συνεπώς, πρέπει να δίνεται προσοχή όταν η συμπληρωματική χορήγηση πολυφαινολών ξεπερνά ένα ανώτατο όριο που μπορεί να οριστεί ως μια γενική πρόσληψη φρούτων και λαχανικών (για παράδειγμα 10 μερίδες την ημέρα) (Fraga et al., 2010).

Κεφάλαιο 3^ο: Πολικές Φαινολικές Ενώσεις και Ξηρά Φρούτα

3.1 Περιεχόμενο νωπών και ξηρών φρούτων σε πολικά φαινολικά συστατικά

Όπως προαναφέρθηκε, τα αποξηραμένα φρούτα περιέχουν πολικές φαινολικές ενώσεις. Παρακάτω θα αναφερθούμε στα ξηρά φρούτα που αποτελούν αντικείμενο αυτής της πτυχιακής μελέτης.

- Βερίκοκα

Τα βερίκοκα διαθέτουν τόσο υδρόφιλα όσο και λιπόφιλα αντιοξειδωτικά όπως φαινολικές ενώσεις, βιταμίνη C και καροτενοειδή. Η κοκκινωπή απόχρωση του φρούτου αυτού οφείλεται στις ανθοκυανίνες και κυρίως στον 3-O-ρουτινοζίτη της κυανιδίνης που κυριαρχεί, στον 3-O-γλυκοζίτη της κυανιδίνης και στον 3-O-ρουτινοζίτη της πεονιδίνης. Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των αποξηραμένων βερίκοκων έχει βρεθεί να ποικίλει. Σε βερίκοκα από την Αλγερία έχει βρεθεί μεταξύ 540 - 650 mg GAE/100 g ξηρού βάρους ανάλογα με τον διαλύτη εκχύλισης ενώ σε βερίκοκα από την Σερβία έχει βρεθεί 498 mg GAE/100 g. Σε άλλη μελέτη αξιολόγησης Τούρκικων ξηρών φρούτων το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των βερίκοκων έχει βρεθεί 82 mg GAE/100g. Το περιεχόμενο σε ανθοκυανίνες σε αποξηραμένα βερίκοκα Αλγερίας έχει βρεθεί 0.5 mg/100 g ξηρού βάρους ενώ σε ξηρά βερίκοκα Σερβίας 3.1 mg CyGE/100 g. Τα αποξηραμένα βερίκοκα περιέχουν και άλλες φλαβονοειδείς και μη φλαβονοειδείς φαινολικές ενώσεις. Το ολικό περιεχόμενο φλαβονοειδών έχει βρεθεί σε βερίκοκα Αλγερίας μεταξύ 30.6 - 56.8 mg ισοδυνάμων κερκετίνης/100 g ενώ σε βερίκοκα Σερβίας 218 mg RE/100 g. Ρουτίνη, κερκετίνη, 3-O-γλυκοζίτης κερκετίνης, μυρισετίνη, κατεχίνη και επικατεχίνη έχουν επίσης ταυτοποιηθεί σε ξηρά βερίκοκα, με την ρουτίνη να αποτελεί το κυρίαρχο φλαβονοειδές, ενώ περιέχουν και υδροξυ-βενζοϊκά και υδροξυ-κινναμωμικά οξέα (Čanadanović-Brunet et al., 2013; A Chiou et al., 2015; Ouchemoukh, Hachoud, HamouBoudraham, Mokrani, & Louaileche, 2012).

- Βύσσина και Κεράσια

Στα κεράσια η ωρίμανση σχετίζεται με αλλαγή του αρχικού πράσινου χρώματος σε κόκκινο με τη συσσώρευση φαινολικών ενώσεων όπως ανθοκυανίνες και με την αποικοδόμηση της χλωροφύλλης. Οι φαινολικές ενώσεις συγκεντρώνονται στον φλοιό και συνεισφέρουν στις οργανοληπτικές ιδιότητες των φρούτων αυτών. Τα βύσσина έχει φανεί πως έχουν υψηλότερο

φαινολικό περιεχόμενο σε σχέση με τα κεράσια ενώ ορισμένες από τις φαινολικές ενώσεις τους έχουν απομονωθεί και σε αυτές περιλαμβάνονται: 3-Ο-γλυκοζίτης κυανιδίνης, 3-ρουτινοζίτης κυανιδίνης, 3-σοφοροζίτης κυανιδίνης, 3-Ο-γλυκοζίτης πελαργονιδίνης, 3-ρουτινοζίτης πελαργονιδίνης, 3-Ο-γλυκοζίτης πεονιδίνης και 3-ρουτινοζίτης πεονιδίνης. Το υψηλότερο ολικό φαινολικό περιεχόμενο των βύσσινων έχει αποδοθεί στην υψηλότερη συγκέντρωση ανθοκυανινών και υδροξυ-κινναμωμικών οξέων. Μεταξύ των φαινολικών οξέων τα υδροξυ-κινναμωμικά (νεοχλωρογενικό και p-κουμαροϋλο-κινικό οξύ) έχουν ποσοτικοποιηθεί τόσο στα κεράσια όσο και στα βύσσιννα ενώ έχουν βρεθεί και φλαβονόλες και φλαβανόλες όπως κατεχίνη, επικατεχίνη, 3-Ο-γλυκοζίτης κερκετίνης, 3-ρουτινοζίτης κερκετίνης και 3-ρουτινοζίτης καμφερόλης. Οι διαφορετικές ποικιλίες κερασιών και βύσσινων εμφανίζουν μεγάλη μεταβλητότητα του φαινολικού τους περιεχομένου. Στα κεράσια το ολικό περιεχόμενο σε ανθοκυανίνες κυμαίνεται μεταξύ 30 - 79 mg CyGE/100 g ενώ στα βύσσιννα μεταξύ 45 - 109 mg CyGE/100 g (Ferretti et al., 2010). Αξίζει να σημειωθεί πως για τα αποξηραμένα βύσσιννα το ολικό περιεχόμενο σε ανθοκυανίνες έχει καταγραφεί με τιμή 1.1 mg CyGE/100 g (Caranoglu, 2014).

- Δαμάσκηνα

Οι φαινολικές ενώσεις των δαμάσκηνων εντοπίζονται κυρίως στο φλοιό τους. Πιο συγκεκριμένα, ο φλοιός περιέχει κυρίως ανθοκυανίνες όπως 3-ρουτινοζίτης κυανιδίνης και 3-ρουτινοζίτης πεονιδίνης οι οποίες τους δίνουν και το χαρακτηριστικό μωβ χρώμα. Στο φλοιό περιέχεται επίσης νεοχλωρογενικό οξύ ενώ το εξωκάρπιο περιέχει σημαντικές ποσότητες ρουτίνης και κατεχίνης. Το χλωρογενικό οξύ είναι επίσης σημαντικό ενώ υπάρχουν μόνο ίχνη καφεϊκού οξέος (Maria Stacewicz-Sapuntzakis et al., 2001).

Μεταξύ 20 διαφορετικών Ευρωπαϊκών γονοτύπων δαμάσκηνου το ολικό φαινολικό περιεχόμενο έχει βρεθεί να κυμαίνεται μεταξύ 86 - 413 mg GAE/100 g υπερβαίνοντας τα ευρήματα άλλων μελετών. Ωστόσο αξίζει να σημειωθεί πως το ολικό φαινολικό περιεχόμενο όταν προσδιορίζεται στα δαμάσκηνα με την μέθοδο Folin-Ciocalteu φαίνεται να υποεκτιμάται δεδομένου πως το χλωρογενικό και το νεοχλωρογενικό οξύ που παίζουν μείζονα ρόλο στη διαμόρφωση του ολικού φαινολικού περιεχομένου έχουν χαμηλότερη απόκριση σε αυτή τη μέθοδο σε σχέση με το γαλλικό οξύ.

Κατά τη διαδικασία αφυδάτωσης των δαμάσκηνων ο ρυθμός αποικοδόμησης στο εξωκάρπιο είναι πολύ ταχύτερος σε σχέση με τη σάρκα με αποτέλεσμα οι ανθοκυανίνες και οι κατεχίνες συνήθως να απουσιάζουν στα αποξηραμένα δαμάσκηνα ενώ και άλλες φαινολικές ενώσεις αποικοδομούνται από ένζυμα που ενεργοποιούνται κατά την επεξεργασία τους. Έχει φανεί πως περίπου το ήμισυ του ολικού φαινολικού περιεχομένου χάνεται κατά την ξήρανση των δαμάσκηνων ενώ έχει καταγραφεί μείωση του νεοχλωρογενικού οξέος από 3.1 mg σε 1.9 mg, του χλωρογενικού οξέος από 0.5 σε 0.3 mg και του κρυπτοχλωρογενικού οξέος από 0.4 σε 0.25 mg/g ξηρού βάρους λυοφιλιωμένων δειγμάτων (Maria Stacewicz-Sapuntzakis et al., 2001). Το ολικό περιεχόμενο σε ανθοκυανίνες έχει βρεθεί 1.2 mg CyGE/100 g (Caranoglu, 2014).

Παρόλα αυτά τα αποξηραμένα δαμάσκηνα περιέχουν υψηλότερες ποσότητες φαινολικών ενώσεων σε σχέση με τα φρέσκα καθώς η αφυδάτωση αυξάνει τη συγκέντρωση των συστατικών παρά την μερική τους υποβάθμιση. Το νεοχλωρογενικό οξύ αντιπροσωπεύει το 71% του ολικού φαινολικού περιεχομένου και το χλωρογενικό το 24%. Η ρουτίνη εξακολουθεί να υπάρχει σε ποσοστό 2% ενώ ανευρίσκονται και μικρές ποσότητες καφεϊκού και κουμαρικού οξέος (1%) πιθανώς λόγω υδρόλυσης των κινναμωμικών οξέων κατά την επεξεργασία των δαμάσκηνων (Maria Stacewicz-Sapuntzakis et al., 2001). Πιο συγκεκριμένα, στα αποξηραμένα δαμάσκηνα το ολικό φαινολικό περιεχόμενο κυμαίνεται μεταξύ 137 - 1392 mg GAE/100g (A Chiu et al., 2015). Σε άλλη μελέτη βέβαια το ολικό φαινολικό περιεχόμενο αναφέρεται να είναι 111 mg/ 100 g με το νεοχλωρογενικό και το χλωρογενικό οξύ να κυριαρχούν με ποσοστά 73% και 13%, αντίστοιχα και τις ανθοκυανίνες, τις κατεχίνες και τη ρουτίνη να ανευρίσκονται σε πολύ μικρότερες ποσότητες (Caranoglu, 2014). Τέλος σε μελέτη αποξηραμένων δαμάσκηνων από την περιοχή της Αλγερίας έχει φανεί το ολικό φαινολικό περιεχόμενο να είναι περίπου 760 mg GAE/100 g, το ολικό περιεχόμενο σε ανθοκυανίνες 2 mg/100 g και το συνολικό περιεχόμενο σε φλαβονοειδή 70.1 mg ισοδυνάμων κερκετίνης/100 g (Ouchemoukh et al., 2012). Το ολικό περιεχόμενο σε φλαβονοειδή έχει βρεθεί επίσης με τιμή 53 mg ισοδυνάμων κατεχίνης/100 g (Caranoglu, 2014).

- Νεκταρίνια και Ροδάκινα

Το ολικό περιεχόμενο σε ανθοκυανίνες έχει αναφερθεί για τα νεκταρίνια μεταξύ 2.4 - 260.9 mg/100 g νωπού βάρους ενώ για τα ροδάκινα μεταξύ 3.1 - 273.6 mg/100 g. Σε Ιταλικές καλλιέργειες ροδάκινου και νεκταρινιού με κίτρινη και λευκή σάρκα έχει βρεθεί πως το χλωρογενικό οξύ, η κατεχίνη, η επικατεχίνη, η ρουτίνη και ο 3-O-γλυκοζίτης κυανιδίνης

αποτελούν τις επικρατέστερες φαινολικές ενώσεις οι οποίες εντοπίζονται κυρίως στον φλοιό. Οι αναφορές σχετικά με το φαινολικό περιεχόμενο των αποξηραμένων ροδάκινων και νεκταρινιών είναι πολύ σπάνιες. Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ροδάκινων που έχουν αφυδατωθεί στους 49°C έχει αναφερθεί να φτάνει έως τα 969 και 630 mg GAE/100 g για εμπορικά και εργαστηριακά δείγματα των Η.Π.Α, αντίστοιχα ενώ το αντίστοιχο ολικό περιεχόμενο σε ανθοκυανίνες έχει αναφερθεί έως 3.3 και 16.3 mg ισοδυνάμων 3-O-γλυκοζίτη μαλβιδίνης ανά 100 g. Ακόμη, το ολικό φαινολικό περιεχόμενο αμερικανικών λυοφιλιωμένων ή ζεματισμένων ροδάκινων έχει υπολογιστεί έως 105 και 122 mg GAE/100 g ενώ σε λυοφιλιωμένα νεκταρίνια και ροδάκινα από την Νέα Ζηλανδία το ολικό περιεχόμενο σε ανθοκυανίνες έχει βρεθεί μεταξύ 58.2 - 71.2 και 7 - 11.6 $\mu\text{g CyGE/ g}$ του ξηρού φρούτου, αντίστοιχα (A Chiou et al., 2015) (Threlfall, Morris, & Meullenet, 2007).

- Σύκα

Τα σύκα περιέχουν τόσο φλαβονοειδείς όσο και μη φλαβονοειδείς ενώσεις όπως φαινολικά οξέα και προανθοκυανιδίνες. Στη φλούδα 18 ισπανικών σύκων έχουν ταυτοποιηθεί ανθοκυανίνες: 3-O-γλυκοζίτης κυανιδίνης και 3-ρουτινοζίτης κυανιδίνης, παράγωγα της λουτεολίνης και της απιγενίνης, γλυκοζίτες καμφερόλης και κερκετίνης καθώς και χλωρογενικό οξύ. Στη σάρκα έχουν επίσης βρεθεί ο 3-ρουτινοζίτης κυανιδίνης και ο ρουτινοζίτης κερκετίνης. Τα αποξηραμένα σύκα έχει βρεθεί πως περιέχουν υψηλότερες ποσότητες φαινολικών ενώσεων σε σχέση με τα φρέσκα λόγω της αφυδάτωσης. Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο έχει βρεθεί έως 540 mg GAE/100g αποξηραμένου σύκου στην περιοχή της Μεσογείου ενώ έχουν επίσης καταγραφεί τιμές έως και 960 mg GAE/100 g. Έχει επίσης αναφερθεί η παρουσία ανθοκυανινών (5.9 mg/100 g) ενώ στα ξηρά σύκα απαντάται και ποικιλία άλλων φαινολικών ενώσεων, κυρίως φλαβονόλες. Το περιεχόμενο σε ρουτίνη των ξηρών σύκων έχει αναφερθεί έως 21.6 mg/100 g ενώ σε κατεχίνη και επικατεχίνη συνολικά 1 mg/100 g. Ακόμη, έχει ανιχνευθεί χλωρογενικό οξύ ενώ μελέτες έχουν καταδείξει περιεχόμενο σε δαϊσδεΐνη και γενιστεΐνη 1.8 mg/100g και 4.2 mg/100g, αντίστοιχα (A Chiou et al., 2015; Ouchemoukh et al., 2012; Vallejo, Marín, & Tomás-Barberán, 2012).

3.2 Επίδραση της ξήρανσης στα φαινολικά συστατικά

Γενικά οι φαινολικές ενώσεις τείνουν να μειώνονται κατά την ξήρανση των τροφίμων πιθανώς λόγω της θερμικής αποικοδόμησής τους που εξαρτάται από τις τεχνικές ξήρανσης που

χρησιμοποιούνται. Ωστόσο λόγω του φαινομένου της συγκέντρωσης που οφείλεται στην απομάκρυνση του νερού, το φαινολικό περιεχόμενο των ξηρών φρούτων μπορεί να είναι περιστασιακά μεγαλύτερο από των αντίστοιχων φρέσκων ενώ η ενίσχυση της αντιοξειδωτικής δράσης πιθανώς οφείλεται και στην παραγωγή προϊόντων της αντίδρασης Maillard. Πιο συγκεκριμένα, οι παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την σταθερότητα των φαινολικών ενώσεων και ιδιαίτερα των ανθοκυανινών είναι η θερμοκρασία επεξεργασίας, το pH, η θερμοκρασία αποθήκευσης, το είδος των φαινολικών ενώσεων, η παρουσία οξυγόνου, ενζύμων, πρωτεϊνών και μεταλλικών ιόντων. Το αποτέλεσμα της επίδρασης στα φαινολικά συστατικά φαίνεται τελικά να προκύπτει από έναν συνδυασμό των παραπάνω παραμέτρων (A Chiou et al., 2015; Omolola et al., 2017).

Οι φλαβονόλες στα φρούτα αποτελούνται κυρίως από γλυκοζίτες καμφερόλης και κερκετίνης. Το περιεχόμενο σε καμφερόλη και κερκετίνη του αποξηραμένου με μικροκύματα ή με θερμό αέρα ή του λυοφιλωμένου raspberry έχει βρεθεί να μειώνεται από 2% έως 92% σε σχέση με το αντίστοιχο φρέσκο. Αντίθετα, το περιεχόμενο του 3-O-γλυκοζίτη καμφερόλης σε αποξηραμένα με χρήση φούρνου ή ηλιακής ακτινοβολίας σύκα έχει βρεθεί ότι αυξάνεται 2 έως 24 φορές. Ακόμη, η ξήρανση σε φούρνο στους 62 - 64°C για 24 ώρες και η ξήρανση στον ήλιο στους 31 - 34°C για 8 ημέρες φαίνεται να προκαλούν από 16% έως 10 φορές αύξηση στο περιεχόμενο των σύκων σε ρουτίνη. Ο γλυκοζίτης λουτεολίνης δεν ανιχνεύεται σε φρέσκα σύκα αλλά η ξήρανση σε φούρνο ή με ηλιακή ακτινοβολία φαίνεται να προκαλεί το σχηματισμό αυτής της ένωσης (Kamiloglu et al., 2016).

Το μέγεθος και η διάρκεια της θέρμανσης επηρεάζουν σημαντικά την σταθερότητα των ανθοκυανινών όμως ο μηχανισμός αποικοδόμησής τους δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί. Συσχέτιση μεταξύ της θερμοκρασίας του αέρα και της απώλειας φαινολικών έχει παρατηρηθεί κατά την ξήρανση του βύσσινου όπου υπάρχουν απώλειες στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο 44%-49% ανάλογα με την εφαρμοζόμενη θερμοκρασία (50 - 70 °C). Κατά την παραγωγή αποξηραμένων δαμάσκηνων τα αντιοξειδωτικά έρχονται αντιμέτωπα με σοβαρή υποβάθμιση λόγω της αυξημένης θερμοκρασίας που προκαλεί διάσπαση των κυτταρικών τοιχωμάτων και ενεργοποίηση ενζύμων όπως οι οξειδάσες των πολυφαινολών και οι υπεροξειδάσες. Τα ένζυμα αυτά όμως είναι θερμικά ασταθή συνεπώς το ζεμάτισμα πριν την ξήρανση ή η υψηλή θερμοκρασία ξήρανσης μπορεί να προστατεύσουν τελικά τα φαινολικά από την αποικοδόμηση (A Chiou et al., 2015).

Η ξήρανση με απευθείας έκθεση στον ήλιο φαίνεται ότι επιδρά σε άλλες περιπτώσεις θετικά και σε άλλες αρνητικά στο περιεχόμενο σε φαινολικά συστατικά. Συμπληρωματικά με τα όσα αναφέρονται στις προηγούμενες παραγράφους σημειώνονται τα ακόλουθα: μελέτη σε χουρμάδες κατέδειξε ότι το ολικό φαινολικό περιεχόμενο αυξήθηκε σημαντικά μετά την ξήρανση ενώ μόνο το 15% του αρχικού περιεχομένου σε ανθοκυανίνες ανιχνεύθηκε στο αποξηραμένο προϊόν. Μεταξύ των άλλων φαίνεται ότι κατά τη διάρκεια της ξήρανσης των φρούτων οι περιεχόμενες ταννίνες μπορούν να αποικοδομηθούν οδηγώντας σε απελευθέρωση φαινολικών συστατικών. Το περιεχόμενο των αποξηραμένων χουρμάδων σε υδροξυ-κινναμωμικά οξέα βρέθηκε μειωμένο κατά 96%, γεγονός που αποδόθηκε σε δράσεις ενζύμων. Από την άλλη πλευρά, μελέτη σε αχλάδια κατέδειξε σημαντική μείωση του ολικού φαινολικού περιεχομένου (Vallejo et al., 2012).

3.3 Βιοπροσβασιμότητα και βιοδιαθεσιμότητα φαινολικών ενώσεων

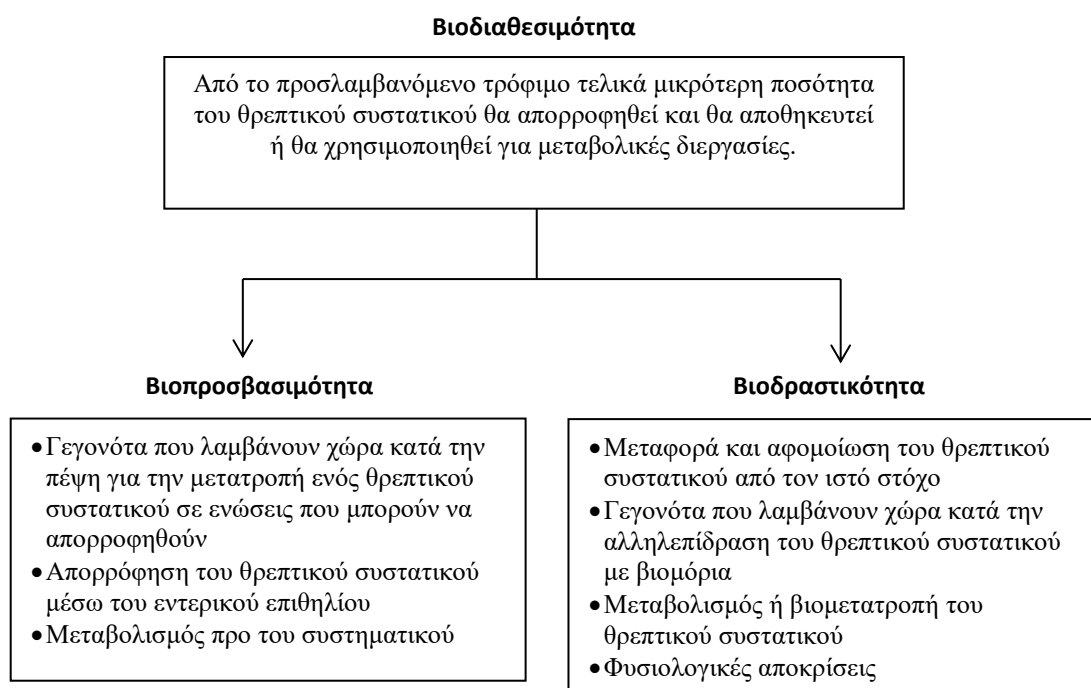
Για να διασαφηνιστεί η σημασία των φαινολικών ενώσεων στην ανθρώπινη υγεία είναι απαραίτητο να γνωρίζουμε την ποσότητα που καταναλώνεται με τη δίαιτα. Όμως οι φαινολικές ενώσεις πρέπει να είναι διαθέσιμες σε κάποιο βαθμό στον ιστό στόχο προκειμένου να ασκήσουν τις βιολογικές τους δράσεις. Συνεπώς οι βιολογικές ιδιότητες των φαινολικών ενώσεων εξαρτώνται από τη βιοδιαθεσιμότητά τους.

Ως βιοπροσβασιμότητα ορίζεται η ποσότητα ενός συστατικού της τροφής που βρίσκεται στο έντερο και είναι σε θέση να απορροφηθεί δηλαδή είναι δυνητικά βιοδιαθέσιμο. Για να συμβεί αυτό πρέπει να έχει απελευθερωθεί από τον βλωμό της τροφής είτε με τη δράση πεπτικών ενζύμων στο λεπτό έντερο είτε από την μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου. Οι βιοπροσβάσιμες φαινολικές ενώσεις μπορεί να διαφέρουν ποσοτικά και ποιοτικά από τις φαινολικές ενώσεις που περιλαμβάνονται στις διάφορες βάσεις δεδομένων καθώς τα φυτικά τρόφιμα περιέχουν άπεπτες ενώσεις που δεν απορροφώνται στο λεπτό έντερο και αποτελούνται όχι μόνο από φυτικές ίνες αλλά και από άλλες ενώσεις με αποδεδειγμένη αντίσταση στα πεπτικά ένζυμα όπως ανθεκτικό άμυλο, ανθεκτικές πρωτεΐνες, πολυφαινόλες, ενώσεις Maillard κ.ά. Τα άπεπτα αυτά υλικά περνούν στο παχύ έντερο όπου υφίστανται ζύμωση από τη μικροχλωρίδα και τα υπολείμματά τους απεκκρίνονται με τα κόπρανα (Saura-Calixto, Serrano, & Goñi, 2007). Η βιοπροσβασιμότητα περιλαμβάνει ολόκληρη την ακολουθία συμβάντων που λαμβάνουν χώρα κατά την πέψη και την απορρόφηση καθώς και τον εντερικό και ηπατικό μεταβολισμό.

Η έννοια της βιοδραστικότητας περιλαμβάνει γεγονότα που συνδέονται με το πώς οι φαινολικές ενώσεις μεταφέρονται και φτάνουν στον ιστό στόχο, πώς αλληλεπιδρούν με τα διάφορα βιομόρια, πώς μεταβολίζονται και βιομετατρέπονται καθώς και με το ποιες φυσιολογικές αποκρίσεις προκαλούν.

Ο όρος βιοδιαθεσιμότητα αναφέρεται στο ποσοστό των βιοδραστικών ενώσεων που προσλαμβάνονται με τη διατροφή οι οποίες είναι σε θέση να συμμετέχουν στις φυσιολογικές λειτουργίες του οργανισμού ή να αποθηκεύονται (Fernández-García et al., 2009). Με άλλα λόγια είναι η ποσότητα των βιοδραστικών ενώσεων της δίαιτας που πέπτονται, απορροφώνται και μεταβολίζονται μέσω φυσιολογικών οδών (A Chiou et al., 2015).

Στο Σχήμα 3.1 απεικονίζεται η σχέση των παραπάνω όρων ώστε να αποσαφηνιστεί η χρήση του καθενός.



Σχήμα 3.1. Σχέση Βιοδιαθεσιμότητας, Βιοπροσβασιμότητας και Βιοδραστικότητας (Fernández-García, Carvajal-Lérida, & Pérez-Gálvez, 2009)

Επιστημονικές έρευνες έχουν δείξει πως οι φαινολικές ενώσεις είναι γενικά βιοδιαθέσιμες αλλά σε ποικίλο βαθμό που εξαρτάται από διάφορες παραμέτρους. Οι ισοφλαβόνες και το

γαλλικό οξύ θεωρείται ότι απορροφούνται καλά ενώ οι ανθοκυανίνες και οι προανθοκυανιδίνες είναι οι λιγότερο απορροφήσιμες φαινολικές ενώσεις.

Η βιοπροσβασιμότητα και η βιοδιαθεσιμότητα εξαρτώνται από τις φυσικές ιδιότητες των τροφίμων που καταναλώνονται οι οποίες με τη σειρά τους επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα των φυσικοχημικών και ενζυμικών διεργασιών της πέψης (A Chiou et al., 2015). Η δημιουργία συμπλόκων με άλλα συστατικά της τροφής, η προσκόλληση σε οργανίδια, ο περιορισμός εντός των τοιχωματικών κυττάρων ή η παγίδευση εντός του βλωμού μπορεί να επηρεάσει την απελευθέρωση του εκάστοτε συστατικού που μελετάται (Parada & Aguilera, 2007).

Πιο συγκεκριμένα, έχει φανεί πως στα φρούτα οι φυτικές ίνες επηρεάζουν σημαντικά την βιοπροσβασιμότητα και συνεπώς και τη βιοδιαθεσιμότητα των φυτοχημικών. Ο τρόπος που επιδρούν έγκειται στην παρεμπόδιση της απελευθέρωσής τους από το βλωμό και στην παγίδευση των φαινολικών ενώσεων στον γαστρεντερικό αυλό κατά την πέψη λόγω της αύξησης του ιξώδους των γαστρικών υγρών που περιορίζει την περισταλτικότητα του γαστρεντερικού σωλήνα. Ακόμη μπορεί να πραγματοποιείται σύνδεση των χολικών αλάτων και ίσως και κάποιων ενζύμων με ορισμένες φυτικές ίνες (Palafox-Carlos, Ayala-Zavala, & González-Aguilar, 2011). Παρακάτω θα αναφερθούμε σε δεδομένα για την βιοπροσβασιμότητα και βιοδιαθεσιμότητα φαινολικών ενώσεων σε ορισμένα από τα ξηρά φρούτα που πραγματεύεται αυτή η πτυχιακή εργασία.

- Αποξηραμένα βερίκοκα

Ως προς τη βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών ενώσεων στα ξηρά βερίκοκα έχει βρεθεί πως μετά την γαστρική πέψη το φαινολικό περιεχόμενο αυξάνει κατά 3 φορές σε σχέση με το αρχικό περιεχόμενο του εκχυλίσματος, πιθανώς λόγω της όξινης υδρόλυσης των φαινολικών γλυκοζιτών, ενώ μετά την εντερική πέψη η ποσότητα των φαινολικών είναι της τάξης του 63% της αρχικής ποσότητας (Kamiloglu, Pasli, Ozcelik, & Capanoglu, 2014).

- Αποξηραμένα δαμάσκηνα

Το χλωρογενικό οξύ και τα ισομερή του κυριαρχούν της φαινολικής σύστασης των ξηρών δαμάσκηνων (M. Stacewicz-Sapuntzakis, 2013). Το χλωρογενικό οξύ έχει βρεθεί πως απορροφάται μερικώς στην ανώτερη γαστρεντερική οδό, ενώ υφίσταται εκτεταμένο μεταβολισμό από το ήπαρ ή τους νεφρούς. Μεταβολίζεται επίσης από τη μικροχλωρίδα του

παχέος εντέρου σε καφεϊκό και κινικό οξύ. Σε μελέτες *in vitro* έχει βρεθεί πως τα βακτήρια του παχέος εντέρου μεταβολίζουν το καφεϊκό οξύ και τους εστέρες του (χλωρογενικό οξύ και καφταρικό οξύ) σε βενζοϊκό οξύ ενώ στο ήπαρ ή τους νεφρούς το βενζοϊκό οξύ ενώνεται με γλυκίνη και απεκκρίνεται στα ούρα ως ιππουρικό οξύ. Τα επίπεδα ιππουρικού οξέος στο πλάσμα και τα ούρα έχει βρεθεί πως αυξάνονται σημαντικά μετά την κατανάλωση αποξηραμένων δαμάσκηνων. Η αποικοδόμηση των προκυανιδινών στο παχύ έντερο και ο επακόλουθος εκτεταμένος μεταβολισμός των μονομερών κατεχίνης και επικατεχίνης μπορεί επίσης να συνεισφέρει στην αύξηση του ιππουρικού οξέος. Ίχνη άλλων υδροξυ-κινναμωμικών οξέων έχουν επίσης βρεθεί στο πλάσμα και στα ούρα ως αποτέλεσμα του μεταβολισμού του χλωρογενικού οξέος μετά την πρόσληψη ξηρών δαμάσκηνων (A Chiou et al., 2015).

- Αποξηραμένα σύκα

Στην περίπτωση του χλωρογενικού οξέος έχει βρεθεί πως τα διαλυμένα κλάσματα μετά την εντερική πέψη κίτρινων και μωβ σύκων είναι 33% και 73% του αρχικού περιεχομένου, αντίστοιχα. Για την ρουτίνη οι αντίστοιχες τιμές ήταν πολύ χαμηλότερες, δηλαδή 13% και 9%. Ακόμη μετά την γαστρική πέψη παρατηρήθηκε μια αύξηση στις ανθοκυανίνες των μωβ ξηρών σύκων κάτι που πιθανώς αποδίδεται στην επίδραση του pH το οποίο μετά την γαστρική πέψη ήταν σημαντικά χαμηλότερο από του ίδιου του φρούτου αποδίδοντας έτσι αύξηση της συγκέντρωσης του κατιόντος φλαβυλίου στο διάλυμα. Η εντερική πέψη έχει ως αποτέλεσμα μη ανιχνεύσιμες ποσότητες ανθοκυανινών. Η απώλεια αυτή μπορεί να οφείλεται σε διάφορους λόγους όπως ο σχηματισμός άχρωμων μεταβολιτών, η οξειδωση, η υποβάθμιση κ.ά (A Chiou et al., 2015).

3.4 Ξηρά Φρούτα και Υγεία

Οι διαιτητικές φαινολικές ενώσεις προσελκύουν όλο και μεγαλύτερο ενδιαφέρον καθώς μπορεί να συμβάλλουν στη μείωση της επίπτωσης εκφυλιστικών ασθενειών. Ωστόσο οι μέχρι στιγμής επιστημονικές αποδείξεις δεν είναι πολύ ισχυρές γι' αυτό και χρειάζονται περισσότερες έρευνες σε ανθρώπους. Συνήθως οι θετικές επιδράσεις τους στην υγεία αποδίδονται στην αντιοξειδωτική τους ικανότητα (Cheynier, 2012).

Τα χρόνια νοσήματα είναι ασθένειες μεγάλης διάρκειας και αργής εξέλιξης που εκτιμάται πως ευθύνονται για περισσότερο από το 63% των ετήσιων θανάτων παγκοσμίως. Ανάμεσά τους, οι

4 κύριοι τύποι ασθενειών είναι ο καρκίνος, οι καρδιαγγειακές παθήσεις, οι χρόνιες αναπνευστικές ασθένειες και ο σακχαρώδης διαβήτης. Έχει προταθεί πως οι φαινολικές ενώσεις και κυρίως τα φλαβονοειδή συμβάλλουν στη μείωση της εμφάνισης αυτών των ασθενειών. *In vitro* δοκιμές έδειξαν ότι οι φαινολικές ενώσεις αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων, προστατεύουν τους νευρώνες, βελτιώνουν την έκκριση ινσουλίνης, μειώνουν την αγγείωση και διεγείρουν την αγγειοδιαστολή (Haminiuk et al., 2012). Ακόμη φαίνεται να προστατεύουν τους ιστούς από το οξειδωτικό stress ενώ διαθέτουν και αντι-φλεγμονώδεις ιδιότητες καθώς και την ικανότητα να αναστέλλουν την συσσώρευση αιμοπεταλίων, να μειώνουν την έκφραση μορίων προσκόλλησης, να προάγουν την χαλάρωση του ενδοθηλίου από το μονοξείδιο του αζώτου και να προάγουν και την μείωση των επιπέδων χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων (A Chiou et al., 2015).

Τα φρούτα όπως έχει ήδη αναφερθεί κατέχουν ιστορική θέση στη διατροφή των ανθρώπων και τα συναντάμε στις εκάστοτε διατροφικές οδηγίες λόγω των συγκεντρώσεών τους σε βιταμίνες, μέταλλα, φυτοχημικά και φυτικές ίνες (A Chiou et al., 2007).

Η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών μειώνει τον κίνδυνο πολλών χρόνιων ασθενειών όπως ο καρκίνος, τα καρδιαγγειακά νοσήματα, η παχυσαρκία και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II. Τα οφέλη των αποξηραμένων φρούτων προς την υγεία οφείλονται κυρίως στα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά και στα φυτοχημικά που περιέχουν (όπως καροτενοειδή, φυτοοιστρογόνα και φαινολικές ενώσεις) καθώς και στις αντιοξειδωτικές δράσεις αυτών. Ακόμη έχει φανεί πως η αυξημένη πρόσληψη καλίου από τα φρούτα μπορεί να μειώσει την αρτηριακή πίεση ενώ οι φυτικές ίνες συνιστώνται για μείωση του κινδύνου εμφάνισης δυσκοιλιότητας, σακχαρώδη διαβήτη τύπου II, παχυσαρκίας, εκκολπωματίτιδας, καρκίνου παχέος εντέρου και καρδιαγγειακών παθήσεων (Alasalvar & Shahidi, 2013). Τα αποξηραμένα φρούτα έχουν γλυκιά γεύση συνεπώς θα περίμενε κανείς να έχουν υψηλό γλυκαιμικό δείκτη (≥ 70). Πρόσφατες μελέτες όμως έχουν δείξει πως τα αποξηραμένα φρούτα έχουν από χαμηλό (≤ 55) έως μέτριο γλυκαιμικό δείκτη (56-69) και γλυκαιμική απόκριση παρόμοια με αυτή των φρέσκων φρούτων. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην ύπαρξη φυτικών ινών, πολυφαινολών και ταννινών ενώ άλλοι παράγοντες που μπορεί να συμβάλλουν είναι η κολλώδης υφή των ξηρών φρούτων κατά τη μάσηση, η δομή τους, η παρουσία οργανικών οξέων και ο τύπος των σακχάρων τους (περίπου το 50% των σακχάρων στα παραδοσιακά αποξηραμένα φρούτα είναι φρουκτόζη) (Alasalvar & Shahidi, 2013; Omolola et al., 2017). Γενικά τα τρόφιμα με χαμηλό γλυκαιμικό δείκτη βοηθούν

στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης σακχαρώδη διαβήτη ενώ είναι χρήσιμα και όταν έχει ήδη αναπτυχθεί η ασθένεια αυτή. Ακόμα τα ξηρά φρούτα και κυρίως τα δαμάσκηνα συμβάλλουν στη διατήρηση της υγείας των οστών ενώ ορισμένα άλλα όπως οι σταφίδες προάγουν την υγεία των δοντιών και των ούλων (Alasalvar & Shahidi, 2013). Αξίζει να σημειωθεί πως στις περισσότερες περιπτώσεις μια ευεργετική δράση δε φαίνεται να οφείλεται σε ένα μόνο συστατικό αλλά σε συνέργεια διαφόρων συστατικών (Chang et al., 2016).

Τα αποξηραμένα βερίκοκα φαίνεται να ασκούν προστατευτική δράση έναντι στην επαγόμενη από μεθοτρεξάτη εντερική βλάβη σε αρουραίους. Πιο συγκεκριμένα, στην ομάδα που τρεφόταν με βερίκοκα παρατηρήθηκε μειωμένος ρυθμός ατροφίας του εντέρου σε συνδυασμό με μεγαλύτερο μήκος των εντερικών λαχνών, μεγαλύτερο βάθος των κρυπτών και μεγαλύτερο αριθμό κυττάρων goblet και μιτώσεων. Επίσης στα βερίκοκα έχουν αποδοθεί ηπατοπροστατευτικές δράσεις.

Στα αποξηραμένα βύσσινα και κεράσια έχουν επίσης αποδοθεί διάφορες δυνητικές δράσεις που προάγουν την υγεία σε σχέση με την πρόληψη του καρκίνου, των καρδιαγγειακών παθήσεων, του διαβήτη και άλλων φλεγμονωδών νόσων (A Chiou et al., 2015).

Τα αποξηραμένα δαμάσκηνα περιέχουν σορβιτόλη μία ένωση με αποδεδειγμένη καθαρτική δράση καθώς και χλωρογενικό και υδροξυκινναμωμικό οξύ που μπορεί να συνεισφέρουν στην κινητικότητα του εντέρου. Τα δαμάσκηνα μπορεί επίσης να ασκούν πρεβιοτική δράση μέσω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε φυτικές ίνες. Η σορβιτόλη, μάλιστα, έχει βρεθεί πως υφίσταται *in vitro* ζύμωση από τα βακτήρια του παχέος εντέρου προς οργανικά οξέα βραχείας αλύσου τα οποία εμφανίζουν αντιφλεγμονώδεις και αντινεοπλασματικές ιδιότητες. Τέλος, πολυάριθμες μελέτες σε ζώα έχουν καταδείξει πως τα δαμάσκηνα μπορεί τόσο να αποτρέπουν όσο και να αναστρέφουν την ορμονοεξαρτώμενη απώλεια οστικής μάζας (A Chiou et al., 2015; Maria Stacewicz-Sapuntzakis et al., 2001).

Στα ροδάκινα έχει αποδοθεί η εξασθένιση της ηπατοτοξικότητας που επάγεται από την χημειοθεραπεία, η αναστολή της αλλεργικής φλεγμονώδους απόκρισης καθώς και η αναστολή της επαγόμενης από την αγγειοτενσίνη II μεταγωγής σήματος στα αγγειακά κύτταρα των λείων μυών (A Chiou et al., 2015).

Τα ξηρά σύκα χρησιμοποιούνταν από παλιά σε μεταβολικές, καρδιαγγειακές και αναπνευστικές διαταραχές καθώς και κατά των φλεγμονωδών αντιδράσεων. Επιστημονικές

ενδείξεις υποστηρίζουν διάφορες δράσεις των σύκων που προάγουν την υγεία όπως αντικαρκινικές, υπολιπιδαιμικές, αντιβακτηριδιακές και αντιμυκητιακές δράσεις *in vitro*, αντιαιμοπεταλιακές *ex vivo* και ηπατοπροστατευτικές και υπογλυκαιμικές δράσεις σε μελέτες σε ζώα. Σε μια πιο πρόσφατη μελέτη αξιολογήθηκαν πλούσια σε πολικές φαινολικές ενώσεις εκχυλίσματα Ιταλικών αποξηραμένων στον ήλιο σύκων ως αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης και της βουτυρυλοχολινεστεράσης. Οι αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης μπορούν να θεωρηθούν ως χρήσιμη θεραπευτική προσέγγιση για την θεραπεία της νόσου Alzheimer καθώς και άλλων μορφών άνοιας. Αντίστοιχα, η βουτυρυλοχολινεστεράση αποτελεί το κυρίαρχο ένζυμο κατά τα τελευταία στάδια της νόσου Alzheimer και γι' αυτό αποτελεί στόχο για αναστολή (A Chiou et al., 2015; Mawa et al., 2013).

Πειραματικό Μέρος

Σκοπός

Συνεχώς αυξανόμενα δεδομένα δείχνουν πως δίαιτες πλούσιες σε φυτικά τρόφιμα δρουν προστατευτικά έναντι μιας μεγάλης ποικιλίας ασθενειών. Αυτές οι προστατευτικές ιδιότητες αποδίδονται κυρίως στην παρουσία βιοδραστικών φυτοχημικών στα οποία συμπεριλαμβάνονται και οι φαινολικές ενώσεις, οι θετικές επιδράσεις των οποίων αποδίδονται κυρίως, αλλά όχι μόνο, στην αντιοξειδωτική τους ικανότητα.

Όπως προαναφέρθηκε, τα φρούτα είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικά εκ των οποίων τα πιο άφθονα είναι οι πολικές φαινόλες, οι λιποδιαλυτές και υδατοδιαλυτές βιταμίνες και τα καροτενοειδή ενώ αποτελούν και εξαιρετικές πηγές φυτικών ινών.

Δεδομένου ότι τα αποξηραμένα φρούτα έχουν μακρά παράδοση στη διατροφή των ανθρώπων είναι σημαντικό να αξιολογήσουμε το περιεχόμενό τους σε φαινολικές ενώσεις. Στη σύγχρονη εποχή αυτό καθίσταται ακόμα πιο επιτακτικό, καθώς τα ξηρά φρούτα είναι ιδιαίτερα διαδεδομένα λόγω των πλεονεκτημάτων που παρέχουν έναντι των αντίστοιχων φρέσκων, όπως η μεγαλύτερη διάρκεια συντήρησής τους καθώς και το μειωμένο βάρος και ο μειωμένος όγκος τους που οδηγούν σε μικρότερο κόστος αποθήκευσης, μεταφοράς, συσκευασίας και διανομής τους. Όλα τα παραπάνω συνηγορούν στη δυνατότητα επέκτασης της κατανάλωσης ειδών ξηρών φρούτων και σε περιοχές που μέχρι σήμερα δεν ήταν διαδεδομένα.

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία εξετάζεται το περιεχόμενο σε πολικές φαινολικές ενώσεις παραδοσιακά αποξηραμένων φρούτων της Μεσογείου καθώς και η επιδεικνυόμενη αντιοξειδωτική δράση τους *in vitro*. Τα συγκεκριμένα φρούτα επιλέχθηκαν τόσο επειδή η ξήρανση στον ήλιο αποτελεί την αρχαιότερη, απλούστερη και οικονομικότερη μέθοδο αφυδάτωσης των τροφίμων, με αποτέλεσμα να παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον η επίδρασή της στις φαινολικές ενώσεις, όσο και επειδή στη βιβλιογραφία δε φαίνεται να υπάρχουν αρκετά δεδομένα για το φαινολικό περιεχόμενο ελληνικών ξηρών φρούτων, με αποτέλεσμα όσες λίγες εργασίες έχουν δημοσιευτεί [ενδεικτικά: (A Chiou et al., 2007) (Russo, Caroraso, Paduano, & Sacchi, 2014)] να χρειάζεται να συμπληρωθούν, καθώς η πληθώρα αποξηραμένων φρούτων που παράγονται στην Ελλάδα αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι της αγροτικής οικονομίας, της παράδοσης και της διατροφής.

Κεφάλαιο 4^ο: Πειραματικές διαδικασίες

4.1 Δείγματα και Δειγματοληψία

Τα φρούτα που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα αυτής της πτυχιακής μελέτης αποτελούν χαρακτηριστικά αποξηραμένα φρούτα που παράγονται και αποξηραίνονται παραδοσιακά στην Ελλάδα. Αναλυτικότερα, χρησιμοποιήθηκαν αποξηραμένα: βύσσινα, κεράσια (2 ποικιλίες: ξανθά και μαύρα), δαμάσκηνα (2 ποικιλίες: γλυκόξινα και ξινά), βερίκοκα, ροδάκινα και νεκταρίνια, όλα από την περιοχή της Έδεσσας καθώς και λευκά σύκα από την περιοχή του Νομού Μεσσηνίας. Τέλος, χρησιμοποιήθηκαν, επίσης, σύκα λευκά και μαύρα από την περιοχή του Πύργου Ηλείας που είχαν υποστεί επιπλέον επεξεργασία με εμβάπτιση σε βραστό νερό, καθώς και σύκα με προέλευση από την Άνδρο: στο ένα είδος είχε προστεθεί καρύδι ενώ στο άλλο δάφνη.

Δεδομένων των πολύ χαμηλών επιπέδων περιεχόμενης υγρασίας, όλα τα δείγματα μέχρι να χρησιμοποιηθούν αποθηκεύτηκαν σε ξηρό χώρο, σε θερμοκρασία δωματίου - δηλαδή περίπου στους 25°C - και εντός της συσκευασίας τους (Αρβανιτογιάννης & Τζούρος, 2004).

4.2 Παραλαβή φαινολικών συστατικών

Γενικά, η ανάκτηση των φαινολικών συστατικών από το υπόστρωμα των φρούτων γίνεται με εκχύλιση με διαλύτη. Ως μέσο παραλαβής των φαινολικών συστατικών επιλέχθηκε η οξινισμένη μεθανόλη καθώς σύμφωνα με τη βιβλιογραφία αποτελεί τον συχνότερα χρησιμοποιούμενο διαλύτη για την εκχύλιση πολικών φαινολικών συστατικών, συγκριτικά με την αιθανόλη ή το νερό (Castañeda-Ovando et al., 2009).

Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε βάσει πρωτοκόλλου που έχει περιγραφεί σε μελέτη προσδιορισμού του περιεχομένου Κορινθιακής σταφίδας σε ανθοκυανίνες, των Α. Chiou et al. (2014), με μικρές τροποποιήσεις. Σύμφωνα με το πρωτόκολλο αυτό, ως εκχυλιστικό μέσο χρησιμοποιείται οξινισμένη με υδροχλωρικό οξύ μεθανόλη (MeOH/HCl 0,1% v/v) για 2 ώρες.

Αντιδραστήρια

- Δείγματα φρούτων
- Μεθανόλη χρωματογραφικής καθαρότητας

- Υδροχλωρικό οξύ (HCl)

Εργαστηριακά όργανα και σκεύη

- Ογκομετρικός κύλινδρος 1 L
- Χωνί
- Σιφώνια 10 mL - πουάρ
- Εργαστηριακός απαγωγός
- Υαλογράφος μαρκαδόρος (FABER - CASTELL)
- Πορσελάνινο γουδί
- Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες με βιδωτό πώμα 10 mL και 20 mL
- Αναλυτικός ζυγός ακρίβειας 4 δεκαδικών ψηφίων (0,0000 g) (Sartorius BP221 S)
- Σπάτουλα ζυγίσεως μικροποσοτήτων
- Ποτήρια ζέσεως 10 mL
- Αναδευτήρας VORTEX (J.P. Selecta, s.a.)
- Λουτρό υπερήχων Elma S 60 Elmasonic
- Ανακινούμενη πλάκα (SHAKER 35 - Labnet)
- Αλουμινόχαρτο
- Επιτραπέζια φυγόκεντρος (HERMLE Z 320)
- Γυάλινες πιπέτες Pasteur - φούσκες πληρώσεως
- Γυάλινες φιάλες 250 mL
- Περιτροφικός εξατμιστήρας (Heidolph Laborata 4000 efficient)
- Centrivap concentrator speed vacuum (LABCONCO)
- Αυτόματη πιπέτα (100-1000 μ L) (Gilson S.A.S) - tips
- Αυτόματη πιπέτα (10-100 μ L) (Gilson S.A.S) – tips
- Parafilm

Αναλυτική πορεία

Αρχικά παρασκευάστηκε ποσότητα 2 L από το εκχυλιστικό μέσο, δηλαδή την οξινισμένη με υδροχλωρικό οξύ μεθανόλη (MeOH/HCl 0,1% v/v), η οποία αποθηκεύτηκε σε κατάλληλο περιέκτη. Στη συνέχεια, από κάθε αποξηραμένο φρούτο, ποσότητα περίπου 20 g πολτοποιήθηκε και ομογενοποιήθηκε μηχανικά με πορσελάνινο γουδί. Από την πολτοποιημένη μάζα, ζυγίστηκε σε αναλυτικό ζυγό περίπου 1,5 g με ακρίβεια 4 δεκαδικών ψηφίων και τοποθετήθηκε σε δοκιμαστικό σωλήνα των 10 mL. Στη συνέχεια προστέθηκαν 5 mL από το εκχυλιστικό μέσο. Ακολούθησε ανάδευση σε vortex και εφαρμογή λουτρού υπερήχων για 10 min. Στη συνέχεια, το δείγμα τοποθετήθηκε σε ανακινούμενη πλάκα όπου και αφέθηκε να αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου και σε συνθήκες σκότους για 2 h. Ακολούθησε φυγοκέντρηση για 5 min στις 3100 rpm και παραλαβή του υπερκείμενου εκχυλίσματος με γυάλινη πιπέτα Pasteur. Το υπερκείμενο συλλέχτηκε σε δοκιμαστικό σωλήνα των 20 mL. Το υπόλειμμα εκχυλίστηκε τρεις ακόμα φορές με προσθήκη οξινισμένης μεθανόλης (5 mL κάθε φορά). Για κάθε διαδικασία εκχύλισης, πραγματοποιήθηκε ανακίνηση

σε vortex, φυγοκέντρωση και συλλογή του εκχυλίσματος στον ίδιο περιέκτη. Ακολούθως, το εκχύλισμα αφού μεταφέρθηκε ποσοτικά σε γυάλινη φιάλη, εξατμίστηκε σε περιστροφικό εξατμιστήρα ώστε ο τελικός όγκος να είναι $< 10 \text{ mL}$. Έπειτα μεταφέρθηκε ποσοτικά σε δοκιμαστικούς σωλήνες των 10 mL και ακολούθησε εξάτμιση μέχρι όγκου $< 2 \text{ mL}$ σε centrifugal concentrator speed vacuum. Τέλος, το υπόλειμμα επανασυστάθηκε σε μεθανόλη χρωματογραφικής καθαρότητας μέχρι τελικό όγκο 2 mL . Τα εκχυλίσματα, αφού αναδεύτηκαν πάλι σε vortex, αποθηκεύθηκαν στους -40°C έως ότου αξιολογηθούν. Όλα τα δείγματα εκχυλίστηκαν κατ'ελάχιστον εις τριπλούν.

Σημείωση: Τα λευκά σύκα που έχουν υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό καθώς και τα σύκα με την δάφνη και το καρύδι δεν πολτοποιήθηκαν σε γουδί λόγω της σκληρότητάς τους, αλλά ομογενοποιήθηκαν σε πολυκόφτη κουζίνας. Το δείγμα που αναφέρεται ως «σύκο χωρίς καρύδι» αποτελεί μέρος του δείγματος σύκου που περιέχει καρύδι, από το οποίο πριν γίνει η ομογενοποίηση με τον πολυκόφτη αφαιρέθηκε το μεγαλύτερο μέρος του καρυδιού. Τα μαύρα σύκα που έχουν υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό ομογενοποιήθηκαν μηχανικά με πορσελάνινο γουδί, ωστόσο προηγουμένως είχαν βυθιστεί σε υγρό άζωτο για 10 sec .

4.3 Φασματοφωτομετρικοί προσδιορισμοί

4.3.1 Προετοιμασία φασματοφωτομετρικών προσδιορισμών

Αντιδραστήρια

- Μεθανόλη χρωματογραφικής καθαρότητας
- Εκχυλίσματα φρούτων

Εργαστηριακά όργανα και σκεύη

- Ποτήρια ζέσεως 10 mL
- Parafilm
- Σιφώνια 10 mL - πουάρ
- Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες των 10 mL με βιδωτό πώμα
- Αυτόματη πιπέτα ($100 - 1000 \mu\text{L}$) (Gilson S.A.S) - tips
- Vials και πώματα για HPLC

Από τα εκχυλίσματα των αποξηραμένων φρούτων (2 mL), μεταφέρθηκαν με αυτόματη πιπέτα $0,8 \text{ mL}$ σε διαφορετικούς δοκιμαστικούς σωλήνες, όπου πρώτα είχαν προστεθεί $2,4 \text{ mL}$ μεθανόλη, με αποτέλεσμα να επιτευχθεί αραιώση $\frac{1}{4}$.

Αυτό έγινε ώστε οι απορροφήσεις κατά τη φωτομέτρηση να βρίσκονται εντός των ορίων γραμμικότητας της εξίσωσης Beer-Lambert δηλ. εντός της περιοχής συγκεντρώσεων όπου η απορρόφηση είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση.

Σε όσα δείγματα οι απορροφήσεις βρέθηκαν εκτός αποδεκτών ορίων, πραγματοποιήθηκαν μεγαλύτερες αραιώσεις π.χ. 1/8 ή 1/16 από το αρχικό εκχύλισμα (των 2mL).

Τα υπόλοιπα 1,2 mL κάθε εκχυλίσματος μεταφέρθηκαν σε vials για HPLC.

4.3.2 Προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου με τη δοκιμή Folin-Ciocalteu

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 που σχηματίζεται από μίγμα φωσφομολυβδαινικού οξέος ($H_3PMo_{12}O_{40}$) και φωσφοβολφραμικού οξέος ($H_3PW_{12}O_{40}$) τα οποία αντιδρούν με ενεργοποιημένους αρωματικούς πυρήνες υπό αλκαλικές συνθήκες. Η ενεργοποίηση του δακτυλίου καθορίζεται από την ύπαρξη ομάδων δοτών ηλεκτρονιακής πυκνότητας, π.χ. ομάδων 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. Η αλκαλικότητα του διαλύματος ρυθμίζεται με διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3) ("Compendium of international methods of wine and must analysis," 2017). Οι φαινολικές ουσίες που προσδιορίζονται με τη δοκιμή Folin-Ciocalteu εκφράζονται συχνά ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE) (Arnous, Makris, & Kefalas, 2001, 2002).

Αντιδραστήρια

- Μεθανόλη χρωματογραφικής καθαρότητας
- Γαλλικό οξύ (Gallic acid)
- Διάλυμα Γαλλικού οξέος μητρικό: Ζυγίζονται 1mg GA και διαλύονται σε 1 mL μεθανόλης
- Νερό HPLC
- Απιονισμένο νερό
- Αραιωμένα εκχυλίσματα φρούτων

- Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (FC)
- Διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3 , 20% w/v)

Εργαστηριακά όργανα και σκεύη

- Αναλυτικός ζυγός ακρίβειας 4 δεκαδικών ψηφίων (0,0000 g) (Sartorius BP221 S)
- Σπάτουλα ζυγίσεως μικροποσοτήτων
- Ογκομετρικές φιάλες όγκου 10 και 100 mL
- Ποτήρια ζέσεως 50 mL
- Σωλήνες Erpendorf (1,5 mL)
- Αυτόματη πιπέτα (100-1000 μL) (Gilson S.A.S) - tips
- Αυτόματη πιπέτα (10-100 μL) (Gilson S.A.S) – tips
- Cryoboxes
- Plates για αυτόματη φωτομέτρηση (Sarstedt)
- Φασματοφωτόμετρο ELISA Reader (POWER WAVE X52, BIoTEK)

Αναλυτική πορεία

Ο προσδιορισμός του ολικού φαινολικού περιεχομένου πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Arnous et al. (2001) και Arnous et al. (2002). Σε σωλήνες erpendorf προστέθηκε απιονισμένο νερό (0,79 mL) και κατόπιν το αραιωμένο εκχύλισμα φρούτου (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 20% w/v (0,15 mL). Το μίγμα ανακινήθηκε ξανά και φυλάχθηκε σε συνθήκες σκότους και σε θερμοκρασία δωματίου για 120 min. Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετρήθηκε στα 750 nm ως προς δείγμα ελέγχου, και κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς ($r^2=0.9998$) με γαλλικό οξύ (62,5 - 1000 mg/L). Το δείγμα ελέγχου παρασκευάστηκε αντικαθιστώντας το δείγμα του φρούτου με μεθανόλη. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος (GAE) ανά 100 g αποξηραμένου φρούτου. Στα περισσότερα αραιωμένα εκχύλισματα φρούτου, το ολικό φαινολικό περιεχόμενο μετρήθηκε εις τριπλούν.

4.3.3 Προσδιορισμός Ολικών Φλαβανολών

Αρχή μεθόδου

Για τον προσδιορισμό των ολικών φλαβανολών, ακολουθήθηκε η μέθοδος της π-διμεθυλαμινοκιναμωμικής αλδεΐδης (DMACA), η οποία προτάθηκε από τους Nagel & Glories (1991). Οι κατεχίνες και οι προανθοκυανιδίνες αντιδρούν με τις αρωματικές αλδεΐδες σε ισχυρά όξινο περιβάλλον αποδίδοντας μέσω αυτής της αντίδρασης προϊόντα με

χαρακτηριστικό χρωματισμό. Συγκεκριμένα, οι φλαβανόλες αντιδρούν με τη π-διμεθυλαμινοκινναμωμική αλδεΐδη και το προϊόν της αντίδρασης έχει ανοιχτό πράσινο χρώμα, το οποίο παρουσιάζει μέγιστο απορρόφησης στα 640 nm. Τα αποτελέσματα συνήθως εκφράζονται ως ισοδύναμα κατεχίνης (CTE) ανά 100 g αποξηραμένου φρούτου (Nagel & Glories, 1991).

Αντιδραστήρια

- Κατεχίνη (Catechin)
- Μεθανόλη χρωματογραφικής καθαρότητας
- Διάλυμα κατεχίνης μητρικό: 32 mg/L μεθανόλης
- Σπάτουλα ζυγίσεως μικροποσοτήτων
- Αραιωμένα εκχυλίσματα φρούτων
- Διάλυμα υδροχλωρικού οξέος (HCl, 0,24 N σε μεθανόλη)
- Αντιδραστήριο π-διμεθυλάμινο-κινναμωμική αλδεΐδη (DMACA, 0,2% σε μεθανόλη)

Εργαστηριακά όργανα και σκεύη

- Αναλυτικός ζυγός ακρίβειας 4 δεκαδικών ψηφίων (0,0000 g) (Sartorius BP221)
- Σπάτουλα ζυγίσεως μικροποσοτήτων
- Ογκομετρικές φιάλες όγκου 10 και 100 mL
- Σωλήνες Eppendorf (1,5 mL)
- Αυτόματη πιπέτα (100-1000 μ L) (Gilson S.A.S) - tips
- Cryoboxes
- Plates για αυτόματη φωτομέτρηση (Sarstedt)
- Φασματοφωτόμετρο ELISA Reader (POWER WAVE X52, BIOTEK)

Αναλυτική πορεία

Σε eppendorf σωλήνα προστέθηκε εκχύλισμα (0,2 mL) κατάλληλα διαλυμένο σε μεθανόλη. Στην συνέχεια προστέθηκε HCl (0,24 N σε μεθανόλη, 0,5 mL) και DMACA (0,2 % σε μεθανόλη, 0,5 mL) και το μίγμα αφέθηκε να αντιδράσει για 5 min σε θερμοκρασία δωματίου. Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετρήθηκε στα 640 nm ως προς δείγμα ελέγχου και κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς ($r^2=0.9998$) με κατεχίνη (2 - 32 mg/L). Δείγμα ελέγχου παρασκευάστηκε αντικαθιστώντας το δείγμα με μεθανόλη και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg ισοδυνάμων κατεχίνης (CTE) ανά 100 g αποξηραμένου φρούτου (Makris, Boskou, & Andrikopoulos, 2007).

4.3.4 Προσδιορισμός Ολικών Φλαβονών/Φλαβονολών

Αρχή μεθόδου

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

Αντιδραστήρια

- Ρουτίνη (Rut.)
- Διάλυμα ρουτίνης μητρικό 100 mg/L σε μεθανόλη
- Διάλυμα οξικού οξέος (5% σε μεθανόλη)
- Διάλυμα χλωριούχου αργιλίου (2% AlCl_3 σε 5% οξικό οξύ σε μεθανόλη)
- Μεθανόλη HPLC
- Αραιωμένα εκχυλίσματα φρούτων

Εργαστηριακά όργανα και σκεύη

- Αναλυτικός ζυγός ακρίβειας 4 δεκαδικών ψηφίων (0,0000 g) (Sartorius BP221)
- Σπάτουλα ζυγίσεως μικροποσοτήτων
- Ογκομετρικές φιάλες όγκου 10 και 100 mL
- Σωλήνες Eppendorf (1,5 mL)
- Αυτόματη πιπέτα (100-1000 μL) (Gilson S.A.S) – tips
- Cryoboxes
- Plates για αυτόματη φωτομέτρηση (Sarstedt)
- Φασματοφωτόμετρο ELISA Reader (POWER WAVE X52, BIOTEK)

Αναλυτική πορεία

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 και κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς ($r^2=0.9967$) με ρουτίνη (1 - 20 mg/L). Δείγμα ελέγχου παρασκευάστηκε αντικαθιστώντας το δείγμα με μεθανόλη και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg ισοδυνάμων ρουτίνης (RE) ανά 100 g αποξηραμένου φρούτου.

4.3.5 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_{AR}) και β) μέσω της ικανότητάς τους να ανάγουν μεταλλικά κατιόντα (FRAP, P_R) (Arnous et al., 2001, 2002).

4.3.5.1 Ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών

Αρχή μεθόδου

Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιείται η 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλο-υδραζυλο ελεύθερη ρίζα (DPPH), η οποία χαρακτηρίζεται ως σταθερή λόγω απεντοπισμού του μονήρους ηλεκτρονίου στο μόριό της που αποτρέπει την μετατροπή της σε διμερή. Το DPPH παρουσιάζει χαρακτηριστικό φάσμα υπεριώδους - ορατού με μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 515 nm σε μεθανόλη, λόγω ακριβώς αυτού του απεντοπισμού του μονήρους ηλεκτρονίου που αποδίδει το βαθύ ιώδες χρώμα. Η προσθήκη συστατικού που δρα ως αντιοξειδωτικό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της απορρόφησης, και επομένως και την απώλεια ιώδους χρώματος, λόγω δέσμευσης των ελευθέρων ριζών από τις ενώσεις που επιδεικνύουν αντιοξειδωτική δράση. Η μείωση της απορρόφησης είναι ανάλογη της συγκέντρωσης και της αντιοξειδωτικής ικανότητας των ουσιών που προστίθενται. (Kedare & Singh, 2011; Villano, Fernandez-Pachon, Moya, Troncoso, & Garcia-Parrilla, 2007)

Αντιδραστήρια

- Διάλυμα 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλο-υδραζυλο ελεύθερη ρίζα (DPPH) (100 μ M σε μεθανόλη)
- Μεθανόλη χρωματογραφικής καθαρότητας
- Αραιωμένα εκχυλίσματα φρούτων
- Trolox (ισοδύναμο βιταμίνης E)
- Διάλυμα Trolox μητρικό 1,6 mM σε μεθανόλη

Εργαστηριακά όργανα και σκεύη

- Αναλυτικός ζυγός ακρίβειας 4 δεκαδικών ψηφίων (0,0000 g) (Sartorius BP221)
- Σπάτουλα ζυγίσεως μικροποσοτήτων
- Ογκομετρικές φιάλες όγκου 100 mL
- Σιφώνιο των 10 mL
- Χωνί
- Ποτήρια ζέσεως 50 mL

- Σωλήνες Eppendorf (1,5 mL)
- Αυτόματη πιπέτα (10-100 μL) (Gilson S.A.S) – tips
- Αυτόματη πιπέτα (100-1000 μL) (Gilson S.A.S) – tips
- Cryoboxes
- Plates για αυτόματη φωτομέτρηση (Sarstedt)
- Φασματοφωτόμετρο ELISA Reader (POWER WAVE X52, BIOTEK)

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. (2001, 2002), με μικρές τροποποιήσεις. Σε eppendorf σωλήνα προστέθηκε αραιωμένο εκχύλισμα (0,025 mL) και διάλυμα DPPH (100 μM σε μεθανόλη, 0,975 mL). Ακολούθησε ανάδευση σε vortex και η απορρόφηση μετρήθηκε μετά από 30 min παραμονής σε συνθήκες σκότους στα 515 nm ως προς δείγμα ελέγχου το οποίο παρασκευάστηκε χρησιμοποιώντας καθαρή μεθανόλη αντί του εκχυλίσματος. Κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς ($r^2=0.9978$) με Trolox (0.1 - 1.6 mmol/L) και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε μmol ισοδυνάμων Trolox (TRE) ανά 100 g αποξηραμένου φρούτου.

4.3.5.2 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 και στηρίζεται στην αναγωγή, υπό όξινες συνθήκες, του συμπλόκου του Fe^{+3} με 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 (AAE) (Benzie & Strain, 1999; A. Chiou, Panagoroulou, Gatzali, De Marchi, & Karathanos, 2014)

Αντιδραστήρια

- Διάλυμα χλωριούχου σιδήρου (FeCl_3) (3 mM σε 5 mM HCl)
- Διάλυμα 2,4,6-τρι-(2-πυριδυλο)-1,3,5-τριαζίνη TPTZ (1 mM σε 0,05M HCl)
- Πυκνό διάλυμα υδροχλωρικού οξέος (HCl)
- Μεθανόλη χρωματογραφικής καθαρότητας
- Ασκορβικό οξύ (Ascorbic Acid)
- Διάλυμα ασκορβικού οξέος μητρικό 0,5 mM σε νερό

Εργαστηριακά όργανα και σκεύη

- Αναλυτικός ζυγός ακρίβειας 4 δεκαδικών ψηφίων (0,0000 g) (Sartorius BP221)
- Σπάτουλα ζυγίσεως μικροποσοτήτων
- Ογκομετρικές φιάλες όγκου 100 mL
- Σιφώνιο των 10 mL
- Χωνί
- Ποτήρια ζέσεως 50 mL
- Σωλήνες Eppendorf (1,5 mL)
- Αυτόματη πιπέτα (10-100 μ L) (Gilson S.A.S) – tips
- Αυτόματη πιπέτα (100-1000 μ L) (Gilson S.A.S) – tips
- Cryoboxes
- Plates για αυτόματη φωτομέτρηση (Sarstedt)
- Φασματοφωτόμετρο ELISA Reader (POWER WAVE X52, BIOTEK)

Αναλυτική πορεία

Ο προσδιορισμός της αναγωγικής δύναμης με την μέθοδο FRAP πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Makris et al. (2007), με μικρές τροποποιήσεις. Σε σωλήνα eppendorf προστέθηκε αραιωμένο εκχύλισμα (0,05 mL) και διάλυμα FeCl_3 (3 mM σε 5 mM HCl, 0,05 mL). Αφού έγινε επώαση σε υδατόλουτρο για 30 min στους 37°C, στη συνέχεια προστέθηκε διάλυμα TPTZ (1 mM σε 0,05 M HCl, 0,9 mL) και ακολούθησε ανάδευση. Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετρήθηκε στα 620 nm ως προς δείγμα ελέγχου και κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς ($r^2=0.992$) με ασκορβικό οξύ (0.05 - 0.5 mmol/L). Δείγμα ελέγχου παρασκευάστηκε αντικαθιστώντας το εκχύλισμα με μεθανόλη και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg ισοδυνάμων ασκορβικού οξέος (AAE) ανά 100 g αποξηραμένου φρούτου.

4.4 Προσδιορισμοί με χρήση Υγρής χρωματογραφίας Υψηλής Πίεσης (HPLC)

Η χρωματογραφία είναι μέθοδος διαχωρισμού των συστατικών ενός μίγματος. Η τεχνική αυτή βασίζεται στη διαφορετική ταχύτητα μετακίνησης του κάθε συστατικού επί μιας στατικής φάσης υπό την επίδραση μιας κινητής φάσης η οποία μετακινεί τα συστατικά αυτά.

4.4.1 Προσδιορισμός επιμέρους ανθοκυανινών

Αντιδραστήρια

- Μεθανόλη χρωματογραφικής καθαρότητας
- Νερό χρωματογραφικής καθαρότητας

- Υδατικό διάλυμα HCOOH (10% v/v) – Παρασκευάστηκε με προσθήκη 100 mL HCOOH σε 900 mL νερό και διήθηση του διαλύματος με χωνί Büchner

Εργαστηριακά όργανα και σκεύη

- Σύστημα HPLC (Agilent Technologies, model 1050, Waldbronn, Germany), που περιελάμβανε αντλία κενού, αυτόματο δειγματολήπτη, ανιχνευτή σειράς φωτοδιόδων (HP-1050), φθορισμομετρικό ανιχνευτή (HP-1046A) και λογισμικό για ανάλυση και επεξεργασία δεδομένων
- Στήλη χρωματογραφίας αναστρόφου φάσεως Purospher Star, RP-18 endcapped, (250×4,6 mm, 5 μ m, Lichrocart) (Merck-Millipore, Darmstadt, Germany)

Αναλυτική πορεία

Για τον προσδιορισμό του περιεχομένου σε επιμέρους ανθοκυανίνες, χρησιμοποιήθηκε σύστημα δύο διαλυτών, αποτελούμενο από 10% v/v HCOOH και μεθανόλη, με βαθμωτή έκλυση και ροή κινητής φάσης 0,8 mL/min. Ο όγκος έγχυσης δείγματος ήταν 20 μ L και η ανίχνευση έγινε στα 280 και 520 nm. Η ποσοτικοποίηση έγινε με χρήση εξωτερικών προτύπων ανθοκυανινών σε πέντε διαφορετικές συγκεντρώσεις και κατασκευάστηκαν καμπύλες αναφοράς των 3-O-γλυκοζιτών της δελφινιδίνης, κυανιδίνης, πετουνιδίνης, πεονιδίνης και μαλβιδίνης (A. Chiou et al., 2014).

4.5 Στατιστική Ανάλυση

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται παρακάτω προκύπτουν από τον μέσο όρο των τιμών που λήφθηκαν καθώς οι περισσότερες αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν. Η επεξεργασία των δεδομένων έγινε στο Microsoft Excel 2010 ενώ για την στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα IBM SPSS Statistics Version 20. Η Post hoc ανάλυση εφαρμόστηκε για να εκτιμήσει τις διαφορές μεταξύ των ομάδων ενώ p_{value} μικρότερο από 0.05 θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό.

Κεφάλαιο 5^ο: Αποτελέσματα

5.1 Αποτελέσματα - Συζήτηση

Όπως φαίνεται στον πίνακα 5.1 το υψηλότερο ολικό φαινολικό περιεχόμενο φάνηκε να το εμφανίζει το βύσσινο (551.4 ± 27.1 mg GAE/100 g), το οποίο ακολουθείται από το ξανθό κεράσι και το σύκο με καρύδι με περιεχόμενο 271.9 ± 26.4 και 270.8 ± 34.3 mg GAE/100 g, αντίστοιχα. Ακολουθούν κατά φθίνουσα σειρά το σύκο χωρίς καρύδι, το μαύρο κεράσι, το σύκο με δάφνη, το ξινό δαμάσκηνο, το μαύρο σύκο που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό, το γλυκόξινο δαμάσκηνο, το ροδάκινο, το νεκταρίνι και το βερίκοκο. Το μικρότερο περιεχόμενο φαίνεται να το παρουσιάζουν το λευκό σύκο που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό και το σύκο Μεσσήνης με τιμές 87.8 ± 7.8 και 84.6 ± 15 mg GAE/100 g, αντίστοιχα. Όλα τα φρούτα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ως προς το ολικό φαινολικό περιεχόμενό τους με μόνες εξαιρέσεις το νεκταρίνι και το ροδάκινο που δεν φαίνεται να διαφέρουν μεταξύ τους, το βερίκοκο με το λευκό σύκο που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό και το σύκο Μεσσήνης που επίσης δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους, καθώς και το ξανθό κεράσι που δεν διαφέρει από το σύκο με καρύδι.

Συγκριτικά με τη βιβλιογραφία, το βερίκοκο φάνηκε στην παρούσα εργασία να βρίσκεται εντός του εύρους που αναφέρεται [$82 - 650$ mg GAE/100 g (Capanoglu, 2014; Ouchemoukh et al., 2012)], το δαμάσκηνο βρέθηκε επίσης εντός του εύρους της βιβλιογραφίας [$111 - 1392$ mg GAE/100g (Capanoglu, 2014; A Chiou et al., 2015)] όπως ακριβώς και το ροδάκινο [εύρος βιβλιογραφίας: $105 - 969$ mg GAE/100g (A Chiou et al., 2015)], ενώ τα σύκα είναι αισθητά χαμηλότερα [εύρος βιβλιογραφίας: $540 - 960$ mg GAE/100 g (A Chiou et al., 2015)].

Αναφορικά με το ολικό περιεχόμενο των ξηρών φρούτων σε φλαβανόλες, μεγαλύτερες τιμές βρέθηκαν στο βύσσινο (57.3 ± 5.2 mg CTE/100 g), ακολουθούμενο από το ροδάκινο και το νεκταρίνι με τιμές 38.8 ± 6.2 και 30 ± 5.5 mg CTE/100 g, αντίστοιχα. Ακολουθούν κατά φθίνουσα σειρά, το ξανθό κεράσι, το γλυκόξινο δαμάσκηνο, το μαύρο κεράσι, το βερίκοκο, το ξινό δαμάσκηνο, το σύκο με καρύδι, το σύκο χωρίς καρύδι, το σύκο με δάφνη και το μαύρο σύκο που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό.

Πίνακας 5.1. Φασματοφωτομετρικοί Προσδιορισμοί

Ξηρά Φρούτα	Ολικό Φαινολικό Περιεχόμενο <i>mg GAE/100g</i>	Ολικές Φλαβανόλες <i>mg CTE/100 g</i>	Ολικές Φλαβόνες/Φλαβονόλες <i>mg RE/100 g</i>
Βερίκοκο	104.1 ± 16.3 ^a	3.9 ± 0.8 ^{abc}	15.1 ± 2.2 ^{ab}
Βύσσινο	551.4 ± 27.1 ^h	57.3 ± 5.2 ^g	71 ± 3.9 ^f
Δαμάσκηνο Γλυκόξινο	188.7 ± 28.5 ^{bc}	9 ± 2.1 ^c	31.1 ± 3.1 ^c
Δαμάσκηνο Ξινό	211.9 ± 26.2 ^{cde}	3.8 ± 0.8 ^{abc}	12 ± 1.6 ^a
Κεράσι Μαύρο	239.1 ± 23.8 ^{efg}	6 ± 0.9 ^{bc}	44.1 ± 6.4 ^d
Κεράσι Ξανθό	271.9 ± 26.4 ^g	19.4 ± 2.9 ^d	14.5 ± 1.2 ^{ab}
Νεκταρίνι	162.4 ± 9.1 ^b	30 ± 5.5 ^e	10.9 ± 1.2 ^a
Ροδάκινο	166.8 ± 15.4 ^b	38.8 ± 6.2 ^f	9 ± 1 ^a
Σύκο Λευκό που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό	87.8 ± 7.8 ^a	0.2 ± 0.01 ^a	22.1 ± 3.6 ^{bc}
Σύκο Μαύρο που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό	194.1 ± 16.1 ^{bcd}	0.4 ± 0.1 ^a	29.8 ± 3.5 ^c
Σύκο Μεσσήνης	84.6 ± 15 ^a	0.1 ± 0.02 ^a	15.2 ± 1.6 ^{ab}
Σύκο με Δάφνη	224.1 ± 17.5 ^{def}	0.5 ± 0.1 ^a	47.5 ± 1.8 ^{de}
Σύκο με καρύδι	270.8 ± 34.3 ^g	1 ± 0.3 ^{ab}	65.9 ± 7.9 ^f
Σύκο χωρίς Καρύδι	252.4 ± 23.4 ^{fg}	0.7 ± 0.3 ^{ab}	55.7 ± 18.6 ^e

Το μικρότερο περιεχόμενο σε ολικές φλαβανόλες φαίνεται να το παρουσιάζουν το λευκό σύκο που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό και το σύκο Μεσσήνης, με τιμές 0.2 ± 0.01 και 0.1 ± 0.02 mg CTE/100 g, αντίστοιχα. Όλα τα φρούτα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ως προς το περιεχόμενό τους σε φλαβανόλες με εξαιρέσεις το βερίκοκο που δεν φαίνεται να έχει στατιστικά σημαντική διαφορά με το ξινό δαμάσκηνο, τα σύκα με και χωρίς καρύδι που επίσης δεν φαίνεται να διαφέρουν μεταξύ τους και τέλος τα υπόλοιπα σύκα, δηλαδή το Μεσσήνης, τα μαύρα και λευκά σύκα που έχουν υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό και το σύκο με δάφνη που επίσης δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Ως προς το ολικό περιεχόμενο των ξηρών φρούτων σε флаβόνες/φлаβονόλες, μεγαλύτερες τιμές βρέθηκαν στο βύσσινο (71 ± 3.9 mg RE/100 g) το οποίο ακολουθείται από τα σύκα με και χωρίς καρύδι με περιεχόμενο 65.9 ± 7.9 και 55.7 ± 18.6 mg RE/100 g, αντίστοιχα. Ακολουθούν κατά φθίνουσα σειρά το σύκο με δάφνη, το μαύρο κεράσι, το γλυκόξινο δαμάσκηνο, το μαύρο και το λευκό σύκο που έχουν υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό, το σύκο Μεσσήνης, το βερίκοκο, το ξανθό κεράσι και το ξινό δαμάσκηνο. Το μικρότερο περιεχόμενο σε флаβόνες βρέθηκε στο νεκταρίνι και το ροδάκινο με τιμές 10.9 ± 1.2 και 9 ± 1 mg RE/100 g, αντίστοιχα. Τα φρούτα που φάνηκαν να μην διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ως προς το περιεχόμενό τους σε флаβόνες/φлаβονόλες είναι το βερίκοκο με το σύκο Μεσσήνης και το ξανθό κεράσι, το βύσσινο με το σύκο με καρύδι, το γλυκόξινο δαμάσκηνο με το μαύρο σύκο που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό και τέλος, το ξινό δαμάσκηνο με το νεκταρίνι και το ροδάκινο.

Στη βιβλιογραφία υπάρχουν δεδομένα τα οποία αναφέρονται σε περιεχόμενο ολικών флаβονοειδών. Για παράδειγμα, ξηρά δαμάσκηνα από την Τουρκία έχει βρεθεί να περιέχουν 53 mg CTE/100 g, δηλαδή περιεχόμενο μεγαλύτερο από το αθροιστικό περιεχόμενο флаβανολών και флаβονών/φлаβονολών των δαμάσκηνων που προσδιορίστηκαν στην παρούσα εργασία (15.8 και 40.1 mg/100 g για το ξινό και το γλυκόξινο δαμάσκηνο, αντίστοιχα) (Capanoglu, 2014). Στα βερίκοκα το ολικό περιεχόμενο флаβονοειδών σύμφωνα με τη βιβλιογραφία κυμαίνεται μεταξύ 26 - 95 mg CTE/100 g, επίσης μικρότερο από το αθροιστικό περιεχόμενο των флаβανολών και флаβονών/φлаβονολών των βερίκοκων της παρούσας μελέτης (19 mg/100 g) (Capanoglu, 2014; P.R.Hussain et al., 2013). Παρατηρούμε ότι το άθροισμα флаβανολών και флаβονών/φлаβονολών των αποξηραμένων φρούτων της παρούσας εργασίας είναι συστηματικά χαμηλότερο από το ολικό περιεχόμενό τους σε флаβονοειδή όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία κάτι απολύτως λογικό καθώς τα ξηρά φρούτα περιέχουν μεγάλη ποικιλία флаβονοειδών ορισμένα από τα οποία δεν έχουν ακόμη ταυτοποιηθεί και συνεπώς δεν τα έχουμε ποσοτικοποιήσει στην παρούσα μελέτη.

Η *in vitro* αντιοξειδωτική ικανότητα εκτιμήθηκε με δύο μεθόδους, όπως φαίνεται στον πίνακα 5.2.

- Βάσει της ικανότητας αναγωγής μεταλλικών κατιόντων (FRAP), μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα φάνηκε να έχει το βύσσινο (46.9 ± 1 mg AAE/100g) ακολουθούμενο από τα σύκα με και χωρίς καρύδι (29 ± 2.9 και 27.4 ± 1.4 mg AAE/100g,

αντίστοιχα). Ακολουθούν κατά φθίνουσα σειρά, το ροδάκινο, το ξινό δαμάσκηνο, το ξανθό κεράσι, το νεκταρίνι, το γλυκόξινο δαμάσκηνο, το σύκο με δάφνη, το μαύρο κεράσι, το μαύρο σύκο που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό και το βερίκοκο. Μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα φάνηκε να έχει το λευκό σύκο που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό καθώς και το σύκο Μεσσήνης με τιμές 8.6 ± 0.7 και 4.5 ± 1.3 mg AAE/100g, αντίστοιχα. Το βερίκοκο και το μαύρο σύκο που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό φαίνεται να μην διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους ως προς την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, το ίδιο συμβαίνει και μεταξύ του γλυκόξινου δαμάσκηνου και του σύκου με δάφνη, μεταξύ των σύκων με και χωρίς καρύδι καθώς και μεταξύ του ξινού δαμάσκηνου, του ροδάκινου και του ξανθού κερασιού.

Πίνακας 5.2. Αντιοξειδωτική Δράση *in vitro*

Ξηρά Φρούτα	Ικανότητα αναγωγής μεταλλικών κατιόντων <i>mg AAE/100g</i>	Ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών <i>μmol TRE/100 g</i>
Βερίκοκο	12.8 ± 1.2^c	683.6 ± 11.3^{bc}
Βύσσινο	46.9 ± 1^h	1745.2 ± 23.5^h
Δαμάσκηνο Γλυκόξινο	17.6 ± 1.1^{de}	756.8 ± 23.9^{cde}
Δαμάσκηνο Ξινό	22.8 ± 0.6^f	793.5 ± 44.8^{ef}
Κεράσι Μαύρο	16.7 ± 1.1^d	858.5 ± 10.6^{fg}
Κεράσι Ξανθό	22.6 ± 0.7^f	885.3 ± 12.7^g
Νεκταρίνι	19.3 ± 0.7^e	761.5 ± 28.8^{cde}
Ροδάκινο	23.9 ± 0.9^f	765.3 ± 29.1^{de}
Σύκο Λευκό που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό	8.6 ± 0.7^b	455.6 ± 35.6^a
Σύκο Μαύρο που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό	12.9 ± 1.3^c	615.1 ± 76.6^b
Σύκο Μεσσήνης	4.5 ± 1.3^a	464.4 ± 74.6^a
Σύκο με Δάφνη	17.2 ± 1.3^{de}	694.3 ± 50.8^{bcd}
Σύκο με καρύδι	29 ± 2.9^g	895.7 ± 3.5^g
Σύκο χωρίς Καρύδι	27.4 ± 1.4^g	882.3 ± 26.8^g

- Βάσει της ικανότητας δέσμευσης ελευθέρων ριζών (DPPH), μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση εμφανίζει και πάλι το βύσσινο (1745.2 ± 23.5 $\mu\text{mol TRE}/100$ g) ακολουθούμενο από το σύκο με καρύδι και το ξανθό κεράσι με τιμές 895.7 ± 3.5 και 885.3 ± 12.7 $\mu\text{mol TRE}/100$ g, αντίστοιχα. Ακολουθούν κατά φθίνουσα σειρά το σύκο χωρίς καρύδι, το μαύρο κεράσι, το ξινό δαμάσκηνο, το ροδάκινο, το νεκταρίνι, το γλυκόξινο δαμάσκηνο, το σύκο με δάφνη, το βερίκοκο και το μαύρο σύκο που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό. Μικρότερη αντιοξειδωτική δράση βρέθηκε να έχει το σύκο Μεσσήνης καθώς και το λευκό σύκο που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό με τιμές 464.4 ± 74.6 και 455.6 ± 35.6 $\mu\text{mol TRE}/100$ g, αντίστοιχα. Το γλυκόξινο δαμάσκηνο και το νεκταρίνι φάνηκε να μην διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους, ενώ το ίδιο ισχύει και για το σύκο Μεσσήνης με το λευκό σύκο που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό καθώς και για το ξανθό κεράσι με τα σύκα με και χωρίς καρύδι.

Τα σύκα με και χωρίς καρύδι θα έπρεπε θεωρητικά να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ως προς την *in vitro* αντιοξειδωτική τους δράση καθώς το καρύδι αποτελεί εξαιρετική πηγή φαινολικών ενώσεων (Kalogeropoulos, Chiou, Ioannou, & Karathanos, 2013). Ωστόσο η διαδικασία παρασκευής του δείγματος χωρίς καρύδι που ακολουθήθηκε στη συγκεκριμένη εργασία δεν μπορεί να εξασφαλίσει την πλήρη απομάκρυνση του καρυδιού και πιθανώς αυτός είναι ο λόγος που δεν παρατηρούμε διαφοροποίηση στις τιμές.

Ως προς το περιεχόμενο των ξηρών φρούτων σε επιμέρους ανθοκυανίνες, όπως φαίνεται στον πίνακα 5.3 και στα χρωματογραφήματα 1 - 13 κάθε φρούτο φαίνεται να έχει διαφορετικό προφίλ περιεχομένων ανθοκυανινών.

Τόσο στο μαύρο όσο και στο ξανθό κεράσι ανιχνεύθηκαν τέσσερις γλυκοζίτες ανθοκυανιδινών, στο ξινό δαμάσκηνο τρεις, στο βύσσινο, το γλυκόξινο δαμάσκηνο και το νεκταρίνι δύο ενώ στο βερίκοκο, το ροδάκινο και το λευκό σύκο που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό μόνο ένας.

Σε κανένα φρούτο δεν ανιχνεύθηκε 3-O-γλυκοζίτης δελφινιδίνης ενώ υψηλότερο περιεχόμενο σε 3-O-γλυκοζίτη κυανιδίνης βρέθηκε στο ροδάκινο ($3,35$ $\text{mg}/100$ g), ακολουθούμενο από το νεκταρίνι. Υψηλότερο περιεχόμενο 3-O-γλυκοζίτη πετουनिδίνης βρέθηκε στο βύσσινο ($4,28$ $\text{mg}/100$ g), ακολουθούμενο από το ξανθό κεράσι ενώ υψηλότερο περιεχόμενο 3-O-γλυκοζίτη πεονιδίνης βρέθηκε να έχει το ξανθό κεράσι ($47,05$ $\mu\text{g}/100$ g) συγκριτικά με το μαύρο κεράσι.

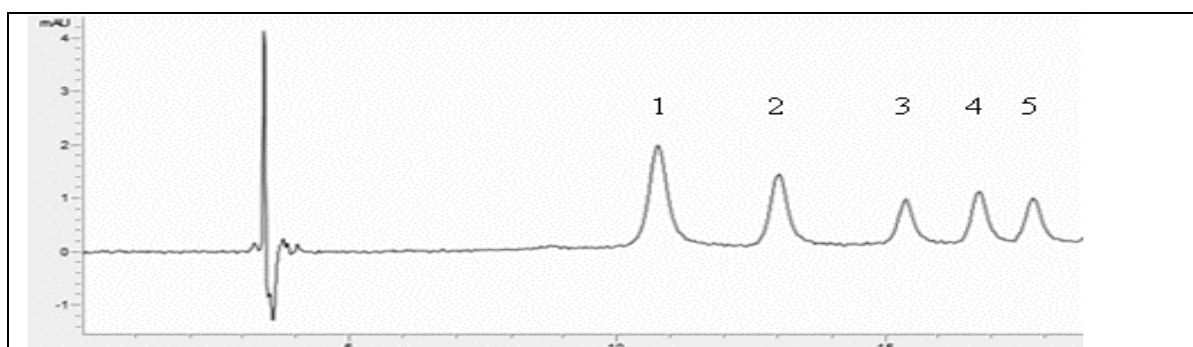
Τέλος, υψηλότερο περιεχόμενο 3-O-γλυκοζίτη μαλβιδίνης βρέθηκε να έχει το μαύρο κεράσι (268,42 $\mu\text{g}/100\text{ g}$). Σε αυτό το σημείο πρέπει να διευκρινιστεί πως η ανθοκυανίνη που έχουμε απομονώσει ως 3-O-γλυκοζίτη πετουινιδίνης και φαίνεται να επικρατεί στο βύσσινο, το μαύρο και το ξανθό κεράσι, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία είναι πολύ πιθανό να μην είναι το συγκεκριμένο φαινολικό συστατικό αλλά να είναι ρουτινοζίτης κυανιδίνης (A Chiou et al., 2015).

Είναι επίσης αξιοσημείωτο το γεγονός πως φρούτα του ίδιου είδους εμφανίζουν παρόμοιο προφίλ ανθοκυανινών, όπως για παράδειγμα τα κεράσια, τα δαμάσκηνα καθώς και το νεκταρίνι με το ροδάκινο.

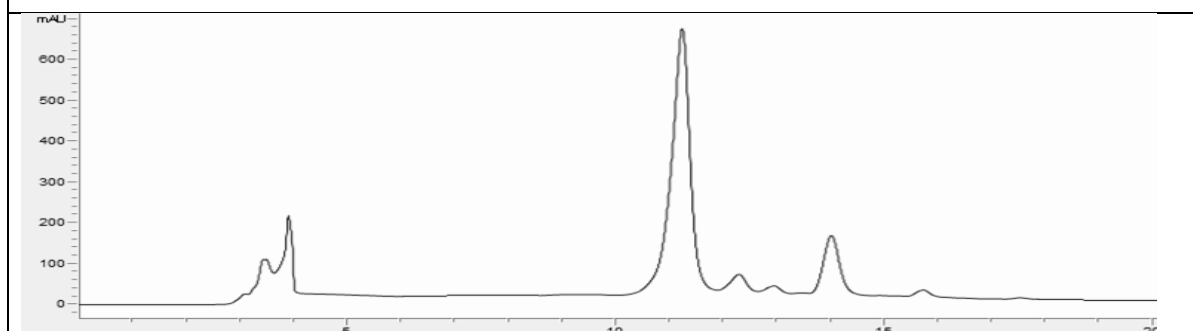
Πίνακας 5.3. Προσδιορισμός επιμέρους ανθοκυανινών

Ξηρά Φρούτα	3-O- γλυκοζίτης Δελφινιδίνης <i>$\mu\text{g}/100\text{g}$</i>	3-O- γλυκοζίτης Κυανιδίνης <i>$\mu\text{g}/100\text{g}$</i>	3-O- γλυκοζίτης Πετουινιδίνης <i>$\mu\text{g}/100\text{g}$</i>	3-O- γλυκοζίτης Πεονιδίνης <i>$\mu\text{g}/100\text{g}$</i>	3-O- γλυκοζίτης Μαλβιδίνης <i>$\mu\text{g}/100\text{g}$</i>
Βερίκοκο	-	-	39,38	-	-
Βύσσινο	-	477,71	4280,20	-	-
Δαμάσκηνο Γλυκόξινο	-	93,36	124,29	-	-
Δαμάσκηνο Ξινό	-	54,59	400,73	-	87,75
Κεράσι Μαύρο	-	142,92	2711,68	42,13	268,42
Κεράσι Ξανθό	-	92,99	4017,00	47,05	67,20
Νεκταρίνι	-	3011,79	134,28	-	-
Ροδάκινο	-	3347,55	-	-	-
Σύκο Λευκό που έχει υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό	-	-	38,27	-	-

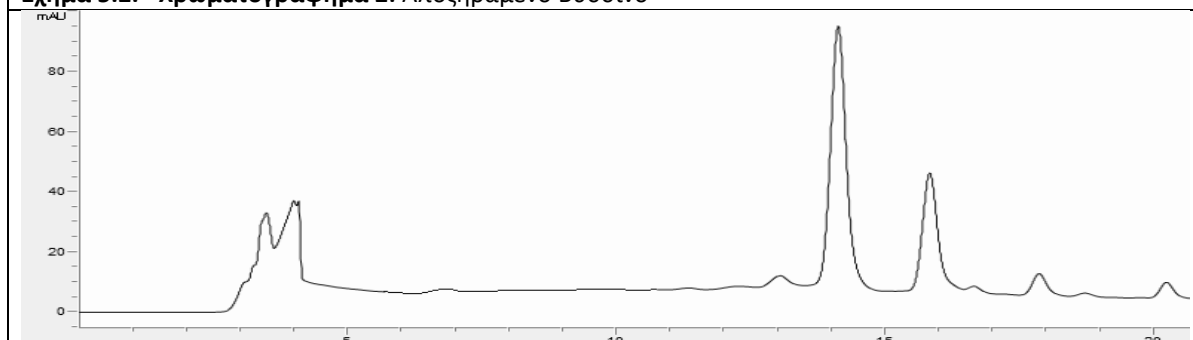
Η βιβλιογραφία φαίνεται να επιβεβαιώνει την ύπαρξη 3-O-γλυκοζίτη κυανιδίνης σε αποξηραμένα κεράσια, βύσσина δαμάσκηνα, βερίκοκα, νεκταρίνια και ροδάκινα ενώ έχει βρεθεί και 3-O-γλυκοζίτης πεονιδίνης σε κεράσια (Bonertz, Würth, Dietrich, & Will, 2007; Caranoglu, 2014; Wu et al., 2006).



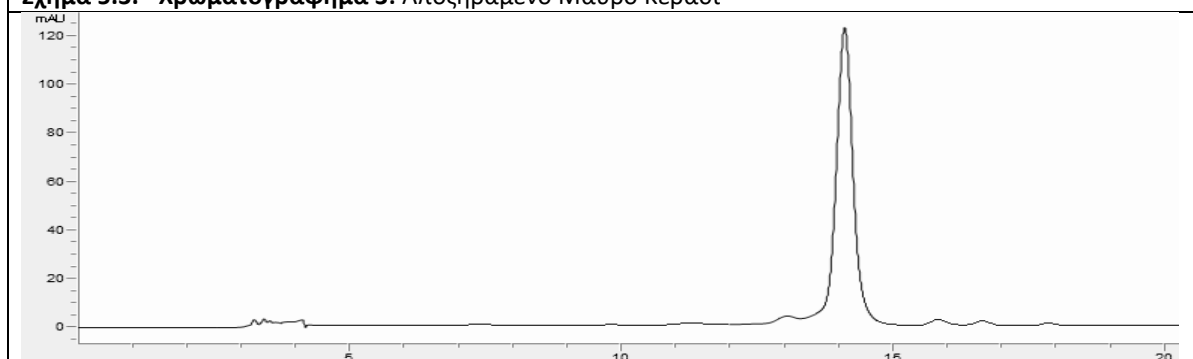
Σχήμα 5.1. - Χρωματογράφημα 1: Πρότυπο ανθοκυανινών. 1. γλυκοζίτης δελφινιδίνης, 2. γλυκοζίτης κυανιδίνης, 3. γλυκοζίτης πετουνιδίνης, 4. γλυκοζίτης πεονιδίνης και 5. γλυκοζίτης μαλβιδίνης.



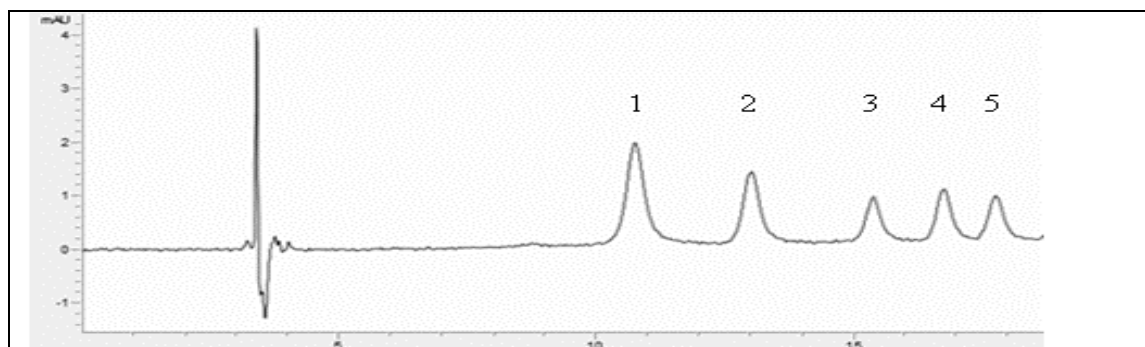
Σχήμα 5.2. - Χρωματογράφημα 2: Αποξηραμένο Βύσσινο



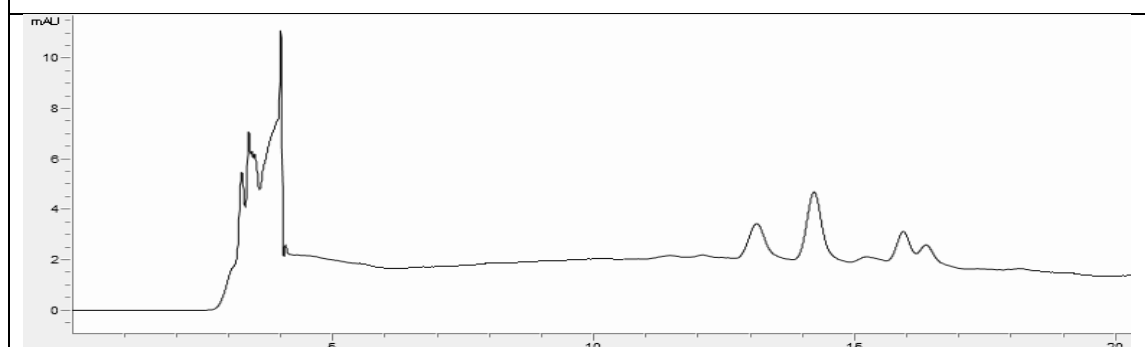
Σχήμα 5.3. - Χρωματογράφημα 3: Αποξηραμένο Μαύρο Κεράσι



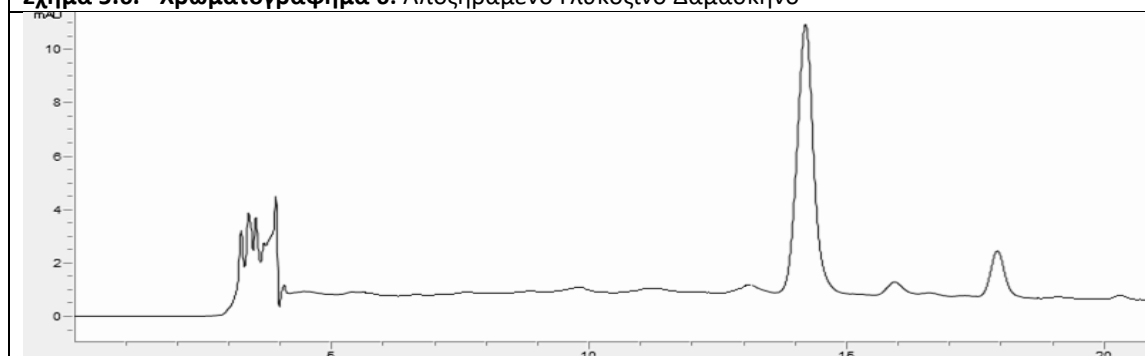
Σχήμα 5.4. - Χρωματογράφημα 4: Αποξηραμένο Ξανθό Κεράσι



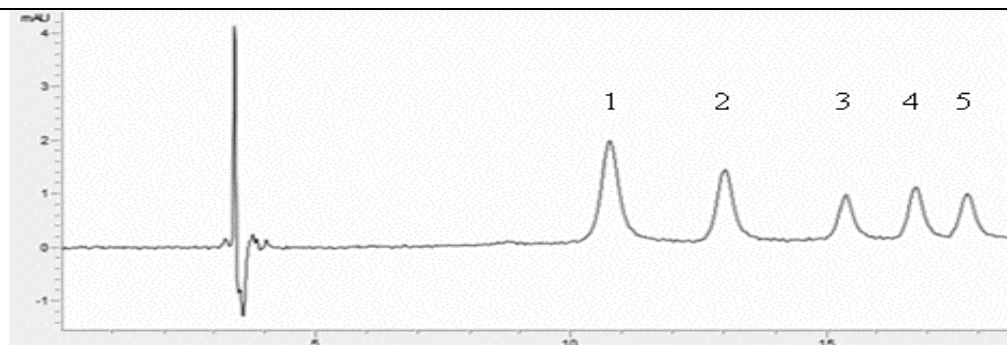
Σχήμα 5.5. - Χρωματογράφημα 5: Πρότυπο ανθοκυανινών 1. γλυκοζίτης δελφινιδίνης, 2. γλυκοζίτης κυανιδίνης, 3. γλυκοζίτης πετουινιδίνης, 4. γλυκοζίτης πεονιδίνης και 5. γλυκοζίτης μαλβιδίνης



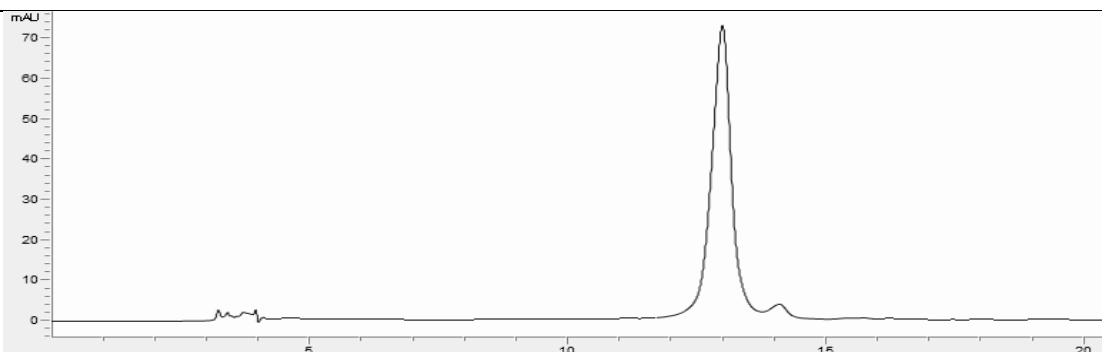
Σχήμα 5.6. - Χρωματογράφημα 6: Αποξηραμένο Γλυκόξινο Δαμάσκηνο



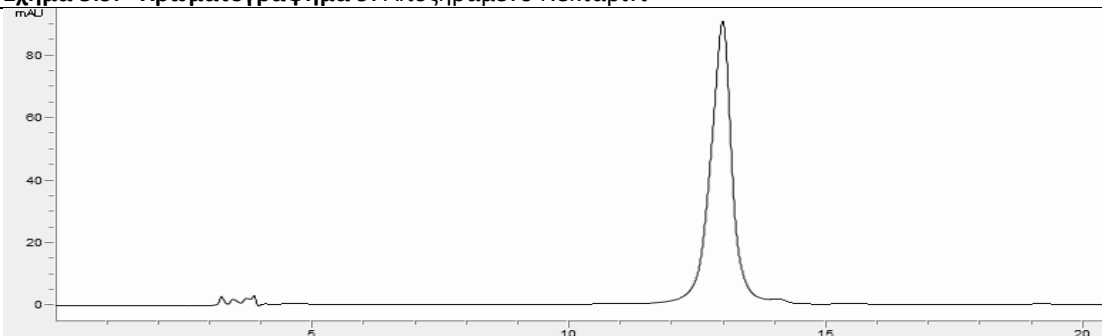
Σχήμα 5.7. - Χρωματογράφημα 7: Αποξηραμένο Ξινό Δαμάσκηνο



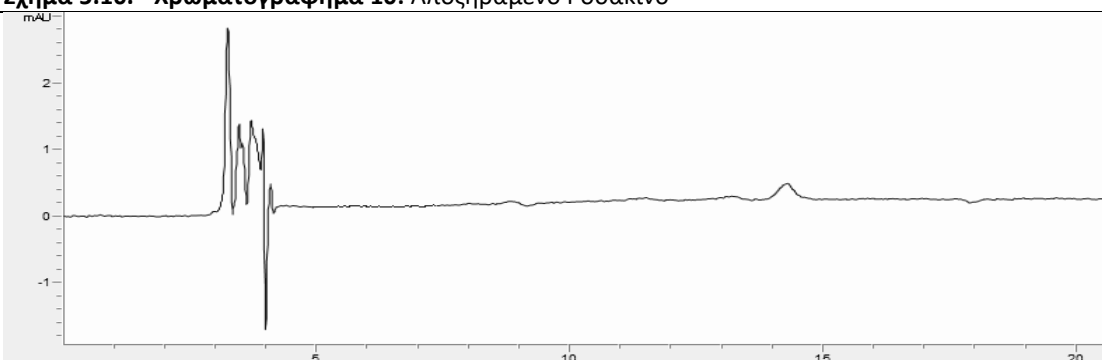
Σχήμα 5.8. - Χρωματογράφημα 8: Πρότυπο ανθοκυανινών 1. γλυκοζίτης δελφινιδίνης, 2. γλυκοζίτης κυανιδίνης, 3. γλυκοζίτης πετουινιδίνης, 4. γλυκοζίτης πεονιδίνης και 5. γλυκοζίτης μαλβιδίνης



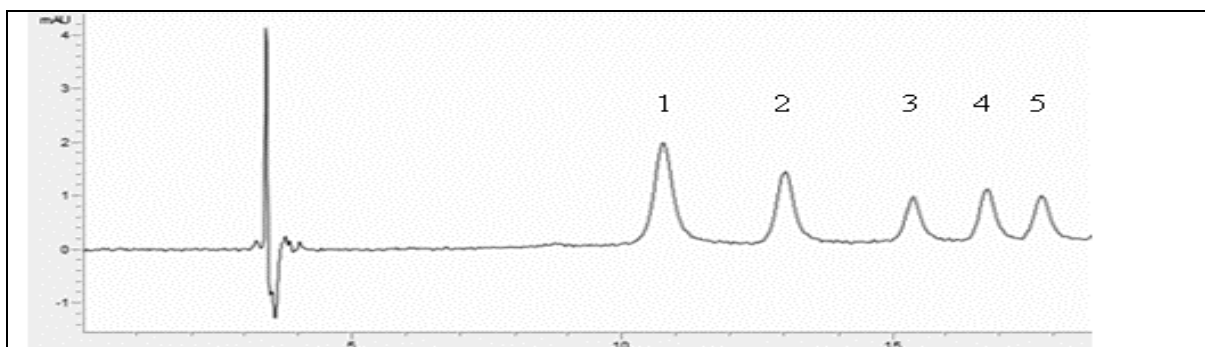
Σχήμα 5.9. - Χρωματογράφημα 9: Αποξηραμένο Νεκταρίνι



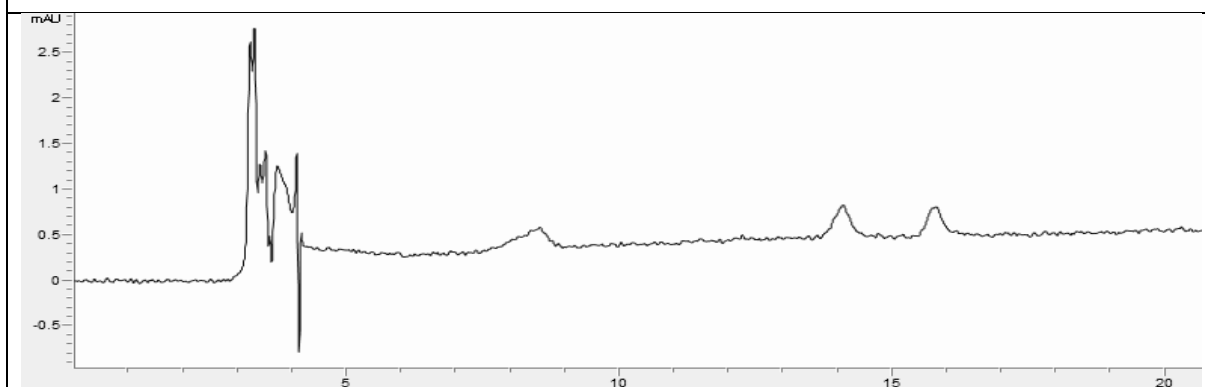
Σχήμα 5.10. - Χρωματογράφημα 10: Αποξηραμένο Ροδάκινο



Σχήμα 5.11. - Χρωματογράφημα 11: Αποξηραμένο Βερίκοκο



Σχήμα 5.12. - Χρωματογράφημα 12: Πρότυπο ανθοκυανινών 1. γλυκοζίτης δελφινιδίνης, 2. γλυκοζίτης κυανιδίνης, 3. γλυκοζίτης πετουινιδίνης, 4. γλυκοζίτης πεονιδίνης και 5. γλυκοζίτης μαλβιδίνης.



Σχήμα 5.13. - Χρωματογράφημα 13: Αποξηραμένο Λευκά Σύκα που έχουν υποστεί εμβάπτιση σε βραστό νερό

5.2 Συμπέρασμα

Συμπερασματικά, βλέπουμε το βύσσινο να παραμένει συστηματικά πρώτο στο περιεχόμενο των επιμέρους τάξεων πολικών φαινολικών ενώσεων καθώς και στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο, ενώ παρουσιάζει και τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα *in vitro*, με στατιστικά σημαντικές διαφορές με τα υπόλοιπα υπό μελέτη ξηρά φρούτα της παρούσας εργασίας.

Τα υπόλοιπα αποξηραμένα φρούτα δεν μπορούν να μπουν συστηματικά σε αύξουσα σειρά, παρά μόνο για κάθε διαφορετική κατηγορία φαινολικών ενώσεων που εξετάζεται.

Ωστόσο μπορούμε να καταλήξουμε πως όλα τα αποξηραμένα φρούτα αποτελούν καλές πηγές πολικών φαινολικών ενώσεων, κάτι που αν συνδυαστεί και με τις γενικότερες ωφέλιμες δράσεις για την υγεία που αναδεικνύονται τα τελευταία χρόνια για τα ξηρά φρούτα, τα καθιστά πολύ σημαντικό στοιχείο της διατροφής. Φυσικά, προκειμένου να αποσαφηνιστεί πλήρως η δράση των πολικών φαινολικών ενώσεων που περιέχονται στα ξηρά φρούτα

χρειάζονται τόσο περισσότερες μελέτες σε σχέση με το περιεχόμενό τους σε φαινολικά συστατικά *in vitro*, όσο και μελέτες που θα πραγματοποιούνται την βιοπροσβασιμότητα *in vitro* και την βιοδιαθεσιμότητα *in vivo* των ενώσεων αυτών.

Σύμφωνα με τον Εθνικό Διατροφικό Οδηγό Ενηλίκων στα πλαίσια μιας ισορροπημένης διαίτας καλό είναι να καταναλώνει κανείς περίπου 3 μερίδες φρούτων την ημέρα. Βλέποντας τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας γίνεται σαφές πως τα αποξηραμένα φρούτα μπορούν δικαιωματικά να αποτελούν επιλογή, αφού δεν υστερούν σε βιοδραστικά συστατικά. Φυσικά θα πρέπει να δίνεται προσοχή στην ποσότητα των αποξηραμένων φρούτων καθώς περιέχουν περισσότερες θερμίδες σε σχέση με τα φρέσκα, ως συμπυκνωμένες μορφές θρεπτικών συστατικών. Τέλος, καλό είναι να υπάρχει ποικιλία στα φρούτα που καταναλώνονται ώστε να προσλαμβάνει κανείς ποικιλία θρεπτικών συστατικών.

Η μερίδα ορίζεται περίπου σε ένα μέτριο ή 2 μικρά φρέσκα φρούτα ή περίπου 4 μικρά αποξηραμένα φρούτα. Στον πίνακα 5.4 βλέπουμε με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης το ολικό φαινολικό περιεχόμενο σε ποσότητες αποξηραμένων φρούτων που αντιστοιχούν σε ένα ισοδύναμο φρούτου δηλαδή σε ποσότητα που δίνει στον οργανισμό 15 g υδατανθράκων και περίπου 60 Kcal ενέργεια. Οι υπολογισμοί έγιναν μέσω της βάσης δεδομένων του USDA (USDA, 2016).

Πίνακας 5.4. Ολικό φαινολικό περιεχόμενο σε ποσότητες αποξηραμένων φρούτων που αντιστοιχούν σε ένα ισοδύναμο φρούτου

Ξηρά Φρούτα	Βάρος <i>g</i>	Ολικό Φαινολικό Περιεχόμενο <i>mg GAE/100g</i>
Βερίκοκο	24 g	24.98
Βύσσινο	19 g	104.77
Δαμάσκηνο Γλυκόξινο	24 g	45.29
Δαμάσκηνο Ξινό	24 g	50.86
Κεράσι Μαύρο	19 g	45.43
Κεράσι Ξανθό	19 g	51.66
Νεκταρίνι	25 g	40.6
Ροδάκινο	25 g	41.7
Σύκο Μεσσήνης	24 g	20.30

Παρατηρούμε ότι το βύσσινο περιέχει το μεγαλύτερο ολικό φαινολικό περιεχόμενο ανά ποσότητα ισοδυνάμου και το σύκο Μεσσήνης το μικρότερο. Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός πως η διατροφή του μέσου ανθρώπου περιέχει περίπου 150 - 1000 mg φαινολικών/ημέρα, η κατανάλωση 19 g αποξηραμένου βύσσινου καλύπτει από 10,48% έως 69,85% της ημερήσιας πρόσληψης ενώ τα 24 g αποξηραμένου σύκου Μεσσήνης καλύπτουν από 2.03% έως 13.53% της ημερήσιας πρόσληψης ("Handbook of Fruit and Vegetable Flavors," 2010).

Βιβλιογραφία

- Alasalvar, C., & Shahidi, F. (2013). Dried Fruits: Phytochemicals and Health Effects C. Alasalvar & F. Shahidi (Eds.),
- Arnous, A., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2001). Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant characteristics of aged red wines. *J Agric Food Chem*, 49(12), 5736-5742. doi: 10.1021/jf010827s
- Arnous, A., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2002). Correlation of Pigment and Flavanol Content with Antioxidant Properties in Selected Aged Regional Wines from Greece. *Journal of Food Composition and analysis*, 15(6), 655–665. doi: 10.1006/jfca.2002.1070
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191-203. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.07.042
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol*, 299, 15-27. doi: 10.1016/S0076-6879(99)99005-5
- Bonerz, D., Würth, K., Dietrich, H., & Will, F. (2007). Analytical characterization and the impact of ageing on anthocyanin composition and degradation in juices from five sour cherry cultivars. *European Food Research and Technology*, 224(3), 355-364.
- Čanadanović-Brunet, J. M., Vulić, J. J., Četković, G. S., Djilas, S. M., & Šaponjac, V. T. T. (2013). Bioactive Compounds and antioxidant properties of dried apricot. *Acta Periodica Technologica*(44), 193-205. doi: 10.2298/APT1344193C
- Capanoglu, E. (2014). Investigating the Antioxidant Potential of Turkish Dried Fruits. *International Journal of Food Properties*, 17(3), 690-702. doi: 10.1080/10942912.2012.752381
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. d. L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859-871. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.09.001
- Chang, S. K., Alasalvar, C., & Shahidi, F. (2016). Review of dried fruits: Phytochemicals, antioxidant efficacies, and health benefits. *Journal of Functional Foods*, 21, 113-132. doi: 10.1016/j.jff.2015.11.034
- Cheynier, V. (2012). Phenolic compounds: from plants to foods. *Phytochem Rev* 11(2-3), 153-177. doi: 10.1007/s11101-012-9242-8
- Chiou, A., Karathanos, V., Mylona, A., Salta, F., Preventi, F., & Andrikopoulos, N. (2007). Currants (*Vitis vinifera* L.) content of simple phenolics and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 102(2), 516-522. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.06.009
- Chiou, A., Panagopoulou, E., & Karathanos, V. (2015). Handbook of Anthocyanins L. M. Warner (Ed.) Chapter 15: Anthocyanins and other flavonoids in dried fruits of the Mediterranean area
- Chiou, A., Panagopoulou, E. A., Gatzali, F., De Marchi, S., & Karathanos, V. T. (2014). Anthocyanins content and antioxidant capacity of Corinthian currants (*Vitis vinifera* L., var. Apyrena). *Food Chemistry*, 146, 157-165. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.09.062
- Chu, Y. F., Sun, J., Wu, X., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 50(23), 6910-6916. doi: 10.1021/jf020665f
- Compendium of international methods of wine and must analysis. (2017). Vol. 1. Retrieved from International organisation of vine and wine database Retrieved from <http://www.oiv.int/public/medias/5532/recueil-2017-volume1-fr.pdf>

- Cvek, J., Medic-Saric, M., Jasprica, I., Zubcic, S., Vitali, D., Mornar, A., . . . Tomic, S. (2007). Optimisation of an extraction procedure and chemical characterisation of Croatian propolis tinctures. *Phytochem Anal*, 18(5), 451-459. doi: 10.1002/pca.1001
- Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. (2013). Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxid Redox Signal*, 18(14), 1818-1892. doi: 10.1089/ars.2012.4581
- Fernández-García, E., Carvajal-Lérída, I., & Pérez-Gálvez, A. (2009). In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition Research*, 29(11), 751-760. doi: 10.1016/j.nutres.2009.09.016
- Ferretti, G., Bacchetti, T., Belleggia, A., & Neri, D. (2010). Cherry Antioxidants: From Farm to Table *Molecules*, 15(10), 6993-7005. doi: 10.3390/molecules15106993
- Fraga, C. G., Galleano, M., Verstraeten, S. V., & Oteiza, P. I. (2010). Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols. *Molecular Aspects of Medicine*, 31(6), 435-445. doi: 10.1016/j.mam.2010.09.006
- Giugliano, D., Sedge, M., & Sepe, J. (2000). *The Mediterranean Diet - Origins and Myths*. Italy: Idelson - Gnocchi.
- Guidi, L., Penella, C., & Landi, M. (2015). Handbook of Anthocyanins - Food Sources, Chemical Applications and Health Benefits L. M. Warner (Ed.) *Chapter 1: Anthocyanins in Mediterranean Diet: Common and Innovative Sources* (pp. 476).
- Haminiuk, C. W. I., Maciel, G. M., Plata-Oviedo, M. S. V., & Peralta, R. M. (2012). Phenolic compounds in fruits – an overview. *International Journal of Food Science and Technology* 47(10), 2023-2044. doi: 10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x
- Handbook of Fruit and Vegetable Flavors. (2010). Y. H. Hui (Ed.)
- INC. (2017). Nuts & Dried Fruits: Statistical Yearbook 2016/2017. *International Nut & Dried Fruit*, from http://www.nutfruit.org/files/tech/1497859419_Statistical_Yearbook_2016-2017.pdf
- Kalogeropoulou, N., Chiou, A., Ioannou, M., & Karathanos, V. (2013). Nutritional evaluation and health promoting activities of nuts and seeds cultivated in Greece. *Int J Food Sci Nutr*, 64(6), 757-767. doi: 10.3109/09637486.2013.793298
- Kamiloglu, S., Pasli, A. A., Ozcelik, B., & Capanoglu, E. (2014). Evaluating the in vitro bioaccessibility of phenolics and antioxidant activity during consumption of dried fruits with nuts. *LWT - Food Science and Technology*, 56(2), 284-289. doi: 10.1016/j.lwt.2013.11.040
- Kamiloglu, S., Toydemir, G., Boyacioglu, D., Beekwilder, J., Hall, R. D., & Capanoglu, E. (2016). A Review on the Effect of Drying on Antioxidant Potential of Fruits and Vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(1), 110-129. doi: 10.1080/10408398.2015.1045969
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol*, 48(4), 412-422. doi: 10.1007/s13197-011-0251-1
- Kurosawa, T., Itoh, F., Nozaki, A., Nakano, Y., Katsuda, S., Osakabe, N., . . . Itakura, H. (2005). Suppressive effects of cacao liquor polyphenols (CLP) on LDL oxidation and the development of atherosclerosis in Kurosawa and Kusanagi-hypercholesterolemic rabbits. *Atherosclerosis*, 179(2), 237-246. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2004.12.003
- Lacey, R. W. (1994). *Hard to Swallow - A brief history of food*. Great Britain: Cambridge University Press.
- León-González, A. J., Auger, C., & Schini-Kerth, V. B. (2015). Pro-oxidant activity of polyphenols and its implication on cancer chemoprevention and chemotherapy. *Biochemical Pharmacology*, 98(3), 371-380. doi: 10.1016/j.bcp.2015.07.017
- Makris, D. P., Boskou, G., & Andrikopoulos, N. K. (2007). Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts.

- Journal of Food Composition and Analysis*, 20(2), 125-132. doi: 10.1016/j.jfca.2006.04.010
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*, 79(5), 727-747.
- Martins, N., Barros, L., & C.F.R.Ferreira, I. (2016). In vivo antioxidant activity of phenolic compounds: Facts and gaps. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 1-12. doi: 10.1016/j.tifs.2015.11.008
- Mawa, S., Husain, K., & Jantan, I. (2013). *Ficus carica* L. (Moraceae): Phytochemistry, Traditional Uses and Biological Activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. doi: 10.1155/2013/974256
- Mekinić, I. G., Skroza, D., Ljubenković, I., Krstulović, L., Mozina, S., & Katalinic, V. (2014). Phenolic acids profile, antioxidant and antibacterial activity of chamomile, common yarrow and immortelle (Asteraceae). *Nat Prod Commun.*, 9(12), 1745-1748.
- Morton, L. W., Caccetta, R. A.-A., Puddey, I. B., & Croft, K. D. (2000). Chemistry and Biological Effects of Dietary Phenolic Compounds: Relevance to Cardiovascular Disease. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 27(3), 152-159.
- Mosele, J. I., Macià, A., & Motilva, M.-J. (2015). Metabolic and Microbial Modulation of the Large Intestine Ecosystem by Non-Absorbed Diet Phenolic Compounds: A Review. *Molecules* 20(9), 17429-17468. doi: 10.3390/molecules200917429
- Naczek, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogr A*, 1054(1-2), 95-111. doi: 10.1016/j.chroma.2004.08.059
- Naczek, M., & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *J Pharm Biomed Anal*, 41(5), 1523-1542. doi: 10.1016/j.jpba.2006.04.002
- Nagel, C. W., & Glories, Y. (1991). Use of a modified dimethylaminocinnamaldehyde reagent for analysis of flavonols. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42(4), 364-366.
- Neveu, V., Perez-Jimenez, J., VOS, F., Crespy, V., Chaffaut, L. d., Mennen, L., . . . Scalbert, A. (2010). Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. *The Journal of Biological Databases and Curation*, 2010. doi: 10.1093/database/bap024
- Omolola, A. O., Jideani, A. I. O., & Kapila, P. F. (2017). Quality properties of fruits as affected by drying operation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(1), 95-108. doi: 10.1080/10408398.2013.859563
- Ouchemoukh, S., Hachoud, S., HamouBoudraham, Mokrani, A., & Louaileche, H. (2012). Antioxidant activities of some dried fruits consumed in Algeria. *LWT - Food Science and Technology*, 49(2), 329-332. doi: 10.1016/j.lwt.2012.07.022
- P.R.Hussain, S.Chatterjee, P.S.Variyar, A.Sharma, M.A.Dar, & A.M.Wania. (2013). Bioactive compounds and antioxidant activity of gamma irradiated sun dried apricots (*Prunus armeniaca* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 30(2), 59-66. doi: 10.1016/j.jfca.2013.02.001
- Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala, J. F., & González-Aguilar, G. A. (2011). The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of Fruit and Vegetable Antioxidants. *Food Sci.*, 76(1), R6-R15. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01957.x
- Parada, J., & Aguilera, J. M. (2007). Food Microstructure Affects the Bioavailability of Several Nutrients. *Food Science*, 72(2), R21–R32. doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00274.x
- Randhir, R., Lin, Y. T., & Shetty, K. (2004). Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Asia Pac J Clin Nutr*, 13(3), 295-307.
- Russo, F., Caporaso, N., Paduano, A., & Sacchi, R. (2014). Phenolic Compounds in Fresh and Dried Figs from Cilento (Italy), by Considering Breba Crop and Full Crop, in

- Comparison to Turkish and Greek Dried Figs. *Food Science*, 79(7), C1278–C1284. doi: 10.1111/1750-3841.12505
- Saura-Calixto, F., Serrano, J., & Goñi, I. (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*, 101(2), 492-501. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.02.006
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820-897. doi: 10.1016/j.jff.2015.06.018
- Shahidi, F., & Naczsk, M. (2004). *Phenolics in Food and Nutraceuticals*. Boca Raton, London, New York, Washington D.C.: CRC Press.
- Siddiq, M., Liavoga, A., & Greiby, I. (2012). Peaches and Nectarines N. Sinha, J. Sidhu, J. Barta, J. Wu & M. P. Cano (Eds.), *Chapter 30: Peaches & Nectarines*
- Stacewicz-Sapuntzakis, M. (2013). Dried Plums and Their Products: Composition and Health Effects – An Updated Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(12), 1277-1302. doi: 10.1080/10408398.2011.563880
- Stacewicz-Sapuntzakis, M., Bowen, P. E., Hussain, E. A., Damayanti-Wood, B. I., & Farnsworth, N. R. (2001). Chemical Composition and Potential Health Effects of Prunes: A Functional Food? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41(4), 251-286. doi: 10.1080/20014091091814
- Threlfall, R., Morris, J., & Meullenet, J.-F. (2007). PRODUCT DEVELOPMENT AND NUTRACEUTICAL ANALYSIS TO ENHANCE THE VALUE OF DRIED FRUIT. *Journal of Food Quality*, 30, 552-566.
- Tsimidou, M. Z., & Boskou, D. (2015). The health claim on “olive oil polyphenols” and the need for meaningful terminology and effective analytical protocols. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 117, 1091-1094. doi: 10.1002/ejlt.201500155
- USDA. (2016). United States Department of Agriculture *USDA Food Composition Databases*, from <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>
- Vallejo, F., Marín, J. G., & Tomás-Barberán, F. A. (2012). Phenolic compound content of fresh and dried figs (*Ficus carica* L.) *Food Chemistry*, 130(3), 485-492. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.07.032
- Vermerris, W., & Nicholson, R. (2008). Phenolic Compound Biochemistry (pp. 276).
- Villano, D., Fernandez-Pachon, M. S., Moya, M. L., Troncoso, A. M., & Garcia-Parrilla, M. C. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71(1), 230-235. doi: 10.1016/j.talanta.2006.03.050
- Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., & Prior, R. L. (2006). Concentrations of Anthocyanins in Common Foods in the United States and Estimation of Normal Consumption. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 4069-4075. doi: 10.1021/jf060300l
- Xu, B. J., & Chang, S. K. C. (2007). A Comparative Study on Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Legumes as Affected by Extraction Solvents *J Food Sci.*, 72(2), 159-166. doi: 10.1111/j.1750-3841.2006.00260.x
- Zern, T. L., & Fernandez, M. L. (2005). Cardioprotective effects of dietary polyphenols. *The Journal of nutrition*, 135(10), 2291-2294.
- Αρβανιτογιάννης, Ι. Σ., & Τζούρος, Ν. Η. (2004). *Οδηγός Καταναλωτή για Ασφαλή Μεταχείριση Τροφίμων*. Αθήνα: ΑΘ. ΣΤΑΜΟΥΛΗΣ.
- Μπλούκας, Ι. Γ. (2004). *Επεξεργασία & Συντήρηση Τροφίμων*. Αθήνα: Αθ. Σταμούλης.
- ΥΑΑΤ. (2013). Τομέας Βερίκοκου. *Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων*, from <http://www.minagric.gr/index.php/el/for-farmer-2/crop-production/oporokipeytika/1773-berikoka>
- ΥΑΑΤ. (2016). Αποξηραμένα Σύκα. *Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων*, from <http://www.minagric.gr/index.php/el/for-farmer-2/crop-production/oporokipeytika/854-syka>