ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ & ΔΙΑΤΡΟΦΗ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΙΑΤΡΟΦΗ

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ

Βιοπροσβασιμότητα πολικών φαινολικών συστατικών από παραδοσιακά ελληνικά γλυκίσματα (γλυκά κουταλιού, μαρμελάδες)

ΜΟΥΡΑΚΑ ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ

Αθήνα, 2018



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΙΑΤΡΟΦΗ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Αντωνία Χίου(Επιβλέπουσα)
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας και Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

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

Νίκος Καλογερόπουλος
Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας και Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Η Μουράκα Παναγιώτα

δηλώνω υπεύθυνα ότι:

1) Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δε συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλει 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.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου, κ. Χίου Αντωνία, για την πολύτιμη βοήθειά της και τις συμβουλές καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της μεταπτυχιακής μου διατριβής. Το ενδιαφέρον της, η καθοδήγηση και η ενθάρρυνσή της αποτέλεσαν καθοριστικό παράγοντα για την ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας και του μετέπειτα ενδιαφέροντος μου για το συγκεκριμένο ερευνητικό αντικείμενο.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω και στην υποψήφια διδάκτορα Παναγοπούλου Ειρήνη, για την στήριξή της όλο αυτό το χρονικό διάστημα, την μετάδοση των γνώσεών της και την πολύτιμη βοήθειά της τόσο κατά την διάρκεια της διατριβής όσο και αργότερα.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Μαργαρίτα Χρηστέα για την καθημερινή συνεισφορά της στο χώρο του εργαστηρίου και στην διαδικασία του πειράματος καθώς και τον φίλο και συνάδελφο Μπισμπίκη Μηνά.

Τέλος δεν θα μπορούσα να παραλείψω την οικογένεια μου που με στηρίζει σε κάθε βήμα και σε κάθε δυσκολία καθώς και τους φίλους μου για την στήριξή τους όλο αυτό το δύσκολο χρονικό διάστημα.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Περιεχόμενα

Περίληψη ... 6

Abstract ... 8

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ ... 9

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ ... 10

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ ... 12

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ ... 13

Θεωρητικό Μέρος ... 14

Κεφάλαιο 1ο ... 14

Μαρμελάδες και γλυκά κουταλιού ... 14

1.1. Διατροφή και σύγχρονος τρόπος ζωής ... 14

1.2. Φρούτα ... 15

1.3. Μαρμελάδες ... 16

1.4. Μαρμελάδες και γλυκά του κουταλιού σήμερα ... 17

1.5. Ορισμοί και νομοθετικό πλαίσιο μαρμελάδων και γλυκών του κουταλιού ... 19

Κεφάλαιο 2ο ... 21

Χημεία και βιοχημεία φαινολικών ενώσεων ... 21

2.1. Ορισμός φαινολικών ενώσεων ... 21

2.2. Ταξινόμηση φαινολικών ενώσεων ... 22

2.3. Γενικά για την παρουσία φαινολικών ενώσεων στα τρόφιμα ... 28

2.4. Φαινολικό περιεχόμενο τροφίμων ... 29

2.5. Οι πολυφαινόλες δρουν ως οφέλη για την υγεία ... 31

2.6. Βιοπροσβασιμότητα φαινολικών ενώσεων ... 32

2.7. Παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοπροσβασιμότητα και τη βιοδιαθεσιμότητα ... 33

2.8. Το «ταξίδι» των πολυφαινολών ... 33

2.9. Μελέτες βιοπροσβασιμότητας *in vitro* για μαρμελάδες ... 34

Κεφάλαιο 3ο ... 35

Πολικό Φαινολικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση μαρμελάδων/γλυκών κουταλιού ... 35

3.1. Πολικό φαινολικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική ικανότητα *in vitro* των μαρμελάδων και των γλυκών του κουταλιού ... 35

3.2. Επίδραση της επεξεργασίας και της αποθήκευσης των μαρμελάδων/γλυκών κουταλιού στο φαινολικό περιεχόμενο/αντιοξειδωτική ικανότητα ... 40

Κεφάλαιο 4ο ... 40

Σκοπός ... 40

Πειραματικό μέρος 42
Κεφάλαιο 5 42
Μεθοδολογία 42
5.1. Επιλογή δειγμάτων 42
5.2. Προετοιμασία πειράματος 43
5.2.1. Προσομοίωση πέψης *in vitro* 45
5.2.2. Πορεία πειράματος 47
5.2.3. Προετοιμασία διαλυμάτων ενζύμων σε κάθε στάδιο 47
5.2.4. Διαδικασία προσομοίωσης της φάσης της μάσησης, της γαστρικής και της εντερικής πέψης. 47
5.2.5. Προετοιμασία δειγμάτων για ανάλυση 49
5.3. Ποσοτικοί προσδιορισμοί εκχυλισμάτων 50
5.3.1. Προσδιορισμός ολικών φαινολικών συστατικών με τη δοκιμή Folin-Ciocalteu 50
5.3.2. Προσδιορισμός ολικών φλαβανολών (TFl) 51
5.3.3. Προσδιορισμός ολικών φλαβονών/φλαβανονών (TFn) 52
5.4. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης in vitro 53
5.4.1. Ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών 53
5.4.2. Ικανότητα αναγωγής μεταλλικών κατιόντων 54
Κεφάλαιο 6ο 56
Αποτελέσματα 56
6.1. Πολικές φαινόλες μαρμελάδων και γλυκών κουταλιού 56
6.2. Βιοπροσβασιμότητα πολικών φαινολών 57
6.2.1 Μαρμελάδα φράουλα 57
6.2.2. Μαρμελάδα ροδάκινο 61
6.2.3. Μαρμελάδα καρύδι 64
6.2.4. Μαρμελάδα ελιά 65
6.2.5. Γλυκά κουταλιού 67
6.2.6. Συγκριτικά διαγράμματα βιοπροσβάσιμων ολικών φαινολών από μαρμελάδες 68
6.2.7. Συγκριτικά διαγράμματα βιοπροσβάσιμων ολικών φαινολών από μαρμελάδες με ψωμί . 70
6.2.8. Συγκριτικά διαγράμματα βιοπροσβάσιμων ολικών φαινολών σε γλυκά κουταλιού 71
Κεφάλαιο 7ο 72
Συμπεράσματα/ Συζήτηση 72
Βιβλιογραφία 74

Περίληψη

Οι πολικές φαινόλες αποτελούν ήσσονα συστατικά των φυτών που έχουν συνδεθεί με πληθώρα ευεργετικών δράσεων για την ανθρώπινη υγεία. Τα φρέσκα φρούτα αποτελούν πλούσια πηγή πολικών φαινολικών ενώσεων ενώ τα προϊόντα που προκύπτουν από αυτά φαίνεται ότι επίσης περιέχουν φαινολικά συστατικά της μητρικής πρώτης ύλης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα προϊόντων φρούτων αποτελούν οι μαρμελάδες και τα γλυκά του κουταλιού, τα οποία παραδοσιακά έχουν αποτελέσει αποτελεσματικό μέσο διατήρησης των φρούτων. Βρίσκουν ανταπόκριση, μάλιστα, βαθιά μέσα στις παραδόσεις της χώρας μας αλλά και άλλων λαών.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν ο προσδιορισμός των διαθέσιμων προς απορρόφηση πολικών φαινολικών ενώσεων από ελληνικές μαρμελάδες και γλυκά του κουταλιού, μελέτη η οποία διεξήχθη μετά από προσομοίωση της πέψης *in vitro*. Με διατροφικό δεδομένο ότι οι μαρμελάδες συνήθως καταναλώνονται σε συνδυασμό με ψωμί και με επιστημονικό δεδομένο ότι το υπόστρωμα του τροφίμου επιδρά στην απελευθέρωση των πολικών φαινολών στο γαστρεντερικό αυλό, ο προσδιορισμός των διαθέσιμων προς απορρόφηση πολικών φαινολών από μαρμελάδες μελετήθηκε επιπρόσθετα σε συνδυασμό ψωμιού με την εκάστοτε μαρμελάδα.

Αξιολογήθηκαν συνολικά 9 μαρμελάδες από 4 είδη φρούτων/καρπών (φράουλα, ροδάκινο, ελιά, καρύδι) και 3 γλυκά κουταλιού (από ελιά και καρύδι). Όλα τα δείγματα υποβλήθηκαν σε προσομοίωση πέψης λαμβάνοντας δείγματα μετά από τη διαδικασία της μάσησης, γαστρικής και εντερικής πέψης. Ακολούθησε προσδιορισμός ολικών φαινολών, ολικών φλαβανολών και ολικών φλαβονών/φλαβονολών καθώς και προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω της ικανότητας δέσμευσης ελευθέρων ριζών (DPPH) και μέσω της αναγωγής μεταλλικών κατιόντων (FRAP).

Επί συνόλου βρέθηκε ότι οι μαρμελάδες και στα γλυκά του κουταλιού αποτελούν τρόφιμα που περιέχουν φαινολικές ενώσεις, οι οποίες είναι βιοπροσβάσιμες σε διαφορετικό βαθμό κατά τα στάδια της πέψης. Σε όλες τις περιπτώσεις πολικές φαινόλες ανιχνεύθηκαν ήδη από το στάδιο της μάσησης. Στο στάδιο της γαστρικής πέψης οι διαθέσιμες προς απορρόφηση φαινολικές ενώσεις αυξήθηκαν σε όλες τις περιπτώσεις ενώ κατά την εντερική πέψη βρέθηκε ότι κάποιο ποσοστό – κατά περίπτωση - των περιεχόμενων στο προϊόν φαινολικών ενώσεων περνά στο εντερικό επιθήλιο.

Συμπερασματικά οι πολικές φαινολικές ενώσεις διατίθενται προς απορρόφηση μετά την κατανάλωση μαρμελάδων και γλυκών κουταλιού.

Λέξεις κλειδιά: Μαρμελάδες, γλυκά κουταλιού, προσομοίωση πέψης, βιοπροσβασιμότητα, πολυφαινόλες.

Abstract

Polar phenols are minor components of plants that have been associated with a wealth of beneficial effects on human health. Fresh fruits are a rich source of polar phenolic compounds and their products appear also to contain phenolic compounds of the raw material. A typical example of fruit products are jams and spoon sweets, which have traditionally been an effective means of preserving fruit. In fact, they find deep response in the traditions of our country and other countries as well.

The aim of this study was to determine the bioaccessibility of polar phenolic compounds from Greek jams and spoon sweets. Polar phenolic compound bioaccessibility from jams was additionally evaluated in combination with bread given that the food matrix affects is a major determinant of phenol bioaccessibility; on the other hand jams are usually consumed along with starch rich foods such as bread and as such it mimics the true situation during their consumption.

A total of 9 jams of 4 of fruit/nut types (strawberry, peach, olive, nut) and 3 spoon sweets (olive and nuts) were evaluated. In vitro digestion was performed as to mimic oral, gastric and intestinal digestion. Total phenols, total flavanols and total flavones/flavonols as well as antioxidant capacity in vitro were evaluated in all samples obtained for the several digestion phases.

Overall, jams and spoon sweets were found to contain phenolic compounds that were bioaccessible in the several digestion phases at different extent. In all cases polar phenols were detected as soon as oral digestion was applied. An increase of the bioaccessible phenols was observed after gastric digestion, while phenolic compounds were also found in the simulated intestinal epithelium.

In conclusion, polar phenolic compounds are bioaccessible after the consumption of jams and sweet spoons.

Keywords: marmalades, jams, bioaccessibility, gastrointestinal digestion simulation, polyphenols

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Βασικές δομές Φλαβονοειδών (The Science of Flavonoids, Erich Groteworld). 25
Εικόνα 2. Δομή φαινολικών οξέων (Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., 16(2), 2012, 28:130-134) 26
Εικόνα 3. Δομή και πηγές λιγνανών (Baillière's Clin Endocrinol Metab 1998; 12: 729–742). 27
Εικόνα 4. Δομή δομικών μονάδων ταννινών (Bio-protocol 2016 6(20): e1975)..... 28

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Κατανάλωση φρούτων και λαχανικών κατά το έτος 2014 σε Ευρωπαϊκές χώρες..... 15
Πίνακας 2. Ποσοστό εξαγωγής μαρμελάδων/πουρέ φρούτων κατά το έτος 2016 ανά χώρα 17
Πίνακας 3. Συμμετοχή % των χωρών της Ευρωπαϊκής Ένωσης στην παραγωγή μαρμελάδων.18
Πίνακας 4. Παραγωγή προϊόντων φρούτων (εκτός πουρέ και κομποστών) 18
Πίνακας 5. Ταξινόμηση φαινολικών ενώσεων με βάση τον αριθμό των αρωματικών δακτυλίων (Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag. 1980: 329–395) 22
Πίνακας 6. Ταξινόμηση φυσικών φαινολικών ενώσεων (Journal of Functional Foods 2015:820-897). 23
Πίνακας 7. Μαρμελάδες και περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις. 30
Πίνακας 8. Φαινολικό περιεχόμενο Μαρμελάδων 37
Πίνακας 9. Δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν για την προσομοίωση γαστρικής πέψης in vitro.. 42
Πίνακας 10. Πορεία για παρασκευή SSF, SGF, SIF διαλυμάτων 45
Πίνακας 11. Ποσότητες ενζύμων και χολικών αλάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή διαλυμάτων της πέψης. 47
Πίνακας 12. Φαινολικό περιεχόμενο μαρμελάδων και γλυκών κουταλιού 56
Πίνακας 13. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας Μαρμελάδας φράουλας με ζαχαροκάλαμο 57
Πίνακας 14. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας Μαρμελάδας φράουλας με ζαχαροκάλαμο και ψωμί 58
Πίνακας 15. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας σπιτικής Μαρμελάδας φράουλας 59
Πίνακας 16. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας σπιτικής Μαρμελάδας φράουλας με ψωμί 59
Πίνακας 17. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας Μαρμελάδας φράουλας εμπορίου 60
Πίνακας 18. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας εμπορικής μαρμελάδας φράουλας και ψωμί 60
Πίνακας 19. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας Μαρμελάδας ροδάκινο με ζαχαροκάλαμο 61
Πίνακας 20. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας μαρμελάδας ροδάκινο με ζαχαροκάλαμο και ψωμί 61
Πίνακας 21. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας της σπιτικής μαρμελάδας ροδάκινου 62
Πίνακας 22. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας της σπιτικής μαρμελάδας ροδάκινου με ψωμί 62
Πίνακας 23. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας της εμπορικής μαρμελάδας ροδάκινο 63
Πίνακας 24. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας εμπορικής μαρμελάδας ροδάκινο με ψωμί 63
Πίνακας 25. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας της μαρμελάδας καρύδι 64
Πίνακας 26. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας μαρμελάδας καρύδι με ψωμί 64
Πίνακας 27. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας της εμπορικής μαρμελάδας ελιάς «2» 65

Πίνακας 28. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας εμπορικής μαρμελάδας ελιάς «2» με ψωμί..... 65
Πίνακας 29. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας της εμπορικής μαρμελάδας ελιάς «1» 66
Πίνακας 30. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας εμπορικής μαρμελάδας ελιάς «1» και ψωμί 66
Πίνακας 31. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας γλυκό κουταλιού ελιά «1» 67
Πίνακας 33. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας γλυκό κουταλιού ελιά «2» 67
Πίνακας 32. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας γλυκό κουταλιού καρύδι 68

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

Γράφημα 1. Ολικές φαινόλες μαρμελάδων κατά τα διάφορα στάδια της πέψης..... 69
Γράφημα 2. Ολικές φαινόλες μαρμελάδων κατά τα διάφορα στάδια της πέψης μαρμελάδων με ψωμί..... 70
Γράφημα 3. Ολικές φαινόλες γλυκών κουταλιού κατά τα διάφορα στάδια της πέψης..... 71

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

SSF	Διάλυμα αλάτων για την φάση της μάσησης
SGF	Διάλυμα αλάτων για την φάση της γαστρικής πέψης
SIF	Διάλυμα αλάτων για την φάση της εντερικής πέψης
WHO	Παγκόσμιος οργανισμός υγείας
CBI	Centre for the Promotion of Imports from developing countries
USDA	U.S. Department of Agriculture
Qu	Κουερκετίνη
K	Καμπφερόλη
My	Μυρισετίνη
B1-4	Β-προκυανιδίνες
C	Κατεχίνη
EC	Επικατεχίνη
GAE	Ισοδύναμα γαλλικού οξέος
DW	Βάρος ξηρού προϊόντος
FW	Βάρος φρέσκου προϊόντος
nd	Μη ανιχνεύσιμο
tr	Ίχνη

Θεωρητικό Μέρος

Κεφάλαιο 1ο

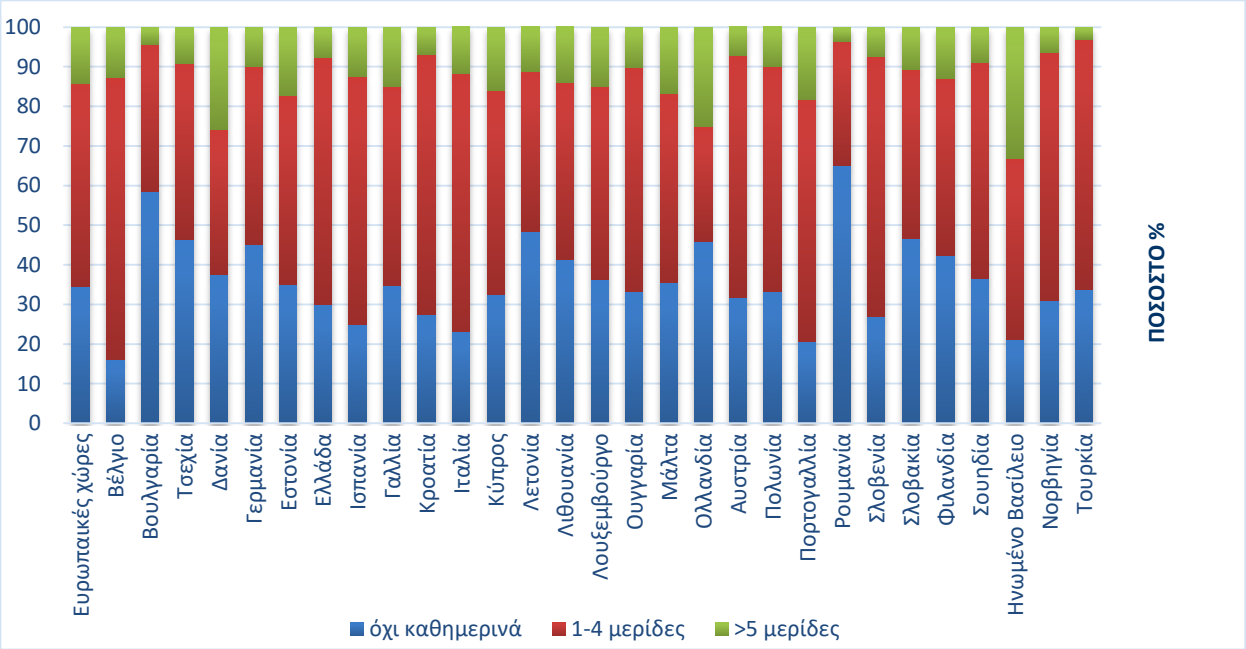
Μαρμελάδες και γλυκά κουταλιού

1.1. Διατροφή και σύγχρονος τρόπος ζωής

Η διατροφή έχει εξελιχθεί τα τελευταία χρόνια και επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Η προσκόλληση σε μία υγιεινή διατροφή έχει συσχετιστεί με την προστασία από διάφορες μη μεταδιδόμενες ασθένειες. Με τον όρο υγιεινή διατροφή εννοούμε μια διατροφή πλούσια σε φρούτα, λαχανικά, όσπρια, ξηρούς καρπούς και προϊόντα ολικής αλέσεως. Ωστόσο, η σύγχρονη κοινωνία και ο τρόπος ζωής έχει οδηγήσει στην αυξημένη παραγωγή επεξεργασμένων προϊόντων και συνεπώς στην κατανάλωση τροφίμων πλούσια σε λίπος, ζάχαρη και αλάτι μειώνοντας εκείνη των φρούτων και λαχανικών (WHO, 2018).

Ο παγκόσμιος οργανισμός υγείας στα πλαίσια της προώθησης της υγιεινής διατροφής προτείνει την κατανάλωση ποικιλίας τροφίμων, ποικιλία φρούτων και λαχανικών, λιγότερη ζάχαρη και αλάτι στην διατροφή μας (WHO, 2016). Αυτές οι συστάσεις επαληθεύονται και στους εθνικούς διατροφικούς οδηγούς, οι οποίοι συντάχθηκαν το 2014 από το Ινστιτούτο Πρόληψης. Όσον αφορά στα φρούτα, σύμφωνα με τον διατροφικό οδηγό, οι συστάσεις είναι 3 μερίδες την ημέρα από ποικιλία φρούτων. Αυτά μπορούν να είναι υπό μορφή φρέσκου φρούτου, αποξηραμένου φρούτου, χυμού (Εθνικοί Διατροφικοί Οδηγοί, 2014). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της Eurostat η ευρωπαϊκή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών καθημερινώς διαγράφεται όπως φαίνεται στον Πίνακα 1 (Eurostat, 2014).

Πίνακας 1. Κατανάλωση φρούτων και λαχανικών κατά το έτος 2014 σε Ευρωπαϊκές χώρες.



Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της European Health Interview Survey στις χώρες της Ευρωπαϊκής ένωσης περίπου το ένα τρίτο του πληθυσμού δεν συμπεριελάμβανε στη διατροφή του σε καθημερινή βάση τα φρούτα και τα λαχανικά (34,4%), ενώ το 52.4% του πληθυσμού κατανάλωνε από 1-4 μερίδες ημερησίως και ένα πολύ μικρό ποσοστό πάνω από 5 μερίδες (14,1%). Στην Ελλάδα, το μεγαλύτερο ποσοστό του πληθυσμού (62.1%) κατανάλωνε 1-4 μερίδες φρούτων και λαχανικών ημερησίως ενώ σημαντικό είναι και το ποσοστό εκείνων που δεν συμπεριελάμβαναν καθόλου τα φρούτα και λαχανικά στη διατροφή τους (30.1%).

1.2. Φρούτα

Οι πρώτες ενδείξεις για ανάπτυξη πολιτισμού εντοπίζονται στη Μεσοποταμία και έπειτα στις περιοχές του Νείλου και στην Κίνα, Κεντρική Αμερική και πιθανότατα και Ανατολική και Δυτική Ασία. Στη Μέση Ανατολή πραγματοποιήθηκαν οι πρώτες καλλιέργειες, οι οποίες περιλάμβαναν δημητριακά όπως το κριθάρι καθώς και όσπρια όπως οι φακές και το σουσάμι. Περί το 6000 εώς 3000 π.Χ., στην Νεολιθική Εποχή συναντάμε την αρχή της καλλιέργειας των φρούτων, η οποία ξεκίνησε από τον Τίγρη και τον Ευφράτη και από τη Μεσοποταμία και τον Νείλο. Αργότερα, προσδέθηκαν νέα είδη και τεχνολογίες για την καλλιέργεια των φρούτων από την Ελλάδα, Περσία, Τουρκία, Ινδία και Κίνα (Janick, 2005).

1.3. Μαρμελάδες

Οι μαρμελάδες και τα γλυκά του κουταλιού είναι στενά συνδεδεμένα με την παράδοση, τα ήθη και τα έθιμα του λαού μας. Σύμφωνα με τον κώδικα τροφίμων και ποτών ο όρος μαρμελάδα εκφράζει ένα μίγμα πολτώδους μορφής με προσθήκη φυσικών γλυκαντικών ουσιών, το οποίο υπόκεινται σε παρατεταμένο βρασμό. Από την άλλη πλευρά, τα γλυκά του κουταλιού αναφέρονται σε προϊόντα που προκύπτουν από στον βρασμό είτε ολόκληρου είτε τμήματος του φρούτου με την προσθήκη ζάχαρης. Η μαρμελάδα, στις μέρες μας, είναι ευρέως γνωστή ιδίως για τη χρήση της στο πρωινό γεύμα αλλά και σε διάφορες μορφές γαστρονομικών απολαύσεων, ιδιαίτερα γλυκισμάτων (Κώδικας Τροφίμων και Ποτών, 2010). Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Ένωση ως μαρμελάδες μπορούν να πωληθούν όσα προϊόντα παράγονται από εσπεριδοειδή φρούτα (79/693/ΕΟΚ). Στις χώρες της Ευρώπης χρησιμοποιούνται διαφορετικές έννοιες για να δηλωθεί η γνωστή σε εμάς «μαρμελάδα». Στην Ιταλία, για παράδειγμα, έχει υιοθετηθεί ο όρος «marmellata», ενώ στην Γαλλία «marmalade». Οι Βρετανοί μέχρι τα τέλη του 18ου αιώνα όταν ανέφεραν τη λέξη μαρμελάδα εννοούσαν αποκλειστικά τη μαρμελάδα κυδώνι, ενώ στα τέλη του 17ου αιώνα προστέθηκε στο λεξιλόγιό τους ο όρος «jam», ο οποίος έκανε την εμφάνισή του κυρίως έπειτα από αναφορές σε βιβλία μαγειρικής και προσδιορίζει τη μαρμελάδα μη εσπεριδοειδών φρούτων (Toussaint-Samat, 1994).

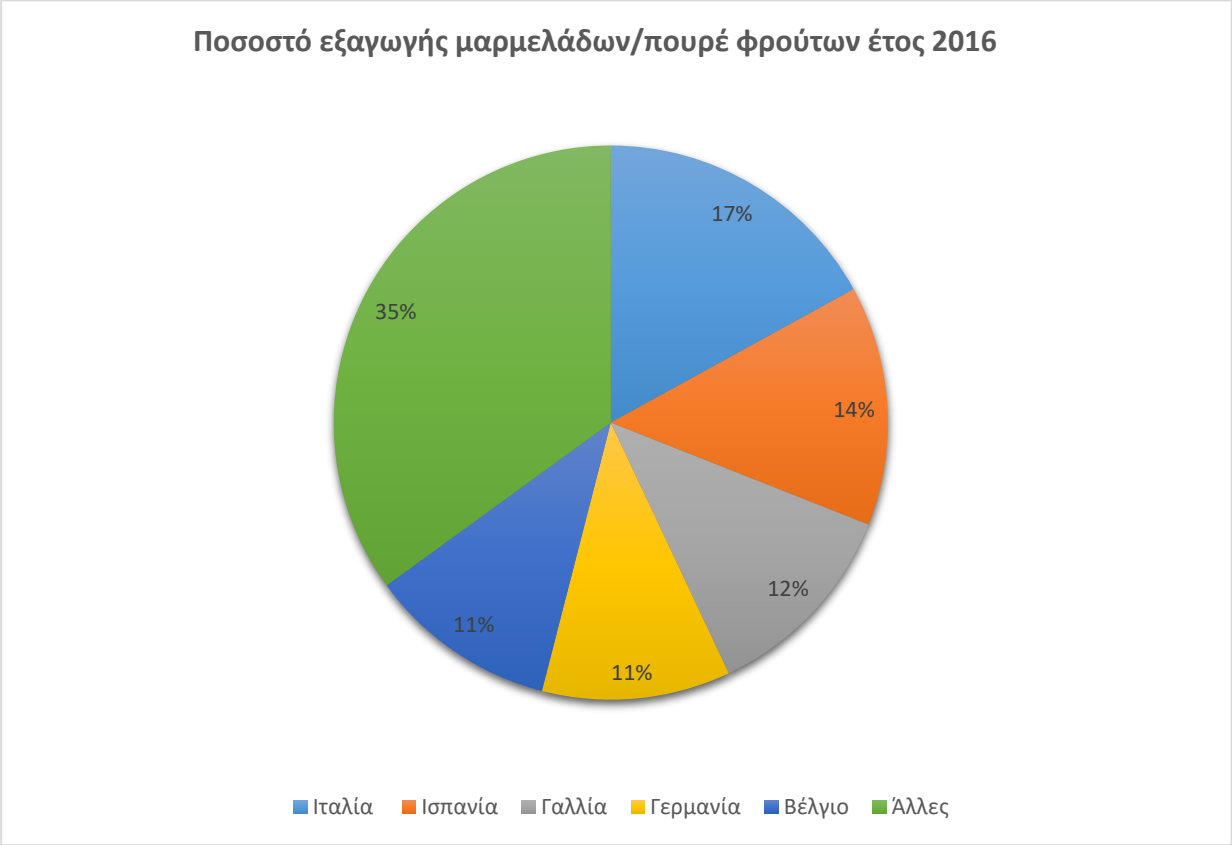
Η μαρμελάδα θεωρείται ότι μεταφέρθηκε στην Πορτογαλία από την Ιταλία και την Ισπανία και μετέπειτα έγινε γνωστή στην Αγγλία. Μάλιστα, εκείνο το χρονικό διάστημα, με τον όρο μαρμελάδα εννοούσαν αποκλειστικά τη μαρμελάδα κυδώνι και έπειτα προχώρησαν σε προσθήκη και άλλων φρούτων. Ο τρόπος, ωστόσο, που τα κυδώνια διατηρούνταν είχε να κάνει με το γεγονός ότι οι άνθρωποι ήθελαν να τα καταναλώνουν μακροπρόθεσμα και σε περιόδους που δεν ευδοκιμούσαν (Wilson, 1999).

Ανατρέχοντας στην ιστορία της αρχαίας Ελλάδας ανακαλύπτουμε τις ρίζες και τον τρόπο παρασκευής της μαρμελάδας. Πιο συγκεκριμένα, υπάρχουν αναφορές σε συνταγές των Ελλήνων ιατρών, οι οποίοι, απέδιδαν ιατροφαρμακευτικά οφέλη με την κατανάλωση της μαρμελάδας από κυδώνι. Το κυδώνι το διατηρούσαν για μεγάλο χρονικό διάστημα μαζί με το μέλι και μετέπειτα το ίδιο φρούτο το έβραζαν με κόκκινο κρασί και ακολούθως το διατηρούσαν με μέλι σ’ ένα σκεύος. Το ελληνικό όνομα αυτής της συνταγής ήταν «μελίμηλον», το οποίο οι πορτογάλοι το μετέφρασαν σε marmelo (κυδώνι), απ’ όπου προήλθε η λέξη marmelada. Στο τέλος του Μεσαίωνα, όπου έχουμε την είσοδο της ζάχαρης στη μαγειρική, στα κυδώνια δεν προσέθεταν πλέον μέλι αλλά ζάχαρη για να τα διατηρήσουν και να τα «γλυκάνουν» (Wilson, 1999).

1.4. Μαρμελάδες και γλυκά του κουταλιού σήμερα

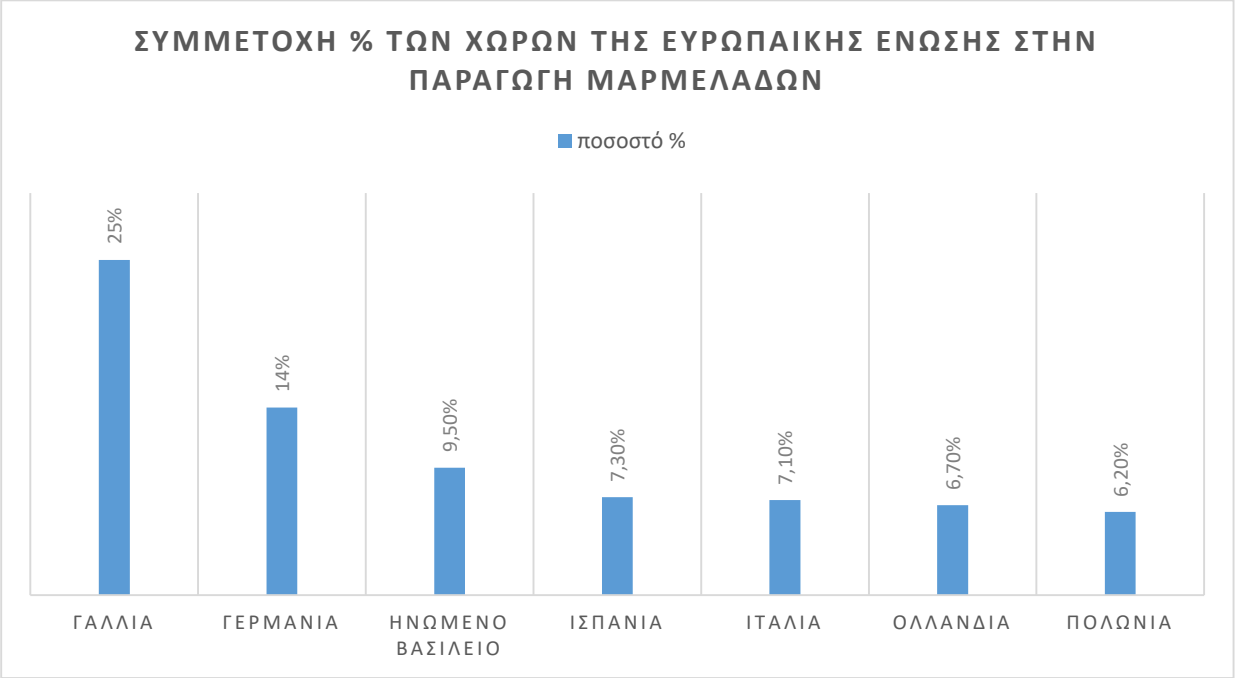
Η Ευρωπαϊκή Ένωση αποτελεί τη μεγαλύτερη αγορά μαρμελάδων στον κόσμο, αντιπροσωπεύοντας περίπου το 50% των συνολικών εισαγωγών. Οι χώρες με το μεγαλύτερο αριθμό εισαγωγών μαρμελάδων και προϊόντων τους είναι η Γερμανία, Γαλλία και το Ηνωμένο βασίλειο κατά το έτος 2016. Επιπλέον, η εισαγωγή αυτών των προϊόντων αναμένεται να αυξηθεί τα επόμενα χρόνια στην Ευρώπη (CBI, 2017).

Πίνακας 2. Ποσοστό εξαγωγής μαρμελάδων/πουρέ φρούτων κατά το έτος 2016 ανά χώρα



Η παραγωγή μαρμελάδων και πουρέ φρούτων αναπτύσσεται τα τελευταία χρόνια (Πίνακας 3). Η χώρα με τη μεγαλύτερη παραγωγή αυτών των προϊόντων είναι η Γαλλία ακολουθούμενη από τη Γερμανία και το Βέλγιο. Η πλειοψηφία της παραγωγής μαρμελάδων πραγματοποιείται είτε από πουρέ φρούτων είτε από πούλπα. Ωστόσο για την παραγωγή μαρμελάδας υψηλής ποιότητας χρησιμοποιούνται φρέσκα φρούτα. Η ποσοστιαία συμμετοχή των χωρών στην παραγωγή μαρμελάδας διαγράφεται ακολούθως (CBI, 2017).

Πίνακας 3. Συμμετοχή % των χωρών της Ευρωπαϊκής Ένωσης στην παραγωγή μαρμελάδων.



Η κατανάλωση μαρμελάδων στις χώρες της Ευρώπης είναι ιδιαίτερα αυξημένη με την Γαλλία να καταλαμβάνει την πρώτη θέση και να ακολουθούν η Γερμανία, το Ηνωμένο βασίλειο, η Ιταλία και η Ισπανία. Μάλιστα η Γαλλία και η Γερμανία αποτελούν το 50% του συνολικού ποσοστού κατανάλωσης μαρμελάδας στην Ευρωπαϊκή ένωση. Αυτά τα δεδομένα μπορούν να ερμηνευτούν από το γεγονός ότι στις συγκεκριμένες χώρες παρατηρείται έντονα το φαινόμενο, ειδικά κατά το πρωινό γεύμα, να καταναλώνονται αυξημένες ποσότητες μαρμελάδων σε συνδυασμό με την κατανάλωση ψωμιού (CBI, 2017).

Πίνακας 4. Παραγωγή προϊόντων φρούτων (εκτός πουρέ και κομποστών)

Παραγωγή Προϊόντων φρούτων (τόνοι)	2014	2015	2016
Αυστρία	23	23000	23000
Γερμανία	259.893	261.393	276.096
Φιλανδία, Δανία, Ισπανία	46.346	50.008	50.254
Γαλλία	125.758	135.553	127.336
Ιταλία	42.887	43.000	69.000
Σύνολο	497.884	512.954	545.686

1.5. Ορισμοί και νομοθετικό πλαίσιο μαρμελάδων και γλυκών του κουταλιού

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής ένωσης (οδηγία του συμβουλίου της ΕΕ, 79/693/EEC, 24 Ιουλίου 1979) καθιερώθηκαν συγκεκριμένοι ορισμοί και πρότυπα για τις μαρμελάδες και την παραγωγή τους. Αυτές οι οδηγίες αναθεωρήθηκαν με τις πιο πρόσφατες κατευθυντήρες οδηγίες το 2001 (Συμβούλιο της ΕΕ, 2001/113/EC, 20 Δεκεμβρίου 2001). Συγκεκριμένα, υπάρχουν τα παρακάτω είδη μαρμελάδας.

1) Μαρμελάδα: μείγμα συγκεκριμένης πυκνότητας που αποτελείται από ζάχαρη και σάρκωμα φρούτου/πουρέ. Παρασκευάζεται είτε από ένα είδος φρούτου είτε από δύο ή περισσότερα είδη φρούτων. Η ποσότητα που χρησιμοποιείται για την παρασκευή 1 kg τελικού προϊόντος πρέπει να είναι παραπάνω από:
    i. 350 g σε γενικές περιπτώσεις
    ii. 250 g στη περίπτωση μαύρων, κόκκινων φραγκοστάφυλων, κυδωνιών
    iii. 150 g στην περίπτωση της πιπερόριζας
    iv. 160 g στην περίπτωση του ανακάρδιου
    v. 60 g στην περίπτωση των καρπών της ρολογιάς
2) Μαρμελάδα έξτρα: το μείγμα συγκεκριμένης πυκνότητας που αποτελείται από ζάχαρη και σάρκωμα φρούτου/πουρέ. Παρασκευάζεται είτε από ένα είδος φρούτου είτε από δύο ή περισσότερα είδη φρούτων. Εξαίρεση αποτελούν τα μήλα, αχλάδια, πεπόνια, καρπούζια, σταφύλια, κολοκύθες, αγγούρια, τομάτες και συμπύρηνα δαμάσκηνα τα οποία δεν χρησιμοποιούνται σε μίγμα. Η ποσότητα του σαρκώματος φρούτου ή/και πουρέ που χρησιμοποιείται για τη παρασκευή 1 kg προϊόντος πρέπει να είναι παραπάνω από:
    i. 450 g σε γενικές περιπτώσεις
    ii. 350 g στη περίπτωση μαύρων, κόκκινων φραγκοστάφυλων, κυδωνιών
    iii. 250 g στην περίπτωση της πιπερόριζας
    iv. 230 g στην περίπτωση του ανακάρδιου
    v. 80 g στην περίπτωση των καρπών της ρολογάς
3) Μαρμελάδα έξτρα από εσπεροειδή: το μείγμα με συγκεκριμένη πυκνότητα και ζάχαρη. Παρασκευάζεται από ολόκληρα φρούτα κομμένα σε λωρίδες η/και σε φέτες. Η ποσότητα εσπεροειδών που χρησιμοποιείται για την παρασκευή 1 kg τελικού προϊόντος δεν πρέπει να είναι κατώτερη από 200 g, εκ των οποίων τα 75g να προέρχονται από το ενδοκάρπιο.
4) Ζελέ: πρόκειται για μίγμα σακχάρων και χυμού ή/και υδατικού εκχυλίσματος από ένα ή περισσότερα φρούτα και βρίσκεται σε πηκτή μορφή. Για την παρασκευή 1 kg τελικού

προϊόντος η ποσότητα του υδατικού περιεχομένου ακολουθεί τις ίδιες προδιαγραφές με την παρασκευή της μαρμελάδας. Το ίδιο ισχύει και για το ζελέ έχτρα, στο οποίο η ποσότητα του τελικού προϊόντος ακολουθεί τις προδιαγραφές του τελικού προϊόντος της μαρμελάδας έχτρα (κώδικας τροφίμων και ποτών, 2011).

Ο Κώδικας Τροφίμων και Ποτών (Codex Alimentarius) επιβάλλει συγκεκριμένες προδιαγραφές για τις μαρμελάδες και τα ζελέ από φρούτα. Πιο συγκεκριμένα, αναλύει τους ορισμούς των μαρμελάδων, την περιεκτικότητά τους σε φρούτα καθώς και τη διαδικασία της ετικέτας σε κάθε είδος ξεχωριστά. Σύμφωνα με την τελευταία διαθέσιμη έκδοση του 2009 (CODEXSTAN 296/2009) η περιεκτικότητα των φρούτων στις μαρμελάδες και στα ζελέ φρούτων δεν πρέπει να είναι μικρότερη από το 45% με εξαιρέσεις:

- 35% για κυδώνια, μαύρα και κόκκινα φραγκοστάφυλα, τριαντάφυλλα, μάνγκο
- 30% για κράνμπερι
- 25% για μπανάνα, τζίντζερ, γουάβα
- 23% μήλα
- 20% ντουριάν
- 10% ταμαριντ
- 8% φρούτα του πάθους

Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών, τα γλυκά του κουταλιού θεωρούνται εκείνα τα προϊόντα που κατασκευάζονται:

- από φρούτα ή καρπούς, είτε αφαιρέθηκαν οι πυρήνες είτε όχι
- από τμήματα φυτών
- από χυμούς

Έπειτα ακολουθεί βρασμός αυτών των συστατικών με ζάχαρη ή/και με άλλα γλυκαντικά όπως είναι το σιρόπι αμύλου, σταφιδίνη ή σιρόπι χαρουπιού. Ακόμα μπορούν να προστεθούν και ξηροί καρποί και αρωματικά όπως είναι για παράδειγμα η κανέλλα, το γαρύφαλλο, μοσχοκάρυδο και άλλα (Κώδικας Τροφίμων και Ποτών, 2011).

Όσον αφορά στις μαρμελάδες οι ορισμοί είναι ίδιοι με εκείνους της Ευρωπαϊκής Ένωσης, ωστόσο αξίζει να σημειωθεί ότι στις ετικέτες των μαρμελάδων τα αναγραφόμενα φρούτα συμπληρώνονται κατά φθίνουσα τάξη της κατά βάρος αναλογίας τους ενώ σε εκείνα που παρασκευάζονται με παραπάνω από τρία φρούτα χρησιμοποιείται είτε η ένδειξη ”διάφορα φρούτα“ είτε ο αριθμός των φρούτων. Επιπλέον, η περιεκτικότητα σε φρούτα αναγράφεται στην ετικέτα όπως και η περιεκτικότητα σε σάκχαρα ανά 100 g τελικού προϊόντος (CODEX STAN 296/2009). Επίσης, η ζάχαρη μπορεί να αντικατασταθεί με

άλλες γλυκαντικές ύλες, όπως είναι το αμυλοσιρόπιο, η σταφιδίνη, το σιρόπι χαρουπιού. Σε αυτή την περίπτωση πρέπει να αναγράφεται στην ετικέτα της μαρμελάδας η γλυκαντική ύλη που χρησιμοποιείται για να μην παραπλανάται το αγοραστικό κοινό (Κώδικας Τροφίμων και Ποτών, 2009). Παρασκευή μαρμελάδων/γλυκών κουταλιού

Η παρασκευή μαρμελάδων αποτελεί κοινή μορφή διατήρησης των φρούτων. Για την παρασκευή των μαρμελάδων ακολουθούνται πολλές τακτικές. Παρακάτω ακολουθούν επιγραμματικά τα βήματα που ακολουθούνται κατά την δημιουργία μαρμελάδας.

1. Ανάμιξη όλων των πρώτων υλών, όπως είναι για παράδειγμα το φρούτο, η ζάχαρη, η πηκτίνη και τα βελτιωτικά γεύσης, χρώματος, οσμής.
2. Εξάτμιση μέχρι να αποκτηθεί το επιθυμητό περιεχόμενο σε στερεά υλικά
3. Θερμική επεξεργασία του προϊόντος
4. Προσθήκη κιτρικού οξέος για τη ρύθμιση του pH, με σκοπό να επιτευχθεί pH 3.0-3.2, τοποθέτηση στους 85°C σε βαζάκια (100 mL) και απευθείας κάλυψη με μεταλλικά καπάκια, και αναστροφή του βάζου για 5 min (Baker. 2011).

Η παρασκευή των γλυκών του κουταλιού είναι παρόμοια με εκείνη των μαρμελάδων με τη διαφορά ότι στη συγκεκριμένη περίπτωση χρησιμοποιούνται καρποί ή φρούτα, από τα οποία έχουν αφαιρεθεί ή όχι οι πυρήνες τους αλλά και από άλλα τμήματα φυτών ακόμα και από χυμούς. Επίσης δεν χρησιμοποιείται πηκτίνη κατά την παρασκευή τους. Εκτός από τη χώρα μας τα γλυκά του κουταλιού είναι διαδεδομένα και στη δυτική Ευρώπη, όπως είναι για παράδειγμα η Ρωσία και η Ουκρανία αλλά με διαφορετική ορολογία (varenye). Επίσης τα συναντάμε και σε χώρες της Ασίας (murabba) (Woman's Institute of Domestic Arts and Sciences, 2006).

Κεφάλαιο 2ο

Χημεία και βιοχημεία φαινολικών ενώσεων

2.1. Ορισμός φαινολικών ενώσεων

Οι πολικές φαινόλες αποτελούν μία τάξη ενώσεων με κοινό δομικό χαρακτηριστικό τη δομή τους, καθώς μία ή περισσότερες ομάδες υδροξυλίου είναι συνδεδεμένες απευθείας με αρωματικό δακτύλιο (Vermerris, 2006). Οι πολικές φαινολικές ενώσεις είναι δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών που απαντώνται μεταξύ άλλων στα φρούτα και λαχανικά. Λόγω των διαφορετικών βιολογικών τους δράσεων η κατανάλωση τους έχει

σημαντικές επιδράσεις στην υγεία (Groteworld, 2006). Περισσότερα από 8000 είδη φαινολικών ενώσεων έχουν ταυτοποιηθεί ήδη, γεγονός που οδηγεί στην ανάγκη ταξινόμησης τους (Kabera *et al*, 2014).

2.2. Ταξινόμηση φαινολικών ενώσεων

Οι πολικές φαινολικές ενώσεις καθώς αποτελούνται από έναν μεγάλο αριθμό ετερογενών δομών που κυμαίνονται από απλά μόρια μέχρι πολύ πολυμερισμένες ενώσεις μπορούν να ταξινομηθούν με πληθώρα τρόπων. Οι τρόποι ταξινόμησης των φαινολικών ενώσεων γίνεται με βάση τη χημική δομή τους, τη βιολογική τους λειτουργία καθώς και την πηγή της προέλευσης τους (Reis Giada, 2013).

Αρχικά με κριτήριο την δομή τους η ταξινόμησή τους γίνεται με τέσσερις τρόπους.

1. Φλαβονοειδή ή μη (flavonoid group or non-flavonoid group)
2. Αριθμός αρωματικών δακτυλίων
3. Άτομα άνθρακα
4. Βασική χημική δομή (απλές φαινόλες, βενζοκινόνες, φαινολικά οξέα, ακετοφαινόλες, φαινυλοξικά οξέα, φαινολικές αλδεΰδες, φαινυλοπροπανοειδή, κιναμμωνικά οξέα, υδροξυκινναμικά οξέα, ναφθοκινόνες, στιβλένια, κουμαρίνες-ισοκουμαρίνες, χρωμόνες, ξανθόνες, ανθρακινόνες, φλαβονοειδή, λιγνάνες, ταννίνες, κατεχόλη μελανίνη).

Αρχικά η ταξινόμησή τους περιγράφεται με βάση τον αριθμό των αρωματικών δακτυλίων, τον σκελετό του άνθρακα και τη βασική χημική δομή (Harborne, 1980) (Πίνακας 5.).

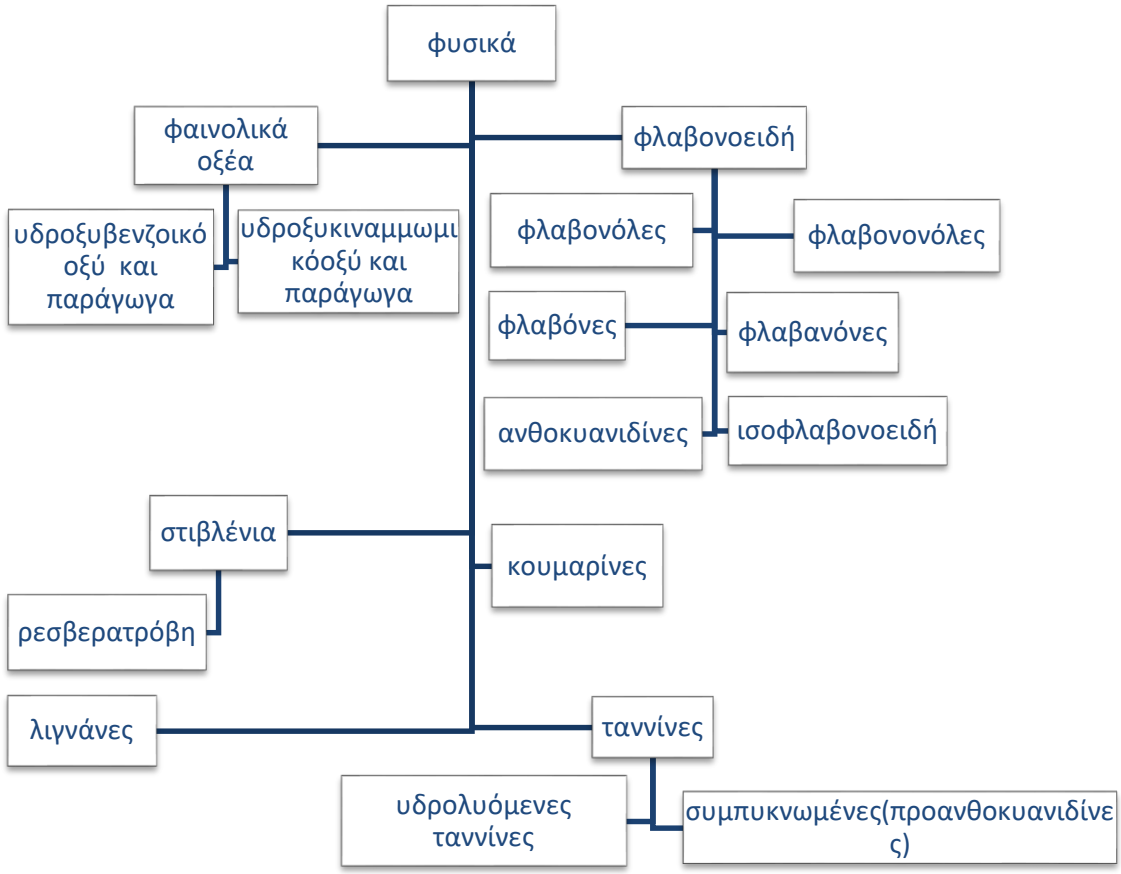
Πίνακας 5. Ταξινόμηση φαινολικών ενώσεων με βάση τον αριθμό των αρωματικών δακτυλίων (Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag. 1980: 329–395)

Πλήθος αρωματικών δακτυλίων	Σκελετός άνθρακα	Όνομα ομάδας
1	C_6	Απλές Φαινόλες, Βενζοκινόνες
	C_6-C_1	Φαινολικά οξέα, Φαινολικές αλδεΰδες
	C_6-C_2	Ακετοφαινόνες, Φαινυλακετικό οξύ
	C_6-C_3	Υδροξυκιναμικό οξύ, Κουμαρίνες, Φαινυλοπροπανοειδή, Χρωμόνες
	C_6-C_4	Ναφθακινόνες
2	C_6-C_1-C_6	Ξανθόνες
	C_6-C_2-C_6	Στιβλένια, Ανθρακινόνες

	C_6-C_3-C_6	Φλαβονόλες, Ισοφλαβονόλες, Νεοφλαβονόνες
	$(C_6$-$C_3)_2$	Λιγνάνες, Νεολιγνάνες
≥3	$(C_6$-$C_3)_n$	Λιγνίνες
	$(C_6$-C_3-$C_6)_2$	Βιφλαβονοειδή
	$(C_6$-C_3-$C_6)_n$	Προανθοκεακίνες

Άλλοι τρόποι ταξινόμησης των πολικών φαινολικών ενώσεων πραγματοποιείται με κριτήριο τη διαλυτότητα και τον αριθμό των υδροξυλομάδων. Στον Πίνακα 6. φαίνεται η ταξινόμηση βάσει δομής.

Πίνακας 6. Ταξινόμηση φυσικών φαινολικών ενώσεων (Journal of Functional Foods 2015:820- 897).



Φλαβονοειδή

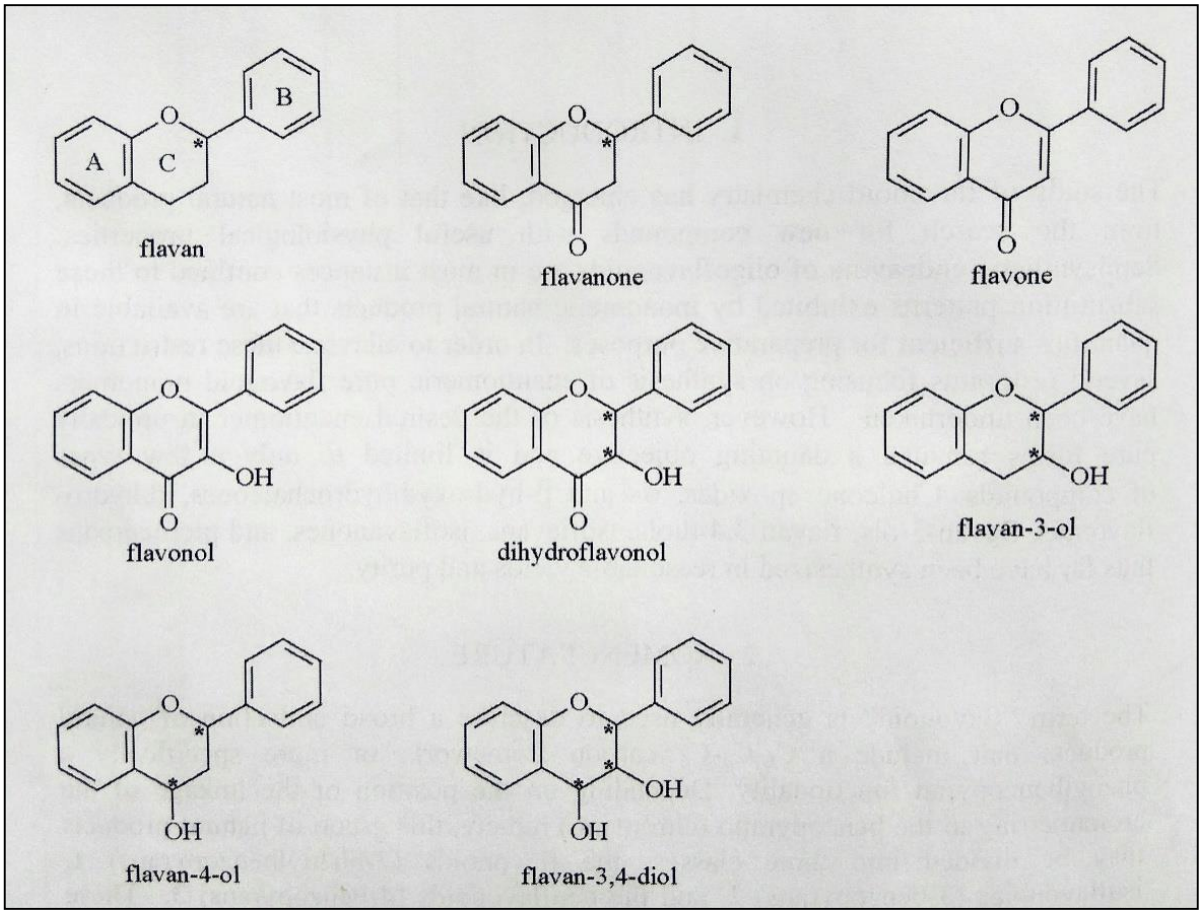
Τα φλαβονοειδή αποτελούν την πιο διαδεδομένη ομάδα φαινολικών ενώσεων του φυτικού βασιλείου, αντιπροσωπεύοντας περίπου τα 2/3 των φαινολικών ενώσεων που

προσλαμβάνουμε από τη διατροφή. Μέχρι σήμερα έχουν ήδη ταυτοποιηθεί πάνω από 6000 είδη φλαβονοειδών (Harborne & Williams, 2000). Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν τα εξής: φλαβόνες, φλαβονόλες, ισοφλαβονοειδή, φλαβανόλες, φλαβανόνες, φλαβάνες και οι ανθοκυανιδίνες.

a. Φλαβανόλες: βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στην σκόνη κακάο, στη σοκολάτα αλλά και στα σταφύλια και στο τσάι. Από τις φλαβανόλες, οι κατεχίνες είναι εκείνες που έχουν φανεί να απορροφώνται καλύτερα πιθανόν λόγω της ικανότητάς τους να μην σχηματίζουν σύμπλοκα με τα σάκχαρα.
b. Φλαβονόλες: από αυτή την κατηγορία η κουαρκετίνη, η καμπφερόλη και η μυρικετίνη απαντώνται πιο συχνά στα τρόφιμα.
c. Ισοφλαβόνες: η σόγια αποτελεί την πιο συχνή πηγή ισοφλαβονολών.
d. Φλαβόνες: απαντώνται στο σέλερι, δεντρολίβανο και μαϊντανό με τη μορφή της λουτεολίνης.
e. Φλαβανόνες: η κύρια πηγή φλαβανονών αποτελούν τα εσπεριδοειδή με την εσπερετίνη να απαντάται κυρίως στα πορτοκάλια, στο λεμόνι και στο λαιμ.
f. Ανθοκυανιδίνες: βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις σε φρούτα τύπου berries όπως είναι για παράδειγμα τα blueberries, cranberries, raspberries, strawberries αλλά και στα σταφύλια, δαμάσκηνα και στο κόκκινο κρασί (Bonetti *et al.,* 2017)

Παρακάτω παραθέτονται οι βασικές δομές των φλαβονοειδών (εικόνα 2).

Εικόνα 1. Βασικές δομές Φλαβονοειδών (The Science of Flavonoids, Erich Groteworld).



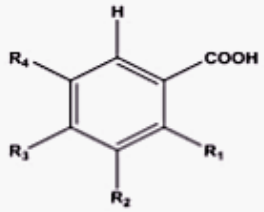
Φαινολικά οξέα

Τα φαινολικά οξέα υπάρχουν στη φύση ως εστέρες ή γλυκοζίτες. Οι δύο βασικές υποκατηγορίες των φαινολικών οξέων είναι τα υδροξυ-βενζοϊκά οξέα και τα υδρόξυ-κινναμμωμικά οξέα. Χαρακτηριστικοί εκπρόσωποι της πρώτης κατηγορίας αποτελούν το σαλικυλικό οξύ, p-υδρόξυ-βενζοϊκό οξύ, γαλλικό οξύ, βανιλικό οξύ, συριγγικό οξύ, ελλαγικό οξύ. Στα υδροξυκιναμμωμικά οξέα ανήκει το χλωρογενικό οξύ, κινναμωμικό οξύ, p-κουμαρικό οξύ, καφεϊκό οξύ, φερουλικό οξύ, σιναπικό οξύ (Goleniowski *et al.,* 2013).

Πολλά φαινολικά οξέα απαντώνται στα φυτά και στα προιόντα φυτικής προέλευσης όπως είναι για παράδειγμα τα φρούτα, τα λαχανικά και τα δημητριακά. Λόγω της ευρείας πηγής τους η κατανάλωσή τους γίνεται σε καθημερινή βάση και εκτιμάται ότι αγγίζει τα 25mg-1g/ ημέρα, τιμή που εξαρτάται από την καθημερινή διατροφή. Μάλιστα αποτελούν το 1/3 της πηγής των συνολικών φαινολικών ενώσεων.

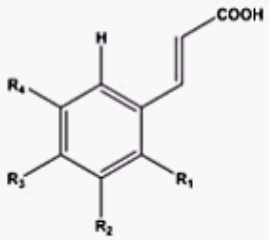
Εικόνα 2. Δομή φαινολικών οξέων (Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., 16(2), 2012, 28:130-134)

Hydroxybenzoic Acids



Position	R_1	R_2	R_3	R_4
Benzoic acid	H	H	H	H
Gallic acid	H	OH	OH	OH
Vaillinic acid	H	OCH_3	OH	H
Salicylic acid	OH	H	H	H

Hydroxycinnamic Acids



Position	R_1	R_2	R_3	R_4
Cinnamic acid	H	H	H	H
Ferulic acid	H	OCH_3	OH	H
Sinapic acid	H	OCH_3	OH	OCH_3
Caffeic acid	H	OH	OH	H

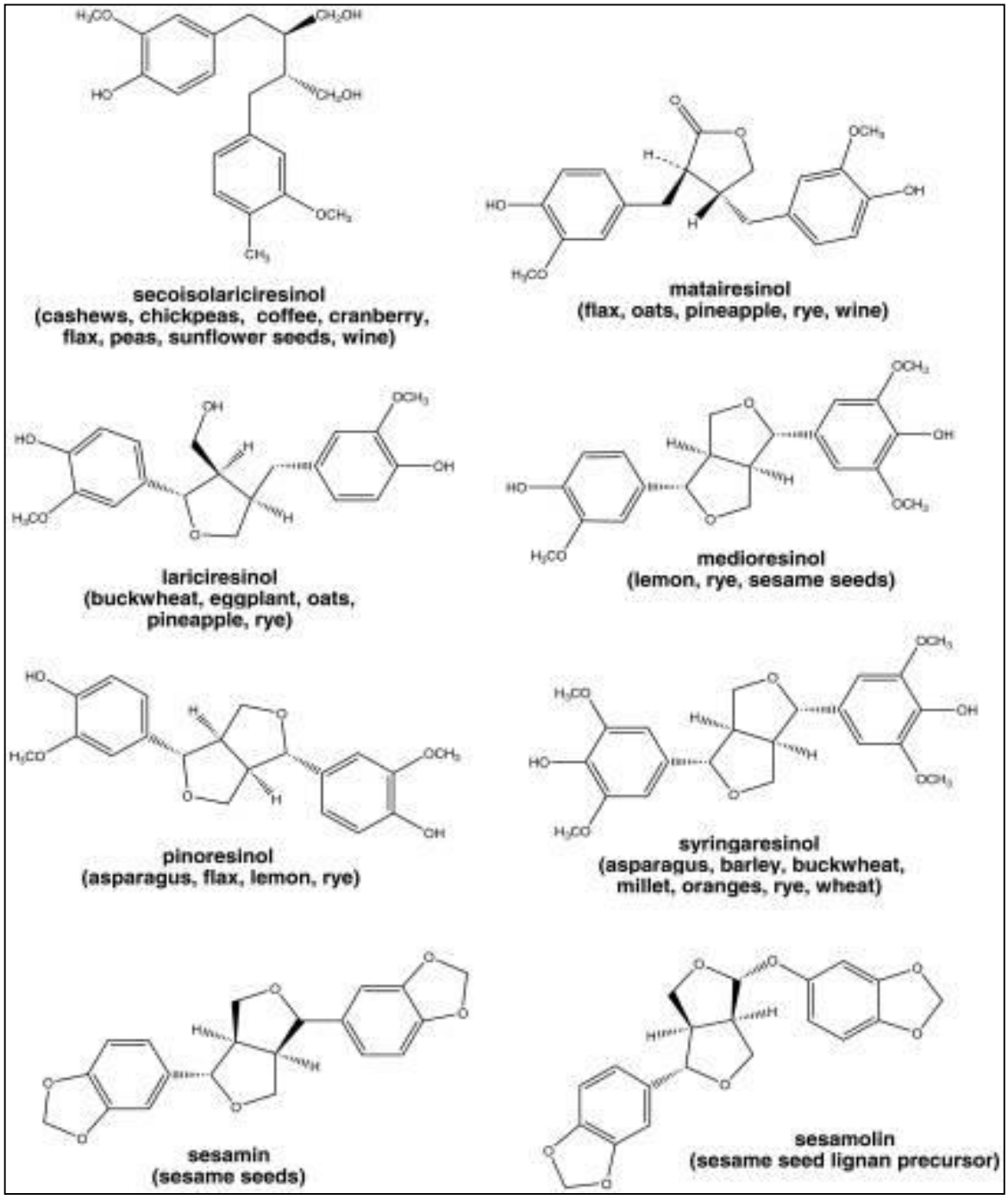
Στιλβένια

Το κυρίαρχο στιλβένιο που προσλαμβάνεται μέσω της διατροφής είναι η ρεσβερατρόλη, η οποία εμφανίζεται και ως 3-O-β-D-γλυκοζίτης της trans-ρεσβερατρόλης. Καλή πηγή στιλβένης αποτελεί το κόκκινο κρασί (Rio *et al*., 2013).

Λιγνάνες

Οι λιγνάνες που προσλαμβάνουμε συνήθως μέσω της διατροφής είναι οι εξής: πιρορεσινόλη, λαρισιρεζινόλη, σεκοϊσολαρικιρεσινόλη, ματαιρεσινόλη, σισαμίνη. Προσλαμβάνονται μέσω σπόρων όπως ο λιναρόσπορος (σεκοϊσολαρικιρεσινόλη) αλλά και μέσω του σουσουμιού (σισαμίνη). Επίσης βρίσκονται στα δημητριακά ολικής αλέσεως, σε όσπρια, κρασιά και ακόμα σε μερικά φρούτα και λαχανικά (Mazur, 1998).

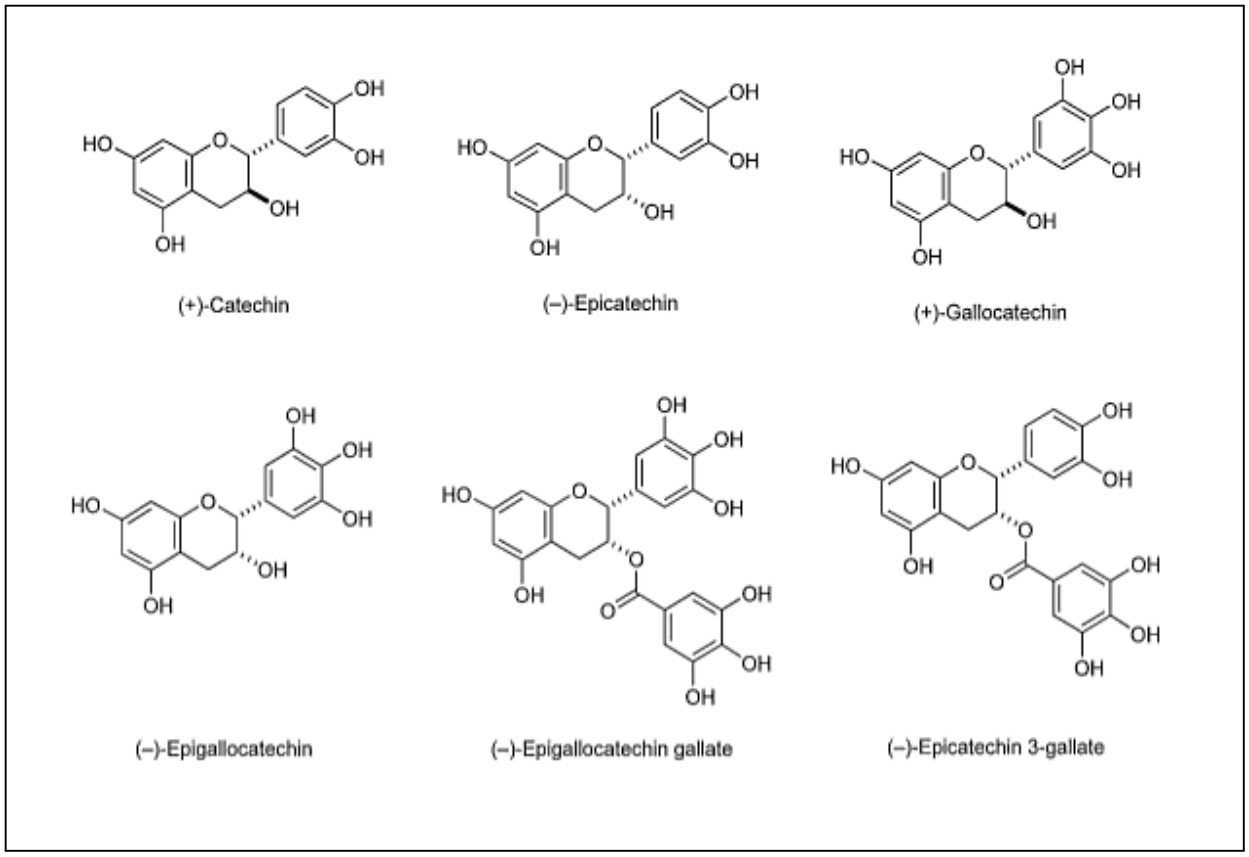
Εικόνα 3. Δομή και πηγές λιγνανών (Baillière's Clin Endocrinol Metab 1998; 12: 729–742).



Ταννίνες

Οι ταννίνες ταξινομούνται σε υδρολυόμενες και συμπυκνωμένες ανάλογα με την αντίστασή τους στην υδρόλυση παρουσία θερμού νερού ή του ενζύμου ταννάση. (Bianchi *et al.*, 2016).

Εικόνα 4. Δομή δομικών μονάδων ταννινών (Bio-protocol 2016 6(20): e1975).



2.3. Γενικά για την παρουσία φαινολικών ενώσεων στα τρόφιμα

Μερικά είδη φαινολικών συστατικών είναι πιο διαδεδομένα συγκριτικά με άλλα, τα οποία βρίσκονται σε συγκεκριμένα είδη φυτικής προέλευσης. Παράλληλα η παραγωγική διαδικασία και οι συνθήκες αποθήκευσης των τροφίμων επιδρούν στα είδη και τις ποσότητες των προσδιοριζόμενων φαινολικών συστατικών. Για παράδειγμα στα μούρα έχει δειχθεί ότι η κερκετίνη οξειδώνεται πιο εύκολα συγκριτικά με την μυρισετίνη και την καμπφερόλη (Balasundram *et al.,* 2006). Επιπρόσθετα, τα φαινολικά συστατικά επιδρούν στην ποιότητα των τροφίμων επηρεάζοντας τη γεύση και το άρωμά τους.

Συγχρόνως αποτελούν πηγή αντιοξειδωτικών μέσω της διατροφής ενώ παράλληλα εκδηλώνουν αντιμικροβιακές, αντιαλλεργικές, αντιφλεγμονώδες, αντιθρομβωτικές δράσεις κ.ά. Τις φαινολικές ενώσεις τις προσλαμβάνουμε μέσω ευρείας ποικιλίας φυτικών διαιτητικών πηγών. Το τμήμα Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής (USDA) διαθέτει βάση δεδομένων για τα φλαβονοειδή, όπως αυτή αναθεωρήθηκε τον Μάρτιο του 2018 (USDA, 2018), που περιλαμβάνει 506 είδη τροφίμων και 26 είδη φλαβονοειδών. Όσον αφορά στις ισοβλαβόνες, ο τελευταίος πίνακας έχει αναθεωρηθεί τον Νοέμβριο του 2015, ο οποίος και συμπεριλαμβάνει 560 είδη τροφίμων, ενώ εκείνος των

προανθοκυανιδίνων 285 είδη τροφίμων και αναθεωρήθηκε το Μάρτιο του 2015 (USDA, 2015).

2.4. Φαινολικό περιεχόμενο τροφίμων

Δημητριακά

Στα δημητριακά απαντώνται φαινολικά οξέα και φλαβονοειδή, τόσο σε ελεύθερη μορφή όσο και συζευγμένα με άλλα μόρια. Η μεγαλύτερη ποσότητα φαινολικών ενώσεων βρίσκεται στον φλοιό και στον καρπό των σιτηρών. Επομένως τα ακατέργαστα δημητριακά και τα προϊόντα ολικής άλεσης περιέχουν μεγαλύτερες ποσότητες φαινολικών ενώσεων συγκριτικά με τα εξευγενισμένα προϊόντα. Ωστόσο, κάποια ποσότητα αυτών χάνεται κατά την επεξεργασία των προϊόντων ολικής αλέσεως (Benincasa *et al.,* 2015).

Όσπρια

Οι πιο σημαντικές ομάδες φαινολικών ενώσεων που συναντάμε στα όσπρια είναι τα φλαβονοειδή, οι ταννίνες και τα φαινολικά οξέα (Kalogeropoulos *et al*., 2012). Εξαιρετικό ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός ότι η περιεκτικότητα των φαινολικών συστατικών στα όσπρια εξαρτάται από τον γενότυπο του κάθε οσπρίου καθώς και από τον βαθμό της ωρίμανσης και τις περιβαλλοντικές συνθήκες (Magalhães *et al.,* 2015). Επιπλέον η διαδικασία του μαγειρέματος (βρασμού) οδηγεί στην μείωση της περιεκτικότητας των φαινολικών συστατικών στα όσπρια, σε σύγκριση με την περιεκτικότητά τους πριν την επεξεργασία (Kalogeropoulos *et al*., 2010).

Λαχανικά

Τα φρούτα και τα λαχανικά έχουν σημαντικά οφέλη για την υγεία, γεγονός που οφείλεται στην παρουσία βιταμινών, προβιταμινών αλλά και στη μεγάλη ποικιλία φαινολικών συστατικών (Ismail *et al*., 2004). Τα φαινολικά συστατικά στα λαχανικά βρίσκονται τόσο σε ελεύθερη όσο και σε συζευγμένη μορφή. (Boivin *et al.,* 2008).

Φρούτα

Τα φρούτα αποτελούν εξαιρετική πηγή φαινολικών συστατικών, κυρίως φλαβονοειδών και φαινολικών οξέων. Στα φρούτα συναντάμε ποικιλία φαινολικών συστατικών, κυρίως φλαβονοειδή (Chiou *et al.,* 2014). Τα φαινολικά οξέα βρίσκονται σε συζευγένη μορφή και οι ταννίνες ως πολυμερή. Σε μερικά φρούτα οι φλαβονόλες βρίσκονται στο εξωτερικό περίβλημά τους και κατά την αφαίρεση του φλοιού μειώνεται σημαντικά η ποσότητα των

φλαβονολών που προσλαμβάνουμε (Andersen & Markham, 2007). Σημαντικές ποσότητες φαινολικών ενώσεων συναντάμε και στα αποξηραμένα φρούτα, όπως για παράδειγμα στην Κορινθιακή σταφίδα (Chiou *et al*., 2007; Panagopoulou *et al.,* 2018).

Ελαιόλαδο

Στο ελαιόλαδο απαντώνται φλαβανοειδή, λιγνάνες και απλές φαινόλες (Tucka & Hayball, 2002; Boskou *et al.,* 2004)

Καφές/τσάι/ ροφήματα

Ο καφές θεωρείται πολύ πλούσια πηγή φαινολικών ενώσεων, ιδιαίτερα σε χλωρογενικά οξέα (Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

Τσάι

Το τσάι είναι πλούσιο σε κατεχίνες. Η περιεκτικότητα των κατεχινών στα φύλλα του εκάστοτε τσαγιού διαμορφώνεται από τη διαδικασία που υφίστανται πριν την ξήρανση, τις συνθήκες ωρίμανσης και τη γεωγραφική τοποθεσία (Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

Κρασί

Βασικές φαινολικές ενώσεις που συναντάμε στο κρασί είναι η ρεσβερατρόλη, οι κατεχίνες, η κερκετίνη και η ρουτίνη (Gresele *et al.,* 2011; Xanthopoulou *et al.,* 2010, 2014).

Χυμοί φρούτων

Το περιεχόμενο των χυμών φρούτων σε φαινολικά συστατικά ποικίλει ανάλογα με το είδος και την ποικιλία των φρούτων, την αποθήκευση, τις κλιματικές συνθήκες (Mullen *et al.,* 2007).

Μαρμελάδες

Οι μαρμελάδες διαθέτουν πολικά φαινολικά συστατικά, σαφώς μειωμένα όμως συγκριτικά με τα φρέσκα φρούτα λόγω των απωλειών που προκαλούνται κατά τη θερμική επεξεργασία. Ωστόσο η μείωση του φαινολικού περιεχομένου δεν είναι τόσο δραματική (Drogoudi *et al*., 2017).

Πίνακας 7. Μαρμελάδες και περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις.

Μαρμελάδες	***Φλαβονόλες***			***Προκυ-ανιδίνες***	***Κατεχίνες***	
	Qu	K	My	B1-4	C	EC
Βερίκοκο	0.8	0.1	-	C	0.5	0.5

Κεράσι	C	C	-	C	0.2	0.9
Φρούτα του δάσους	-	-	-	-	0.1	1.6
Ροδάκινο	0.4	0.3	C	-	C	-
Δαμάσκηνο	0.7	C	-	C	C	C
Ρασμπερι	3.3 (3.0-3.7)	0.5 (0.4-0.5)	-	C	C	C
Φράουλα	0.5 (0.4-0.6)	0.3 (0.3-0.4)	-	C	0.9	0

C= δεν έχουν χαρακτηριστεί, Qu=κουερκετίνη, K=καμπφερόλη, My =μυρισετίνη, B1-4= Β-προκυανιδίνες, C=κατεχίνη, EC= επικατεχίνη

Κακάο

Το κακάο περιέχει κυρίως επικατεχίνη, κατεχίνη, ολιγομερή της προκυανιδίνης και ακολουθούν η αλλοκατεχίνη και η επιγαλλοκατεχίνη, οι προκυανιδίνες, οι ανθοκυανίνες, οι γλυκοζίτες φλαβονών και φλαβονολών (Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

2.5. Οι πολυφαινόλες δρουν ως οφέλη για την υγεία

Η επιστημονική έρευνα έχει αναδείξει το γεγονός ότι η πρόσληψη τροφίμων πλούσιων σε πολικές φαινόλες έχει προστατευτική δράση έναντι της εμφάνισης χρόνιων νοσημάτων, όπως τα καρδιαγγειακά νοσήματα, ο καρκίνος, οι νευροεκφυλιστικές παθήσεις.

Παρ’ ότι οι πολικές φαινόλες έχουν συσχετιστεί ευρέως με αντιοξειδωτική δράση φαίνεται ότι η βιολογική απόκριση του οργανισμού στην πρόσληψη φαινολών μπορεί επίσης να συσχετισθεί με την απόπτωση καρκινικών κυττάρων, μειωμένη συσσώρευση αιμοπεταλίων, αγγειοδιαστολή, ενδοκυτταρική σηματοδότηση και τη διαμόρφωση ενζυμικών δράσεων.

Καρδιαγγειακές παθήσεις

Η διαιτητική πρόσληψη πολικών φαινολών μέσω των φρούτων, λαχανικών, δημητριακών και άλλων πηγών έχει συσχετιστεί με τη μείωση της δυσλιπιδιαμίας, της αθηροσκλήρωσης, της υπέρτασης, των φλεγμονών που δρουν ως συνεργιστικοί παράγοντες για την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων (Dohadwala & Vita, 2009; Bertelli & Das, 2009; Desch *et al*., 2010; Galleano *et al*., 2009).

Καρκίνος

Αναφορικά με τη διαιτητική πρόσληψη πολικών φαινολών και την εμφάνιση καρκίνου, τα αποτελέσματα των μελετών είναι διφορούμενα (Grosso *et al*., 2016), με κάποιες μελέτες

να αναδεικνύουν την προστατευτική δράση τους (Sun *et al*., 2006) ενώ άλλες να μην έχουν τόσο ισχυρά αποτελέσματα (Malerba *et al*., 2013). Μάλιστα, η κατανάλωση πολυφαινολών σε συνδυασμό με τη χημειοθεραπεία φαίνεται να κερδίζει έδαφος στις διάφορες μελέτες λόγω των θετικών αποτελεσμάτων στην θεραπεία του καρκίνου.

Νευρολογικές διαταραχές

Οι φαινολικές ενώσεις δρουν ως προστατευτικοί παράγοντες μέσω της ικανότητάς τους να μειώνουν την εμφάνιση νευροφλεγμονών και λειτουργούν αποτελεσματικά ως προς την προστασία των νευρώνων από την εμφάνιση οξειδωτικού στρες (Castelli *et al.,* 2018). Με αυτό τον τρόπο προωθούν τη μνήμη, τη γνωστική λειτουργία και τη μάθηση (Aguilera *et al*., 2015). Διάφορες μελέτες αναδεικνύουν την δράση τους, συσχετίζοντας την κατανάλωση φαινολικών ενώσεων με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου Alzheimer, της περιστασιακής άνοιας καθώς και την βραδύτερη πτώση της γνωστικής λειτουργίας (Francis *et al.* 2006; Mateos *et al.* 2014; Lindsay *et al.* 2002; Devore *et al*. 2012; Krikorian *et al.* 2010; Vassallo & Scerri, 2013; Iriti & Varoni, 2015).

Διαβήτης

Οι φαινολικές ενώσεις δρουν θετικά στη ρύθμιση του διαβήτη και στην πρόληψη της εμφάνισής του (Dam et al., 2013, Liu et al., 2014) μέσω του αυξημένου μεταβολισμού της γλυκόζης ρυθμίζοντας την αγγειακή λειτουργία και μειώνοντας την αντίσταση την ινσουλίνη (Cao *et al.*, 2018). Όπως είναι αναμενόμενο υπάρχουν μελέτες με αντικρουόμενα αποτελέσματα, με κάποιες να μην αποδίδουν κάποιο θετικό όφελος στην κατανάλωση πολυφαινολών (Song *et al.,* 2005). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον αποτελούν οι ανθοκυανιδίνες, οι οποίες έχουν πολλαπλές αντιδιαβητικές δράσεις μέσω της μείωσης της γλυκόζης στο αίμα, της αύξησης της έκκρισης ινσουλίνης αλλά και της μείωσης της παραγωγής των ελευθέρων ριζών (Aguilera *et al.,* 2015).

2.6. Βιοπροσβασιμότητα φαινολικών ενώσεων

Η αποτελεσματικότητα των φαινολικών ενώσεων ως προς την εκδήλωση βιολογικών δράσεων εξαρτάται από τη βιοπροσβασιμότητα και τη βιοδιαθεσιμότητά τους (Fernández-García *et al.,* 2009). Ως βιοδιαθεσιμότητα ορίζεται το ποσοστό του υπό μελέτη συστατικού που υποβαλλόμενο σε διαδικασία πέψης απορροφάται και μεταβολίζεται μέσω των φυσιολογικών οδών. Με τον όρο βιοπροσβασιμότητα ορίζουμε το ποσοστό του υπό μελέτη συστατικού που λαμβάνεται από τη διατροφή και διατίθεται προς απορρόφηση στο έντερο. Στην περίπτωση των φαινολικών ενώσεων το ποσοστό

που τελικά είναι διαθέσιμο εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως είναι για παράδειγμα η δομή του τροφίμου, η θερμοκρασία, το pH. Ακόμα, σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τόσο τη βιοδιαθεσιμότητα όσο και τη βιοπροσβασιμότητα είναι η αλληλεπίδραση του συστατικού με άλλα συστατικά τροφίμων αλλά και η προσκόλληση σε συγκεκριμένα οργανίδια (Hedren *et al*., 2002).

2.7. Παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοπροσβασιμότητα και τη βιοδιαθεσιμότητα

Οι φαινολικές ενώσεις εμφανίζονται σε συνδυασμό με τις φυτικές ίνες σε πληθώρα τροφίμων. Η παρουσία φυτικών ινών μπορεί να επηρεάσει την απελευθέρωση των φαινολικών ενώσεων από το τρόφιμο καθώς αυτές μπορεί να δεσμεύονται στις δομές πολυσακχαριτών μειώνοντας έτσι τη βιοπροσβασιμότητά τους (Bohn, 2014; Palafox-Carlos *et al.,* 2011).

Οι πολικές φαινόλες έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν τις πρωτεΐνες, μάλιστα έχει δειχθεί η ύπαρξη διαμοριακών δεσμών ανάμεσα στην αλβουμίνη του ορού και στους μεταβολίτες της κερκετίνης (Velderrain-Rodríguez *et al*., 2014).

Οι πολικές φαινόλες κατά βάση απορροφώνται στο λεπτό έντερο, παρότι η απορρόφηση στο στόμαχο έχει δειχθεί στην περίπτωση των φαινολικών οξέων. Όσες ωστόσο δεν απορροφηθούν σε αυτά τα στάδια περνούν στο κόλον, στο οποίο υφίσταται δομικές τροποποιήσεις. Οι γλυκοζίτες μπορούν να υδρολυθούν είτε στο λεπτό είτε στο παχύ έντερο. Μετά την απορρόφηση οι πολικές φαινόλες υποβάλλονται σε επιπλέον δομικές τροποποιήσεις στο λεπτό έντερο και κυρίως στο ήπαρ (Augustin & Gary, 2000; D'Archivio *et al.,* 2010; Palafox-Carlos *et al.,* 2011).

2.8. Το «ταξίδι» των πολυφαινολών

Όλα τα τρόφιμα που καταναλώνουμε μας προσδίδουν θρεπτικά συστατικά, των οποίων η απορρόφηση εξαρτάται από τη βιοπροσβασιμότητα και την βιοδιαθεσιμότητα. Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που καθορίζουν την βιοδιαθεσιμότητα των φαινολικών ενώσεων όπως είναι οι ανατομικές, φυσιολογικές, βιοχημικές διαφορές των καταναλωτών καθώς και τα τρόφιμα που καταναλώνονται ταυτόχρονα.

Σε πρώτη φάση οι πολικές φαινόλες υπόκεινται στη διαδικασία της μάσησης κατά την οποία η τροφή αλέθεται σε μικρά κομμάτια και αναμειγνύεται με το σάλιο. Αυτό περιέχει κατά βάση νερό καθώς και σε μικρότερο ποσοστό ηλεκτρολύτες, πρωτεΐνες, ορμόνες, αντιοξειδωτικά, αντιβακτηριακούς συνδέσμους και ένζυμα για τη διαδικασία της πέψης (α-

αμυλάση). Το στάδιο αυτό της πολτοποίησης της τροφής θεωρείται σημαντικό για τη μετέπειτα βιοδιαθεσιμότητα των φαινολικών ενώσεων. Έπειτα, περνούν στο στομάχι όπου παραμένουν για μισή ως δύο ώρες ανάλογα το είδος της τροφής. Στο στομάχι απελευθερώνονται οξέα που βοηθούν στη διάσπαση των τροφίμων καθώς και στην απελευθέρωση των φαινολικών ενώσεων από το τρόφιμο. Έχει φανεί ότι το οξύ που απελευθερώνεται συμβάλει στην υδρόλυση των πολυφαινολών ή στο μετασχηματισμό τους. Μάλιστα στην περίπτωση των φαινολικών οξέων, όπως και σε χαμηλού μοριακού βάρους πολυφαινόλες, με την παρουσία ενός όξινου περιβάλλοντος γίνονται διαθέσιμα για απορρόφηση στο στομάχι, παρόλο που το στομάχι δεν αποτελεί το βασικότερο σημείο απορρόφησης των φαινολικών ενώσεων κατά την πέψη. Ακολούθως, περνούν στο λεπτό έντερο και συγκεκριμένα το τμήμα του δωδεκαδάχτυλου και της νήστιδας αποτελούν εκείνα στα οποία πραγματοποιείται η μεγαλύτερη απορρόφηση. Σε αυτό το σημείο, το pH μεταβάλλεται σε αλκαλικό λόγω της παρουσίας χολικών αλάτων και παγκρεατικών υγρών. Οι πολυφαινόλες είναι ασταθείς σε αλκαλικό περιβάλλον. Οι γλυκοζίτες πολυφαινολών απορροφώνται με δύο μηχανισμούς: είτε με παθητική διάχυση είτε μέσω μεταφορέων σακχάρων. Μετά την απορρόφηση υφίστανται μεταβολισμό μέσα στο εντεροκύτταρο ή μπαίνουν στην κυκλοφορία. Οι πολυφαινόλες συγκαταλλέγονται στα μη θρεπτικά συστατικά ή ξενοβιοτικά. Για αυτό το λόγο υφίστανται εκτενή μεταβολισμό με σκοπό την απέκκρισή τους. Όσες πολικές φαινόλες δεν απορροφηθούν μεταφέρονται στο παχύ έντερο. Στο στάδιο αυτό υφίστανται εκτενή μεταβολισμό από τη μικροβιακή και μετατρέπονται σε σύνθετο μίγμα φαινολικών οξέων με δράση των εντερικών βακτηριακών ενζύμων, τα οποία καταλύουν την αποσύζευξη, την αφυδροξυλίωση και διάσπαση του δακτυλίου. Παράλληλα ρυθμίζουν τη μικροβιακή ποικιλομορφία λόγω της αντιμικροβιακής τους δράσης και βελτιώνουν το μικροβιακό προφίλ του εντέρου (Velderrain-Rodriquez *et al.,* 2014).

2.9. Μελέτες βιοπροσβασιμότητας *in vitro* για μαρμελάδες

Τα τελευταία χρόνια οι μελέτες για τη βιοδιαθεσιμότητα/βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών ενώσεων έχουν αυξηθεί, θέλοντας να αναδείξουν τα οφέλη τους μέσω της απορρόφησης από το ανθρώπινο σώμα μετά την κατανάλωσή τους. Ωστόσο, οι μελέτες για την βιοδιαθεσιμότητα και βιοπροσβασιμότητα των μαρμελάδων και των γλυκών του κουταλιού είναι περιορισμένες. Οι Tomas *et al.* αξιολόγησαν την βιοπροσβασιμότητα φαινολικών ενώσεων και ανθοκυακινών μαρμελάδας από μαύρα μούρα. Η παρασκευή μαρμελάδας από το φρέσκο φρούτο οδήγησε σε δραματική μείωση στο ολικό φαινολικό

περιεχόμενο στις ολικές φλαβονόλες και τις ανθοκυανίνες Ειδικότερα, το ολικό φαινολικό περιεχόμενο του φρούτου ήταν 15.8 ± 0.1 g GAE (gallic acid equivalents) / kg DW (ξηρού βάρους) ενώ της μαρμελάδας μόλις 1.93 ± 0.04 g GAE, δηλαδή σημειώθηκε μείωση της τάξης του 88%. Ανάλογα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στις ολικές φλαβονόλες, με μείωση 89% και στις ανθοκυανίνες 97%. Σε μοντέλο γαστρεντερικής πέψης η βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών συστατικών μαρμελάδων ήταν μεγαλύτερη από εκείνη του φρέσκου φρούτου τόσο ως προς την αντιοξειδωτική ικανότητα (37% έναντι 17%) όσο και για τις ολικές φαινόλες (16% έναντι 12%) και τις ανθοκυανίνες (12% έναντι 1%).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μιας άλλης μελέτης, το ολικό φαινολικό περιεχόμενο για φρέσκα καρότα ήταν 537 ± 57 mg GAE/100 g fw (βάρος φρέσκου φρούτου) ενώ για τη μαρμελάδα καρότο είχε μειωθεί κατά περίπου 90%. Έπειτα από την *in vitro* πέψη της μαρμελάδας παρατηρήθηκε μείωση στις ολικές φαινόλες (51.7-68.2%). Συγκεκριμένα, το ποσοστό των βιοπροσβάσιμων φαινολικών ενώσεων ήταν 7.2-12.6%, των φαινολικών οξέων 4.7-31.5% και της αντιοξειδωτικής ικανότητας 1.4-8.1% (Kamiloglu *et al.,* 2015).

Στην περίπτωση εμπλουτισμένου ψωμιού με καφέ η αντιοξειδωτική ικανότητα κατά τη μελέτη βιοπροσβασιμότητας βρέθηκε αρκετά αυξημένη από 15.2-21.7%, ενώ η βιοδιαθεσιμότητα ήταν αμελητέα. Η βιοπροσβασιμότητα των φαινολικών ενώσεων φάνηκε να είναι αυξημένη, ειδικά σε εκείνα τα ψωμιά που ήταν εμπλουτισμένα με 5% με κόκκους καφέ. Το ψωμί που ήταν εμπλουτισμένο με 1%-5% φάνηκε να είναι εκείνο που είχε τον μεγαλύτερο δείκτη βιοδιαθεσιμότητας φαινολικών ενώσεων (Świeca *et al.,* 2017).

Κεφάλαιο 3ο

Πολικό Φαινολικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση μαρμελάδων/γλυκών κουταλιού

3.1. Πολικό φαινολικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική ικανότητα *in vitro* των μαρμελάδων και των γλυκών του κουταλιού

Η θετική επίδραση των αντιοξειδωτικών στην υγεία των καταναλωτών και στη δημόσια υγεία γενικότερα αποτελεί αντικείμενο έντονου ερευνητικού ενδιαφέροντος τις τελευταίες δεκαετίες με ιδιαίτερα ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Η υψηλή περιεκτικότητα των φρούτων και λαχανικών σε πολικά φαινολικά συστατικά έχει συνδεθεί άμεσα με την αντιοξειδωτική δράση τους. Ως αποτέλεσμα τα προϊόντα που παρασκευάζονται με βάση

τα φρούτα περιλαμβάνουν κάποιο ποσοστό φαινολικών ενώσεων των αρχικών φρούτων από τα οποία παράγονται (Rosa *et al.,* 2015). Μερικά παραδείγματα προϊόντων φρούτων είναι οι μαρμελάδες και τα γλυκά του κουταλιού, με τα τελευταία να είναι ιδιαίτερα διαδεδομένα στη χώρα μας. Όπως είναι αναμενόμενο η θερμική επεξεργασία που υφίσταται το αρχικό προϊόν για να καταλήξει στην αγορά ως μαρμελάδα ή γλυκό του κουταλιού επιδρά στο φαινολικό περιεχόμενο και την αντιοξειδωτική δράση. Εκείνο βέβαια που επηρεάζεται περισσότερο είναι το φαινολικό περιεχόμενο των τελικών προϊόντων και όχι τόσο η αντιοξειδωτική δράση (Garcia-Viguera *et al*., 1994; Da Silva Pinto *et al.,* 2007; Plessi *et al.,* 2007; Howard *et al.,* 2010; Rababah *et al.,* 2012; Patras *et al.,* 2009; Tamer, 2011; Istrati *et al.,* 2013).

Έπειτα από μία εκτενή αναζήτηση για το φαινολικό περιεχόμενο των μαρμελάδων καθώς και την αντιοξειδωτική τους δράση, στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα σχετικά με το πολικό φαινολικό περιεχόμενο μαρμελάδων. Πιο συγκεκριμένα ο Πίνακας 8. περιλαμβάνει τα είδη των μαρμελάδων που έχουν διερευνηθεί σε κάθε μελέτη, αντικατοπτρίζει το φαινολικό περιεχόμενο σε μερικές από αυτές. Στην υποβάθμιση των πολικών φαινολών κατά την παρασκευή μαρμελάδων επιδρούν μεταξύ άλλων η θερμική επεξεργασία αλλά και οι συνθήκες αποθήκευσης, όπως η θερμοκρασία αποθήκευσης και η χρονική διάρκεια αυτής. Ωστόσο, δεν υπάρχει κάτι αντίστοιχο για τα γλυκά του κουταλιού.

Πίνακας 8. Φαινολικό περιεχόμενο Μαρμελάδων

Προϊόν	*Μονάδες / συστατικό*	*Πολικές φαινόλες*	*Συμπέρασμα*	*Αναφορές*
Μαρμελάδα φράουλα 1	mg/100 g sample FW	136±3	Οι μαρμελάδες αποτελούν καλή πηγή αντιοξειδωτικών.	***Da Silvia et al., 2007***
Μαρμελάδα φράουλα 2		58±1		
Μαρμελάδα φράουλα 3		73±1		
Μαρμελάδα φράουλα 4		125±5		
Μαρμελάδα φράουλα 5		115±1		
Μαρμελάδα φραγκόσυκο	mg GAE/100 g	167.04 ± 7.39	Τα προϊόντα αποτελούν μία καλή πηγή φαινολικών ενώσεων, με οφέλη για την υγεία.	***Rosa et al., 2015***
Μαρμελάδα μύρτιλο		206.33 ± 36.06		
Μαρμελάδα πορτοκάλι		155.67 ± 48.25		
Μαρμελάδα πορτοκάλι/μανταρίνι		135.78 ± 46.74		
Μαρμελάδα σταφύλι	mg GAE/100g DW	449.2 ± 14.9	Η διαδικασία της ξήρανσης είναι απλή και αυξάνει την ζωή των φρούτων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί επίσης για να αυξήσει την ποιότητα των μαρμελάδων.	***Rababah et al., 2012***
Μαρμελάδα σταφίδας ολόκληρης		281.2 ± 11.9		
Μαρμελάδα σταφίδας εδάφους		274.9 ± 10.2		
Μαρμελάδα μαύρο βατόμουρο		402 ± 0.08	Μικρές διαφορές στα φρέσκα φρούτα και στις μαρμελάδες όσον αφορά το φαινολικό περιεχόμενο.	***Plessi et al., 2007***
Μαρμελάδα βατόμουρο		286 ± 0.049		
Μαρμελάδα Κόκκινης σταφίδας		333 ± 0.068		
Μαύρη σταφίδα		737 ± 0.128		
Μαρμελάδα κυδώνι 1	mg φαινολικών ενώσεων/kg μαρμελάδας	3.86	Το 5-0-καφεουλκουινοκό οξύ και η κουαρσετίνη-3-γαλακτοζιδάση βρίσκονται στις μεγαλύτερες ποσότητες.	***Silva et al., 2000***
Μαρμελάδα κυδώνι 2		6.05		
Μαρμελάδα κυδώνι 3		2.72		
Μαρμελάδα κυδώνι από ολόκληρο φρούτο mg of Phenolic Compound kg-1 of	3-O-καφεοϋλκινικό οξύ	31.4±0.05	Τα παραπροϊόντα κυδωνιού αποτελούν μία καλή πηγή αντιοξειδωτικών.	***Silva et al., 2004,***

Methanolic Extract Dry Matter)	4-O-καφεοϋλκινικό οξύ.	19.3 ±0.22		
	5-O-καφεοϋλκινικό οξύ	72.7± 0.47		
	3,5-δι-καφεοϋλκινικό οξύ	5.4± 0.23		
	ρουτίνη	5.3± 0.3		
	υδροξυμεθυλοφουρφουράλη	836.8± 9.16		
Μαρμελάδα κυδώνι με ολόκληρο φρούτο	3-O-καφεοϋλκινικό οξύ	125.7± 2.33		
	4-O-καφεοϋλκινικό οξύ.	21.4± 1.47		
	5-O-καφεοϋλκινικό οξύ	128.1± 0.71		
	3,5-δι-καφεοϋλκινικό οξύ	7.5± 0.17		
	ρουτίνη	48.8± 0.32		
	υδροξυμεθυλοφουρφουράλη	632.0± 7.25		
R. canina μαρμελάδα	mg GAE/g of dw	11.9 ± 0.84	Η χρήση του R. Canina και του R. arvensis σε μορφή μαρμελάδας, πουρέ, τσαγιού έχει οφέλη για την υγεία.	***Nađpal et al., 2015***
R. arvensis μαρμελάδα		7.40 ± 0.65		
R. dumalisn μαρμελάδα	Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (mg GAE/g dw)	49.1 ± 4.38	Τα είδη Rosadumalis, R. Dumetorum και R. sempervirens και τα προιόντα τους αντιπροσωπεύουν μια καλή πηγή ασκορβικού οξέος, φαινολικών ενώσεων ειδικά του ελλαγικού οξέος.	***Nađpal et al., 2017***
R. dumetorum μαρμελάδα		14.5 ± 1.22		
R. sempervirens μαρμελάδα		19.5 ± 0.81		
Μαρμελάδα μαύρο μούρο	g GAE (gallic acid equivalents) kg−1 DW	1.93 ± 0.04	Μέσω της προσομοίωσης της εντερικής πέψης φάνηκε ότι τα	***Tomas et al., 2016 In vitro digestion***

Βιοπροσβασιμότητα στη μαρμελάδα μαύρο μούρο	Το φαινολικό περιεχόμενο μετά από τη γαστρική πέψη (g GAE kg−1 FW)	0.6 ± 0.1	αντιοξειδωτικά είχαν μεγαλύτερη βιοπροσβασιμότητα συγκριτικά με εκείνη των φρούτων.	
Μαρμελάδα βατόμουρο	G γαλλικού οξέως/100 g FW (φρέσκο φρούτο).	0.402 ± 0.08	Στις μαύρες σταφίδες και στις μαρμελάδες που παράγονται από αυτές βρέθηκαν τα μεγαλύτερα ποσοστά φαινολικών ενώσεων και ανθοκυανινών.	***Plessi, Bertelli & Albasini, 2007***
Raspberry		0.286 ± 0.049		
Κόκκινη σταφίδα		0.333 ± 0.068		
Μαύρη σταφίδα		0.737 ± 0.128		
Μαρμελάδα βερίκοκο	χλωρογενικό οξύ	6.53 ± 0.95	Βρέθηκε διαφορά στο περιεχόμενο των φαινολικών ενώσεων ανάμεσα στο βερίκοκο και στην κολοκύθα.	***Dragovic-Uzelac et al., 2005***
	καφεϊκό οξύ	3.16 ± 0.75		
	(+) - κατεχίνη	6.67 ± 0.11		
	ρ-κουμαρικό οξύ	3.06 ± 0.01		
	(-) - επικικατίνη	13.70 ± 0.07		
μαρμελάδα τριαντάφυλλο-μέθοδος εκχύλισης	(mg GAE/g dry extract)	38.49 ± 0.03	Τα προιόντα που αναλύθηκαν έπειτα από εκχύλιση είχαν μεγαλύτερα ποσοστά φαινολικών ενώσεων.	***Sagdic et al.,2015***
Μαρμελάδα τριαντάφυλλο απευθείας ανάλυση		21.14 ± 0.03		
Aksu Kırmızısı Raspberry μαρμελάδα	Ασκορβικό οξύ (mg/100 g)	4.69 0.10	Στις μαρμελάδες φάνηκε μείωση της τάξη του 84.19% στην αντιοξειδωτική ικανότητα συγκριτικά με εκείνη των φρούτων.	***Tamer, 2011***
Rubin Raspberry μαρμελάδα		3.88 0.06		
Hollanda Boduru Raspberry μαρμελάδα		6.45 0.09		
Heritage Raspberry μαρμελάδα		5.43 0.12		
Bursa 1 μαρμελάδα μαύρο μούρο		2.76 0.09		
Bursa 2 μαρμελάδα μαύρο μούρο		2.82 0.14		
Chester μαρμελάδα μαύρο μούρο		3.08 0.06		

Μαρμελάδα Μαύρο καρότο με ζάχαρη	Ολικό φαινολικό περιεχόμενο mg GAE/100 g dw	Περίπου 51-58 (το αρχικό φαινολικό περιεχόμενο του φρούτου ήταν 537 ± 57 mg GAE/100 g fw	Η διαδικασία της μετατροπής του φρούτου σε μαρμελάδα οδήγησε σε μείωση του ολικού φαινολικού περιεχομένου κατά 89.2-90.5% Μετά από τη πέψη in vitro παρατηρήθηκαν μικρότερες συγκεντρώσεις φαινολικού περιεχομένου για όλα τα δείγματα (51.7–68.2%)	**Kamiloglu *et al*., 2015**
Μαρμελάδα μαύρο καρότο με γλυκαντικό				

3.2. Επίδραση της επεξεργασίας και της αποθήκευσης των μαρμελάδων/γλυκών κουταλιού στο φαινολικό περιεχόμενο/αντιοξειδωτική ικανότητα

Τα φρούτα έχουν μικρή διάρκεια ζωής αλλά είναι πλούσια σε θρεπτικά συστατικά. Αυτό το γεγονός οδήγησε στην ανάγκη δημιουργίας μαρμελάδων και άλλων παρασκευασμάτων περισσότερο σταθερών στο χρόνο. Παρόλα αυτά η μέθοδος παρασκευής των μαρμελάδων και των γλυκών του κουταλιού καθώς και ο χρόνος αποθήκευσης έχει αντίκτυπο στη σύσταση και στα θρεπτικά συστατικά του προϊόντος. Μελέτες έχουν δείξει μείωση στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο μαρμελάδων καθώς και στην αντιοξειδωτική δράση όσο αυξάνεται ο αριθμός των ημερών της αποθήκευσης των μαρμελάδων, ιδιαίτερα για εκείνες που διατηρούνται σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες (Sicari *et al.,* 2018; Banaś *et al*., 2017; Istrati *et al.,* 2013; Poiana *et al.,* 2012; Leopoldo *et al.,* 2011; Rababah *et al.,* 2011; Howard *et al.,* 2010).

Κεφάλαιο 4ο

Σκοπός

Η βιοδιαθεσιμότητα των πολικών φαινολικών ενώσεων εκφράζει το κλάσμα των προσλαμβανόμενων φαινολικών ενώσεων που φτάνουν στη συστηματική κυκλοφορία και τελικά χρησιμοποιούνται. Υψίστης σημασίας αποτελεί το γεγονός ότι η απελευθέρωση φαινολικών ενώσεων από τα τροφικά σύμπλοκα αποτελεί προϋπόθεση για την μετέπειτα απορρόφηση και βιοδραστικότητά τους. Για αυτό ακριβώς το λόγο κρίνεται απαραίτητη η

ανάλυση της διαδικασίας της πέψης και κατά πόσο αυτή επηρεάζει την απορρόφηση των πολικών φαινολικών ενώσεων.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η αξιολόγηση των διαθέσιμων προς απορρόφηση πολικών φαινολικών συστατικών από ελληνικές μαρμελάδες και γλυκά κουταλιού με χρήση ενός μοντέλου προσομοίωσης της γαστρικής πέψης *in vitro*.

Πειραματικό μέρος

Κεφάλαιο 5

Μεθοδολογία

5.1. Επιλογή δειγμάτων

Για την προσομοίωση γαστρικής πέψης *in vitro* επιλέχθηκαν μαρμελάδες και γλυκά του κουταλιού, τα οποία παρασκευάστηκαν και συσκευάστηκαν στην Ελλάδα. Αναλυτικά η επιλογή και τα είδη μαρμελάδων και γλυκών κουταλιού περιγράφονται παρακάτω (πίνακας 4.1.)

Πίνακας 9. Δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν για την προσομοίωση γαστρικής πέψης in vitro.

Μαρμελάδες	
Μαρμελάδα φράουλα	Σπιτική
	Εμπορίου
	Ζαχαροκάλαμο
Μαρμελάδα ροδάκινο	Σπιτική
	Εμπορίου
	Ζαχαροκάλαμο
Μαρμελάδα ελιά	Εμπορίου 1
	Εμπορίου 2
Μαρμελάδα καρύδι	Οικοτεχνίας
Γλυκά κουταλιού	
Γλυκό κουταλιού ελιά	Εμπορίου 1
	Εμπορίου 2
Καρύδι	Οικοτεχνίας

Εκτός από τις μαρμελάδες και τα γλυκά του κουταλιού απομονωμένα μελετήθηκε και ο συνδυασμός ψωμιού σταρένιου χωρίς κόρα με τα είδη της μαρμελάδας.

Όσον αφορά τις μαρμελάδες που ήταν με προσθήκη ζαχαροκάλαμου ως γλυκαντική ύλη προέρχονταν από έκθεση παραδοσιακών προϊόντων, και πιο συγκεκριμένα η παρασκευή τους πραγματοποιήθηκε σε εργαστήριο ζαχαροπλαστικής στο νομό Ξάνθης μαζί με προιόντα μικρής παραγωγικής κλίμακας. Τα δείγματα του καρυδιού προμηθεύτηκαν από την περιοχή της Θεσσαλίας, και μάλιστα από γυναικείο αγροτικό συνεταιρισμό του νομού Καρδίτσας. Οι βιομηχανικές μαρμελάδες, φράουλα και ροδάκινο, προήλθαν από εμπορικά καταστήματα. Η συγκεκριμένη εταιρία παρασκευάζει τα προιόντα της από φρούτα του λεκανοπεδίου της Αττικής.

Επιπλέον, όσον αφορά στις μαρμελάδες και στα γλυκά του κουταλιού ελιά επιλέχθηκαν δύο εταιρίες, η πρώτη χρησιμοποιεί για την παρασκευή τους μαύρες επιτραπέζιες βιολογικές ελιές καλαμών και η δεύτερη προμηθεύεται τις πρώτες ύλες της από την περιοχή της Φωκίδας. Τα προϊόντα και από τις δύο εταιρίες προμηθεύτηκαν από εμπορικά καταστήματα.

Τέλος, μελετήθηκε και ο συνδυασμός των μαρμελάδων μαζί με το ψωμί. Επιλέχθηκε σταρένιο ψωμί χωρίς κόρα για να αποφευχθούν τυχών συνεργιστικοί παράγοντες που θα οδηγούσαν σε διαφορετικά αποτελέσματα.

5.2. Προετοιμασία πειράματος

Βασιζόμενοι στο συνδυασμό των πρωτοκόλλων που περιέγραψε ο McDougall *et al*. (2005) καθώς και ο Minekus *et al*. (2014) δημιουργήσαμε ένα μοντέλο προσομοίωσης της γαστρικής πέψης *in vitro.* Αρχικά παρασκευάστηκε μια σειρά από διαλύματα αλάτων και έπειτα ακολούθησε διαδικασία για την προσομοίωση της γαστρικής πέψης. Η σύσταση των διαλυμάτων αλάτων φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 10). Αυτά τα διαλύματα αποτέλεσαν τη βάση για την μετέπειτα παρασκευή των διαλυμάτων κατά το στάδιο της μάσησης, της γαστρικής και της εντερικής πέψης. Ο τελικός όγκος των διαλυμάτων ήταν 800 mL. Ζυγίστηκε η ποσότητα του κάθε άλατος ξεχωριστά με ακρίβεια 2 δεκαδικών ψηφίων τοποθετημένα σε ποτήρι ζέσεως και έπειτα με χρήση μαγνητικού αναδευτήρα και την προσθήκη δις απεσταγμένου νερού HPLC έγινε διάλυση των αλάτων. Παρασκευάστηκαν τρία διαλύματα, ένα για κάθε μία από τις φάσεις πέψης: τα διαλύματα

αλάτων SSF, SGF και SIF. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την παρασκευή αυτών των διαλυμάτων ήταν η εξής:

1) Μεταφορά κατάλληλης ποσότητας των διαλυμάτων αλάτων σύμφωνα με τον πίνακα (πίνακας 3.1.) σε τρία ποτήρια ζέσεως του 1L, ένα για κάθε διάλυμα πέψης και αραίωση των διαλυμάτων αλάτων με νερό HPLC μέχρι τελικού όγκου 800 mL.

2) Έπειτα ρύθμιση του pH σύμφωνα με τον πίνακα 10, ανάλογα με το είδος του διαλύματος χρησιμοποιώντας διαλύματα HCl 6M καθώς και NaOH 5M.

3) Φύλαξη των διαλυμάτων στην κατάψυξη στους -20 ^{0}C.

Αντιδραστήρια

- KCl (s), (CHEMLAB CL00.1133.1000)
- KH_2PO_4 (s), (AnalaR)
- $NaHCO_3$ (s), (Sigma chemical S8875)
- NaCl (s), (Carlo Erba reagents 479687)
- $MgCl_2(H_2O)_6$ (s)
- $(NH_4)CO_3$ (s)
- Πυκνό NaOH 5M
- Πυκνό HCL 6M (Sigma-Aldrich 30721-2.5 L)
- $CaCl_2(H_2O)_2$ (s)
- Νερό HPLC (Fisher chemical W/0106/17

Εργαστηριακά όργανα και σκεύη

- Σωλήνες falcon 50 mL
- Μεγάλο ποτήρι ζέσεως
- 3 ποτήρια ζέσεως
- Ογκομετρικός Κύλινδρος 1L
- Ογκομετρικός Κύλινδρος 500 ml
- Σιφώνια 10 mL, 25 mL
- πουάρ
- Χωνί
- Σπάτουλα
- Πλαστικά μπουκάλια 1L (6 τεμάχια)
- Αυτόματη πιπέτα (100-1000 μL) (GilsonS.A.S.)

- Tips για την πιπέτα
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων (Sartorius BP221)
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας δύο δεκαδικών ψηφίων (OHAUSTS 40000)
- Μαγνητικός αναδευτήρας-μαγνητάκια (Stuart Scientific)
- pH-μετρο (Alpha *Analytical)*

Πίνακας 10. Πορεία για παρασκευή SSF, SGF, SIF διαλυμάτων

			SSF		SGF		SIF	
			pH 7		pH 3		pH 7	
Constituent	Stock conc.		Vol. of stock	Conc. in SSF	Vol. of stock	Conc. in SGF	Vol. of stock	Conc. in SIF
	g L^{-1}	mol L^{-1}	mL	mmol L^{-1}	mL	mmol L^{-1}	mL	mmol L^{-1}
KCl	37.3	0.5	15.1	15.1	6.9	6.9	6.8	6.8
KH_2PO_4	68	0.5	3.7	3.7	0.9	0.9	0.8	0.8
$NaHCO_3$	84	1	6.8	13.6	12.5	25	42.5	85
NaCl	117	2	—	—	11.8	47.2	9.6	38.4
$MgCl_2(H_2O)_6$	30.5	0.15	0.5	0.15	0.4	0.1	1.1	0.33
$(NH_4)_2CO_3$	48	0.5	0.06	0.06	0.5	0.5	—	—
For pH adjustment								
	mol L^{-1}		mL	mmol L^{-1}	mL	mmol L^{-1}	mL	mmol L^{-1}
NaOH	1		—	—	—	—	—	—
HCl	6		0.09	1.1	1.3	15.6	0.7	8.4
$CaCl_2(H_2O)_2$ is not added to the simulated digestion fluids, see details in legend								
	g L^{-1}	mol L^{-1}		mmol L^{-1}		mmol L^{-1}		mmol L^{-1}
$CaCl_2(H_2O)_2$	44.1	0.3		1.5 (0.75*)		0.15 (0.075*)		0.6 (0.3*)

[a] * in brackets is the corresponding Ca^{2+} concentration in the final digestion mixture.

5.2.1. Προσομοίωση πέψης *in vitro*

Χρησιμοποιήθηκε ένα πρωτόκολλο βασιζόμενο στην πειραματική πορεία που περιγράφηκε από τους Minekus *et al*. (2014) σε συνδυασμό με το πρωτόκολλο των McDougall *et al*. (2005). Για την εφαρμογή των πρωτοκόλλων αυτών στην περίπτωση των δειγμάτων τροφίμων που είχαμε επιλέξει, ακολουθήθηκε διαδικασία βελτιστοποίησης των πειραματικών συνθηκών. Οι παράμετροι που αξιολογήθηκαν κατά τη βελτιστοποίηση θα παρουσιαστούν με τη σειρά που εμφανίζονται στη ροή του πειράματος προσομοίωσης γαστρικής πέψης in vitro.

- Στη φάση της μάσησης, αξιολογήθηκε η ομογενοποίηση με πολυκόφτη συγκρινόμενη με την πραγματική (*in vivo*) μάσηση για 2 min.

- Στη γαστρική φάση, αξιολογήθηκε και απορρίφθηκε η χρήση διαλύματος φωσφολιποειδών.

- Στην εντερική φάση, αξιολογήθηκε ο τρόπος προσθήκης του δέρματος φιδιού στα δείγματα καθώς και ο χρόνος κατά τον οποίο αυτά θα επωάζονται με το δέρμα φιδιού.

- Αξιολογήθηκε η διαδικασία παραλαβής των προς ανάλυση δειγμάτων (διακοπή ενζυμικής δραστικότητας, χειρισμός δείγματος).

Αντιδραστήρια

- Δείγματα μαρμελάδων και γλυκών του κουταλιού
- Δείγμα ψωμιού, σταρένιο ψωμί χωρίς κόρα
- Διαλύματα SSF, SGF, SIF
- α-Αμυλάση (s), (Fisher chemical A-74a, 50 – 100 Unit / mg)
- Πεψίνη (s), (Agros Organics, 417071000)
- Παγκρεατίνη (s), (Sigma P 3292 – 100 g)
- Χολικά άλατα (s), (Fluka analytical 48305 – 50 g – F)
- HCl 6M (Sigma – Aldrich 30721 – 2,5 L)
- Νερό HPLC (Fisher chemical W/0106/17)
- Μεθανόλη HPLC (Fisher chemical M/4056/17)
- Ethyl acetate HPLC (Fisher chemical E/0900/17)
- Δέρμα φιδιού [Thermo Scientific Snakeskin Dialysis Tubing, 22mm*10,7m), μέγεθος πόρων 7000-MW cut-off (MWCO)].

Εργαστηριακά όργανα και σκεύη

- Αυτόματη πιπέτα (100-1000 μL) (Gilson S.A.S) - tips
- Αυτόματη πιπέτα (10-100 μL) (Gilson S.A.S) – tips
- Σιφώνια 5 ml, 10 ml, 25 ml
- Σπάτουλες
- Σωλήνες falcon 50 ml και 15 ml – στατώ
- Ποτήρια και σωλήνες φυγοκέντρου
- Χάρακας, κόλλα στιγμής, μαρκαδόρος, parafilm
- Σύριγγες 5 ml και προσαρμοζόμενα φίλτρα (HPLC), PET σύριγγας
- Πολυκόφτης κουζίνας
- pH – μετρο (Alpha analytical)
- Ανακινούμενο υδατόλουτρο (Schutzart DIN EN 60529 – IP 20)
- Vortex (J.P. Selecta, s.a.)
- Χρονόμετρο
- Φυγόκεντρος (Hermle Z – 320)

5.2.2. Πορεία πειράματος

Στο μοντέλο προσομοίωσης της πέψης *in vitro* η πορεία της πέψης χωρίστηκε σε τρεις φάσεις (μάσηση, γαστρική φάση, εντερική φάση). Οι συνθήκες αυτές αναπαριστούν την διαδικασία της πέψης της τροφής και πιο συγκεκριμένα τις συνθήκες που επικρατούν στο στόμα, στον στόμαχο και στο έντερο. Σε κάθε στάδιο απομονώνονται δείγματα με σκοπό να προσδιοριστεί η βιοπροσβάσιμη ποσότητα φαινολικών ενώσεων σε κάθε φάση. Η διαδικασία αφορά ένα είδος μαρμελάδας ή γλυκών του κουταλιού κάθε φορά από το οποίο λαμβάνεται τριπλέτα δειγμάτων σε κάθε στάδιο.

5.2.3. Προετοιμασία διαλυμάτων ενζύμων σε κάθε στάδιο

Η απαιτούμενη ποσότητα του κάθε ενζύμου ζυγίστηκε σε ζυγό ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων μέσα σε σωλήνα falcon 50 ml. Έπειτα ακολούθησε προσθήκη της κατάλληλης ποσότητας διαλύματος αλάτων που αντιστοιχούσε σε κάθε στάδιο της πέψης όπως φαίνεται στον Πίνακα 11.

Πίνακας 11. Ποσότητες ενζύμων και χολικών αλάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή διαλυμάτων της πέψης.

Ένζυμο/ Αντιδραστήριο	*α-Αμυλάση*	*Πεψίνη*	*Παγκρεατίνη*	*Χολικά άλατα*
Ποσότητα (mg αριθμός δειγμάτων +1)*	15* (n+1)	13,328* (n+1)	40* (n+1)	170 * (n+1)
Διάλυμα πέψης	SSF	SGF	SIF	SIF
Ποσότητα διαλύματος (mL αριθμός δειγμάτων + 1)*	0,5* (n+1)	1.6 * (n+1)	5 * (n+1)	2.5 * (n+1)

5.2.4. Διαδικασία προσομοίωσης της φάσης της μάσησης, της γαστρικής και της εντερικής πέψης.

Φάση μάσησης

1. Ζύγιση 100 g μαρμελάδας/γλυκό κουταλιού σε ζυγό ακριβείας 2 δεκαδικών ψηφίων / Στην περίπτωση του συνδυασμού χρησιμοποιήθηκαν 60 g μαρμελάδας μαζί με 75 g ψωμιού (η ποσότητα καθορίστηκε λαμβάνοντας υπόψιν το μέγεθος μίας μερίδας μαρμελάδας με μία φέτα ψωμί).
2. Προσθήκη 75 mL SSF στο δείγμα/ στην περίπτωση του συνδυασμού έγινε προσθήκη 101.125 mL SSF
3. Ομογενοποίηση του δείγματος με τη χρήση πολυκόφτη multi
4. Μεταφορά 8.5 g σε περιέκτες. Χρησιμοποιήθηκαν 18 περιέκτες falcon σε κάθε δείγμα
5. Προσθήκη σε κάθε περιέκτη
    a. Διάλυμα α-αμυλάσης, 0,5 mL
    b. Διάλυμα CaCl2, 25μL
    c. Νερό HPLC, 975 mL
6. Ανάδευση δείγματος για δύο λεπτά με τη χρήση voltex
7. Παραλαβή 4 δειγμάτων για ανάλυση. Στα τρία δείγματα προστέθηκε μεθανόλη (5 mL) και στο ένα δείγμα όξινος αιθυλεστέρας με στόχο την αδρανοποίηση των ενζύμων. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και παραλήφθηκε το υπερκείμενο
8. Τα υπόλοιπα δείγματα πέρασαν στο επόμενο στάδιο της πέψης.

Γαστρική φάση

1. Στα δείγματα προστέθηκαν
    a. Διάλυμα SGF,7.5 mL
    b. Διάλυμα πεψίνης, 1.6 mL
    c. Διάλυμα $CaCl_2$, 5 mL
2. Ανάδευση των δειγμάτων σε voltex για 10’’
3. Ρύθμιση pH με HCl 6M (pH=1,7)
4. Επώαση των δειγμάτων σε ανακινούμενο υδατόλουτρο για διάστημα 2 ωρών στους 37 ^{O}C
5. Παραλαβή 4 δειγμάτων όπως στο στάδιο της μάσησης με τη διαφορά ότι η ποσότητα των διαλυμάτων ήταν 10 mL
6. Τα υπόλοιπα δείγματα πέρασαν στο επόμενο στάδιο της παγκρεατικής πέψης.

Εντερική φάση

1. Στα δείγματα προστέθηκαν

a. Διάλυμα SIF,11 mL
b. Διάλυμα παγκρεατίνης, 5 mL
c. Διάλυμα χολικών αλάτων, 2.5 mL
d. Διάλυμα $CaCl_2$, 40 μL

2. Ανάδευση σε voltex για 10’’
3. Ρύθμιση pH με NaOH 5M (pH=7)
4. Τρία δείγματα υποβλήθηκαν σε διαδικασία προσομοίωσης επιθηλίου με τη χρήση δέρματος φιδιού (dialysis tubing snakeskin). Συγκεκριμένα:
   i. Προετοιμασία snakeskin χρησιμοποιώντας κόλλα σε μία πλευρά για στεγανοποίηση
   ii. Μεταφορά δείγματος σε γυάλινο περιέκτη
   iii. Τοποθέτηση snakeskin στο γυάλινο περιέκτη
   iv. Προσθήκη 20 mL δ/τος $NaHCO_3$ στο εσωτερικό του δέρματος φιδιού (dialysis tubing snakeskin) με σιφώνιο.
   v. Χρήση κόλλας για το επάνω μέρος του δέρματος φιδιού (dialysis tubing snakeskin) και parafilm για την κάλυψη των γυάλινων περιεκτών.
7. Επώαση των δειγμάτων σε ανακινούμενο υδατόλουτρο για διάστημα 2 ωρών στους 37 ^oC.
8. Παραλαβή 4 δειγμάτων (εκείνων που δεν υποβλήθηκαν σε διαδικασία προσομοίωσης επιθηλίου) με τον ίδιο τρόπο όπως στο στάδιο της μάσησης με τη διαφορά ότι η ποσότητα των διαλυμάτων ήταν 16 mL.
9. Για τα δείγματα που υποβλήθηκαν σε προσομοίωση επιθηλίου έγινε συλλογή ξεχωριστά του αρχικού δείγματος και του διαλύματος $NaHCO_3$. Δημιουργήθηκαν με αυτό τον τρόπο 3 δείγματα «IN», που αντιπροσωπεύουν τις φαινολικές ενώσεις που απορροφήθηκαν από το εντερικό επιθήλιο και 3 δείγματα «OUT», που αντιπροσωπεύουν εκείνες που δεν απορροφήθηκαν.

5.2.5. Προετοιμασία δειγμάτων για ανάλυση

Για τη συλλογή του εκχυλίσματος ακολουθήθηκε η εξής πορεία.

1. Φυγοκέντρηση δειγμάτων στα 4100 rpm για 10 min
2. Παραλαβή του υπερκείμενου και μεταφορά σε καινούργιο περιέκτη 50 mL. Για όσα δείγματα είχε γίνει αδρανοποίηση των ενζύμων με τη χρήση όξινου αιθυλεστέρα παραλήφθηκε η οργανική φάση καθώς είχε δημιουργηθεί διφασικό σύστημα

3. Μέτρηση όγκου για κάθε δείγμα υδατικής φάσης
4. Διήθηση από φίλτρο σύριγγας PET
5. Αποθήκευση δειγμάτων στους -80 ^{o}C για περαιτέρω ανάλυση.

5.3. Ποσοτικοί προσδιορισμοί εκχυλισμάτων

5.3.1. Προσδιορισμός ολικών φαινολικών συστατικών με τη δοκιμή Folin-Ciocalteu

Αντιδραστήρια/όργανα

- Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (FC)
- Κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3, 20% w/v)
- Μεθανόλη αναλυτικής καθαρότητας
- Απιονισμένο νερό
- Eppendorf σωλήνες (1,5 mL)
- Αυτόματες πιπέτες (100-1000μL και 10-100μL)
- Tips
- Διαλύματα εκχυλισμάτων
- Φασματοφωτόμετρο ELIZA Reader (Power Wave X52, BIOTEK)
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων
- Ογκομετρικές φιάλες όγκου 10 και 100 mL
- Γαλλικό οξύ (Gallic acid, GA)
- Πρότυπο διάλυμα γαλλικού οξέος 1 mg/mL(ζυγίζονται 1 mg GA και διαλύονται σε 1 mL μεθανόλης)

Αρχή μεθόδου

Πρόκειται για μια φωτομετρική μέθοδο η οποία βασίζεται στην οξείδωση των φαινολικών ενώσεων από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Το συγκεκριμένο αντιδραστήριο είναι διάλυμα σύνθετων ιόντων τα οποία δημιουργούνται από φωσφομολυβδαινικά και φωσφοβολφραμικά άλατα και αντιδρούν με ενεργοποιημένους αρωματικούς πυρήνες υπό αλκαλικές συνθήκες. Κατά την οξείδωση των φαινολικών ενώσεων, το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu ανάγεται προς μείγμα κυανών οξειδίων του βολφραμίου και του μολυβδαινίου. Το σχηματιζόμενο κυανό χρώμα παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 750 nm και είναι ανάλογο με τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων. Η αλκαλικότητα ρυθμίζεται με διάλυμα Na_2CO_3. Οι φαινολικές ουσίες που προσδιορίζονται

με τη δοκιμή Folin-Ciocalteu εκφράζονται συχνά ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος (Arnous *et al.,* 2002).

Αναλυτική πορεία

Ο προσδιορισμός του ολικού φαινολικού περιεχομένου πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Arnous *et al.,* (2002). Σε σωλήνες eppendorf προστέθηκε απιονισμένο νερό (0,79 mL) και κατόπιν το εκχύλισμα μαρμελάδας/γλυκό κουταλιού (0,01 mL). Στη συνέχεια προστέθηκε αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (0,05 mL) ακολούθησε ανάδευση και μετά την πάροδο 1 min, προστέθηκε διάλυμα Na_2CO_3 (0,15 mL). Το μίγμα ανακινήθηκε ξανά και φυλάχθηκε σε σκοτάδι για 120 min. Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετρήθηκε στα 750 nm ως προς δείγμα ελέγχου, ενώ κατασκευάστηκε και πρότυπη καμπύλη αναφοράς με γαλλικό οξύ (GA). Δείγμα ελέγχου παρασκευάστηκε αντικαθιστώντας το δείγμα με μεθανόλη.

5.3.2. Προσδιορισμός ολικών φλαβανολών (TFl)

Αντιδραστήρια/όργανα

- Αντιδραστήριο 4-διμεθυλάμινο-κινναμωμική αλδεΰδη (DMACA, 0,2% σε μεθανόλη)
- Διάλυμα υδροχλωρικού οξέος (HCl 0,24 N σε μεθανόλη)
- Μεθανόλη αναλυτικής καθαρότητας
- Φασματοφωτόμετρο ELISA Reader (POWER WAVEX 52, BIOTEK)
- Eppendorf σωλήνες (1,5 mL)
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων (0,0000 g)
- Αυτόματη πιπέττα (100-1000 μL)
- Tips
- Ογκομετρικές φιάλες όγκου 10 και 100 mL
- Κατεχίνη (Catechin, CT)
- Διάλυμα κατεχίνης μητρικό 32 mg/Lσε μεθανόλη

Αρχή μεθόδου

Για τον προσδιορισμό των ολικών φλαβανολών, ακολουθήθηκε η μέθοδος της π-διμεθυλαμινοκινναμωμικής αλδεΰδης (DMACA), η οποία προτάθηκε από τους Nagel και Glories (Nagel & Glories, 1991). Οι κατεχίνες και οι προανθοκυανιδίνες, αντιδρούν με τις

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

Αναλυτική πορεία

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

5.3.3. Προσδιορισμός ολικών φλαβονών/φλαβανονών (TFn)

Αντιδραστήρια-Όργανα

- Διάλυμα χλωριούχου αργιλίου (2% $AlCl_3$ σε 5% οξικό οξύ σε μεθανόλη)
- Διάλυμα οξικού οξέος (5% σε μεθανόλη)
- Μεθανόλη αναλυτικής καθαρότητας
- Φασματοφωτόμετρο ELISA Reader (POWER WAVE X52, BIOTEK)
- Eppendorf σωλήνες (1,5 mL)
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων (0,0000 g)
- Αυτόματη πιπέτα (100-1000 μL και 10-100 μL)
- Tips
- Ογκομετρικές φιάλες όγκου 250 mL
- Ρουτίνη (Rutin, Rut.)
- Διάλυμα ρουτίνης μητρικό 100 mg/L σε μεθανόλη

Αρχή μεθόδου

Ο προσδιορισμός του ολικού 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.

Αναλυτική πορεία

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

5.4. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης in vitro

Προσδιορισμός της επιδεικνυόμενης αντιοξειδωτικής δράσης *in vitro*, έλαβε χώρα με δύο μεθόδους:

- μέσω της ικανότητας των εκχυλισμάτων να δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH (2,2-διφαινυλο-1-πικρυλο-υδραζυλο ελεύθερη ρίζα) (AR) και
- μέσω της ικανότητάς τους να ανάγουν μεταλλικά κατιόντα (FRAP, PR).

5.4.1. Ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών

Αντιδραστήρια-Όργανα

- Διάλυμα 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλο-υδραζυλο (DPPH) (100 μM σε μεθανόλη)
- Μεθανόλη αναλυτικής καθαρότητας
- Φασματοφωτόμετρο ELISA Reader (POWER WAVE X52, BIOTEK)
- Eppendorf σωλήνες (1,5 mL)
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων (0,0000g)
- Αυτόματη πιπέτα (100-1000 μL)

- Αυτόματη πιπέτα (10-100 μL)
- Tips
- Ογκομετρικές φιάλες όγκου 100 mL
- Trolox (ισοδύναμο βιταμίνης Ε)
- Διάλυμα Trolox μητρικό 1,6 mM σε μεθανόλη

Αρχή μεθόδου

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

Αναλυτική πορεία

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

5.4.2. Ικανότητα αναγωγής μεταλλικών κατιόντων

Αντιδραστήρια-Όργανα

- 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 αναλυτικής καθαρότητας
- Απεσταγμένο νερό
- Φασματοφωτόμετρο ELISA Reader (POWER WAVE X52, BIOTEK)
- Eppendorf σωλήνες (1,5 mL)

- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων (0,0000 g)
- Αυτόματη πιπέτα (100-1000 μL)
- Αυτόματη πιπέτα (10-100 μL)
- Tips
- Ογκομετρικές φιάλες όγκου 100 mL
- Ασκορβικό οξύ (Ascorbic Acid)
- Διάλυμα ασκορβικού οξέος μητρικό 0,5 mM σε νερό

Αρχή μεθόδου

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

Αναλυτική πορεία

Ο προσδιορισμός της αναγωγικής δύναμης με την μέθοδο FRAP πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Makris *et al.* (2007). Σε σωλήνα eppendorf προστέθηκε αραιωμένο εκχύλισμα (0,05 mL) και διάλυμα $FeCl_3$ (3 mM σε 5 mM HCl, 0,05 mL). Επωάστηκαν σε ανακινούμενο υδατόλουτρο για 30 min στους 37°C. Στην συνέχεια προστέθηκε διάλυμα TPTZ (1 mM σε 0,05 M HCl, 0.9 mL) και αναδεύτηκαν. Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετρήθηκε στα 620 nm ως προς δείγμα ελέγχου, ενώ κατασκευάστηκε και πρότυπη καμπύλη αναφοράς με ασκορβικό οξύ. Δείγμα ελέγχου παρασκευάστηκε αντικαθιστώντας το διάλυμα $FeCl_3$ (3 mM σε 5 mM HCl) με απεσταγμένο νερό και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα mM ασκορβικού οξέος ανά 100 gr μαρμελάδας/γλυκό κουταλιού.

Κεφάλαιο 6ο

Αποτελέσματα

6.1. Πολικές φαινόλες μαρμελάδων και γλυκών κουταλιού

Ο προσδιορισμός των πολικών φαινολών των γλυκών κουταλιού και μαρμελάδων της μελέτης έλαβε χώρα στο πλαίσιο της πτυχιακής εργασίας της κ. Γκέκα Αμαλίας (ΧΠ, 2017). Επιπλέον, στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης αξιολογήθηκε το περιεχόμενο σε πολικές φαινόλες για τα δείγματα της εμπορικής μαρμελάδας «2» καθώς και το αντίστοιχο γλυκό κουταλιού, το εμπορικό γλυκό κουταλιού «1» αλλά και για τη μαρμελάδα και γλυκό του κουταλιού καρύδι. Στον Πίνακα που ακολουθεί φαίνεται το περιεχόμενο σε πολικές φαινόλες των δειγμάτων που αξιολογήθηκαν ως προς τη βιοπροσβασιμότητα πολικών φαινολών στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης (Πίνακας 12).

Πίνακας 12. Φαινολικό περιεχόμενο μαρμελάδων και γλυκών κουταλιού

	Φαινολικό Περιεχόμενο		
Μαρμελάδες και γλυκά κουταλιού	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)
Μαρμελάδα ελιά εμπορίου «2»	80±11	nd	9±2
Γλυκό κουταλιού ελιά εμπορίου «2»	112 ±5	nd	16±1
Γλυκό κουταλιού ελιά εμπορίου «1»	221±18	nd	54±6
Μαρμελάδα καρύδι	279±64	nd	69±19
Γλυκό καρύδι	201±23	nd	27±1
*Μαρμελάδα Ελιά εμπορίου «1» (40ml MeOH) **	180±22	0.3±0.2	35±1
*Γλυκό κουταλιού Καρύδι (10mL Acetone/H2O) **	226±89	0.2±0.1	14±1
*Μαρμελάδα Φράουλα ζαχαροκάλαμο**	301±35	1.3±0.1	132±3
*Μαρμελάδα φράουλα εμπορίου **	217±17	0.5±0.2	12±1
*Μαρμελάδα φράουλα σπιτική **	296±13	0.6±0.2	18±3
*Μαρμελάδα Ροδάκινο ζαχαροκάλαμο **	243±8	1.1±0.1	82±3

*Μαρμελάδα ροδάκινο εμπορίου**	192±18	0.4±0.1	5±1

Τα δεδομένα για τις μαρμελάδες και τα γλυκά κουταλιού που έχουν την ένδειξη του αστερίσκου (*) προέρχονται από την πτυχιακή εργασία της Γκέκας Αμαλίας (Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, 2017).

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης;

6.2. Βιοπροσβασιμότητα πολικών φαινολών

Κατά τη μελέτη των διαθέσιμων προς απορρόφηση πολικών φαινολών έγινε προσομοίωση της μάσησης, της γαστρικής και εντερικής πέψης. Κατά την εντερική πέψη χρησιμοποιήθηκε προσομοιωτής του εντερικού τοιχώματος ώστε να προσδιορίζεται κάθε φορά το ποσό των πολικών φαινολών που περνά στο εντερικό επιθήλιο και αυτό που παραμένει στο έντερο προς απέκκριση. Παρακάτω ακολουθούν λεπτομερώς οι Πίνακες για τον προσδιορισμό του περιεχομένου των πολικών φαινολών τόσο στις μαρμελάδες όσο και στις μαρμελάδες με την προθήκη ψωμιού.

6.2.1 Μαρμελάδα φράουλα

Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού του φαινολικού περιεχομένου και της αντιοξειδωτικής ικανότητας, για κάθε δείγμα ξεχωριστά, φαίνονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 13. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας Μαρμελάδας φράουλας με ζαχαροκάλαμο

Μαρμελάδα Φράουλα με ζαχαροκάλαμο	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*	
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)	RP (mg AscA/100g)
Μάσηση	205± 24	0.24± 0.06	133.2 ±14.4	302.6 ± 31.8	8.4 ± 0.9
Γαστρική	289 ± 21	0.39 ± 0.04	170.6±8.6	762.6 ± 39.2	14.6 ± 2.6
Εντερικός αυλός	185 ± 19	0.06 ± 0.03	319.0±51.1	569.7 ± 55.1	15.4 ± 3.6
Επιθήλιο	7 ± 1	nd	3.0± 0.8	267.1 ± 20.3	nd

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH; RP, αναγωγική δύναμη

Το ολικό βιοπροσβάσιμο φαινολικό περιεχόμενο φαίνεται να είναι αυξημένο στα αρχικά στάδια της πέψης (μάσηση, γαστρική πέψη) ενώ μια μικρή ποσότητα των πολικών φαινολών φαίνεται ικανή να περνά στο εντερικό επιθήλιο. Παρόμοια τάση παρατηρείται για τις ολικές φλαβανόλες και ολικές φλαβόνες/φλαβανόνες με εξαίρεση τη δίοδο δια του εντερικού επιθηλίου στην περίπτωση των ολικών φλαβανολών, όπου δεν ανιχνεύθηκαν συστατικά. Το εύρημα αυτό πιθανά να μπορεί να αποδοθεί στο εν γένει περιεχόμενο σε ολικές φλαβανόλες το οποίο ήταν σχετικά μικρό. Όσον αφορά στην ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών αυτή παρατηρείται σε όλα τα στάδια της πέψης ενώ στην περίπτωση της ικανότητας αναγωγής μεταλλικών κατιόντων στο δείγμα από εντερικό επιθήλιο δεν ανιχνεύεται η εν λόγω δράση.

Πίνακας 14. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας Μαρμελάδας φράουλας με ζαχαροκάλαμο και ψωμί

Μαρμελάδα φράουλα με ζαχαροκάλαμο και ψωμί	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)
Μάσηση	35± 10	nd	27.2±3.8	277.8±43.6
Γαστρική	84± 17	nd	31.2±2.4	521.3±34.1
Εντερικός αυλός	97±19	nd	79.5±10.1	62.8±51.1
Επιθήλιο	7±6	nd	33.6±4.0	79.8±62.4

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH; RP, αναγωγική δύναμη

Κατά τη διαδικασία του προσδιορισμού του φαινολικού περιεχομένου της μαρμελάδας ζαχαροκάλαμο με την προσθήκη ψωμιού τα αποτελέσματα διαφοροποιούνται. Ειδικότερα, το βιοπροσβάσιμο φαινολικό περιεχόμενο, όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα, είναι μικρότερο στα στάδια της μάσησης και της γαστρικής πέψης. Εκτός αυτού, ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός ότι κατά την απορρόφηση στο εντερικό επιθήλιο παρατηρείται αύξηση στο περιεχόμενο των ολικών φαινολών και φλαβονών. Αυτό πιθανότατα να οφείλεται στην συνεισφορά του ψωμιού στο τελικό αποτέλεσμα.

Πίνακας 15. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας σπιτικής Μαρμελάδας φράουλας

Μαρμελάδα Φράουλα σπιτική	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*	
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)	RP (mg AscA/100g)
Μάσηση	50± 7	0.01 ± 0.03	6.0 ± 1.1	299.5± 42.4	4.8 ± 0.7
Γαστρική	68 ± 4	0.03 ± 0.01	9.7 ± 0.6	570.3 ± 17.4	12.5 ± 2.2
Εντερικός αυλός	49 ± 10	nd	8.1 ± 1.2	422.1 ± 22.9	nd
Επιθήλιο	4 ± 1	nd	0.8 ± 0.3	258.9 ± 17.8	3.1 ± 1.8

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH; RP, αναγωγική δύναμη

Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρούνται και στην σπιτική μαρμελάδα με τη διαφορά ότι το ποσοστό του ολικού φαινολικού περιεχομένου σε αυτή τη περίπτωση είναι αρκετά μειωμένο. Επιπρόσθετα, στην περίπτωση της ικανότητας αναγωγής μεταλλικών κατιόντων φαίνεται να υπάρχει απορρόφηση στο επιθήλιο.

Πίνακας 16. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας σπιτικής Μαρμελάδας φράουλας με ψωμί

Μαρμελάδα φράουλα σπιτική και ψωμί	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)
Μάσηση	29±9	nd	1.6±0.4	nd
Γαστρική	78±6	nd	2.1±0.7	tr
Εντερικός αυλός	104±22	nd	3.4±0.5	nd
Επιθήλιο	7±6	nd	0.2±0.1	nd

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH; RP, αναγωγική δύναμη

Έπειτα από τον προσδιορισμό του φαινολικού περιεχομένου καθώς και της αντιοξειδωτικής ικανότητας φάνηκε ότι στην σπιτική μαρμελάδα μαζί με το ψωμί το περιεχόμενο φάνηκε να έχει μειωμένο σε σχέση με τους ανάλογους προσδιορισμούς της αυτούσιας σπιτικής μαρμελάδας.

Πίνακας 17. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας Μαρμελάδας φράουλας εμπορίου

Μαρμελάδα Φράουλα εμπορίου	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*	
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)	RP (mg AscA/100g)
Μάσηση	11± 2	0.03± 0.01	1.0 ± 0.2		0.6± 0.2
Γαστρική	26 ± 3	Nd	3.3 ± 0.3	498.4 ± 20.5	0.5±0.3
Εντερικός αυλός	30 ± 6	Nd	15.1 ± 5.1	441.9 ± 27.4	nd
Επιθήλιο	nd	Nd	0.7 ± 0.5	254.7 ± 14.6	nd

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH; RP, αναγωγική δύναμη

Από τις μαρμελάδες φράουλα που αξιολογήθηκαν, αυτή του εμπορίου είχε το χαμηλότερο βιοπροσβάσιμο φαινολικό περιεχόμενο. Η ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών ήταν αρκετά αυξημένη, στο επιθήλιο (254.7±14.6 μmol Trolox/100g).

Πίνακας 18. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας εμπορικής μαρμελάδας φράουλας και ψωμί

Μαρμελάδα φράουλα εμπορίου και ψωμί	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)
Μάσηση	12±1	nd	1.4± 0.5	nd
Γαστρική	46±3	nd	1.2±0.6	54.9 ± 19.5
Εντερικός αυλός	50±7	0.41± 0.04	4.0±1.3	nd
Επιθήλιο	3±0	nd	0.2±0.2	nd

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH

Κατά την προσθήκη ψωμιού στην μαρμελάδα, στην περίπτωση των ολικών φαινολών σημειώθηκε αύξηση του περιεχομένου, γεγονός που δεν υφίσταται στο περιεχόμενο των ολικών φλαβονών. Και σε αυτή τη περίπτωση η αντιοξειδωτική ικανότητα είναι μειωμένη.

6.2.2. Μαρμελάδα ροδάκινο

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν σχετικά με τις βιοπροσβάσιμες πολικές φαινόλες από μαρμελάδα ροδάκινο φαίνονται στους πίνακες 19-24.

Πίνακας 19. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας Μαρμελάδας ροδάκινο με ζαχαροκάλαμο

Μαρμελάδα ροδάκινο με ζαχαροκάλαμο	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*	
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)	RP (mg AscA/100g)
Μάσηση	103± 9	0.26 ± 0.03	67.4 ± 10.4	315.5 ± 41.1	7.2 ± 0.7
Γαστρική	115 ± 17	0.22 ± 0.04	70.4 ± 4.7	535.3 ± 85.9	9.0 ± 0.7
Εντερικός αυλός	161 ± 38	Nd	93.6 ± 12.8	251.7 ± 22.7	8± 5.6
Επιθήλιο	17 ± 5	Nd	2.3 ± 1.4	392.2 ± 30.3	nd

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH; RP, αναγωγική δύναμη

Όπως στην περίπτωση της μαρμελάδας φράουλας με την προσθήκη ζαχαροκάλαμου ως γλυκαντική ύλη, έτσι και στην περίπτωση της μαρμελάδας ροδάκινου η ποσότητα των ολικών φαινολών είναι αυξημένη, τόσο στην αρχή της διαδικασίας κατά την μάσηση όσο και στην τελική ποσότητα στο επιθήλιο, 17±5 mg GAE/100g μαρμελάδας. Οι ολικές φλαβανόλες βρέθηκαν σε χαμηλή περιεκτικότητα. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και ως προς την ικανότητα αναγωγής μεταλλικών κατιόντων.

Πίνακας 20. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας μαρμελάδας ροδάκινο με ζαχαροκάλαμο και ψωμί

Μαρμελάδα ροδάκινο με ζαχαροκάλαμο και ψωμί	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)
Μάσηση	34±5	nd	17.1±2.0	78.4±32.5
Γαστρική	74±8	nd	12.6±1.8	153.0±31.5
Εντερικός αυλός	86±26	nd	21.5±5.9	nd
Επιθήλιο	5±3	nd	0.6±0.3	nd

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα οι βιοπροσβάσιμες φαινολικές ενώσεις ήταν χαμηλότερες σε σχέση .με την μαρμελάδα ροδάκινο χωρίς την προσθήκη ψωμιού σε όλα τα στάδια της πέψης (μάσηση, εντερική, γαστρική). Παρόμοια τάση παρατηρείται και κατά τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας.

Πίνακας 21. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας της σπιτικής μαρμελάδας ροδάκινου

Μαρμελάδα ροδάκινο σπιτική	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*	
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)	RP (mg AscA/100g)
Μάσηση	61± 44	0.02± 0.01	12.2 ± 0.9	198.2 ± 10.5	nd
Γαστρική	98 ± 70	Nd	14.4 ± 1.2	551.5 ± 57.6	nd
Εντερικός αυλός	107 ± 81	Nd	29.9 ± 3.5	337.5 ± 30.7	nd
Επιθήλιο	8 ± 3	Nd	3.0 ± 0.5	220.0 ± 17.5	nd

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH; RP, αναγωγική δύναμη

Στην σπιτική μαρμελάδα ροδάκινο το φαινολικό περιεχόμενο είναι αρκετά πιο χαμηλό συγκριτικά με εκείνο της αντίστοιχης μαρμελάδας με ζαχαροκάλαμο.

Πίνακας 22. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας της σπιτικής μαρμελάδας ροδάκινου με ψωμί

Μαρμελάδα ροδάκινο σπιτική και ψωμί	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)
Μάσηση	8±2	nd	4.2±0.6	12.4 ± 4.3
Γαστρική	34±7	nd	4.7±1.6	44.6 ± 2.5
Εντερικός αυλός	53±7	nd	6.9±0.7	39.0 ± 3.1
Επιθήλιο	4±2	nd	0.4±0.1	25.4 ± 2.8

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH; RP, αναγωγική δύναμη

Στην σπιτική μαρμελάδα ροδάκινο με ψωμί το ολικό βιοπροσβάσιμο περιεχόμενο είναι μικρότερο από εκείνη της αντίστοιχης μαρμελάδας τόσο στην περίπτωση του φαινολικού

περιεχομένου όσο και της αντιοξειδωτικής ικανότητας, γεγονός που επιβεβαιώνεται από τον παραπάνω πίνακα.

Πίνακας 23. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας της εμπορικής μαρμελάδας ροδάκινο

Μαρμελάδα ροδάκινο εμπορίου	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*	
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)	RP (mg AscA/100g)
Μάσηση	28± 4	0.07± 0.01	0.9 ± 0.1	263.6 ± 8.5	7.7 ± 0.4
Γαστρική	38 ± 4	0.13 ± 0.04	1.8 ± 1.2	657.4 ± 6.4	12.6 ± 1.3
Εντερικός αυλός	37 ± 10	nd	9.2 ± 1.9	399.7 ± 37.1	nd
Επιθήλιο	3 ± 1	nd	0.8 ± 0.2	226.0 ± 13.0	nd

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH; RP, αναγωγική δύναμη

Όσον αφορά στο φαινολικό περιεχόμενο της εμπορικής μαρμελάδας ροδάκινου οι ολικές φαινόλες φάνηκαν να είναι χαμηλότερες συγκριτικά με τις υπόλοιπες μαρμελάδες ροδάκινο.

Πίνακας 24. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας εμπορικής μαρμελάδας ροδάκινο με ψωμί

Μαρμελάδα ροδάκινο εμπορίου και ψωμί	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)
Μάσηση	9±3	nd	0.2 ± 0.2	26.5±36.4
Γαστρική	30±5	nd	1.2 ± 0.7	143.7±22.8
Εντερικός αυλός	48±5	nd	3.7 ± 0.8	nd
Επιθήλιο	nd	nd	0.3 ± 0.1	nd

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH

Στο συγκεκριμένο είδος μαρμελάδας παρατηρείται η μικρότερη ποσότητα βιοπροσβάσιμων φαινολικών ενώσεων. Ωστόσο, σε όλες τις περιπτώσεις μαρμελάδας ροδάκινο φαίνεται ότι ποσότητα πολικών φαινολών περνά το εντερικό επιθήλιο.

6.2.3. Μαρμελάδα καρύδι

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν σχετικά με τις βιοπροσβάσιμες πολικές φαινόλες από μαρμελάδα καρύδι φαίνονται στους πίνακες 25-26.

Πίνακας 25. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας της μαρμελάδας καρύδι

Μαρμελάδα Καρύδι	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*	
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)	RP (mg AscA/100g)
Μάσηση	65± 5	nd	15.1 ± 7.0	264.3 ± 23.0	5.1 ± 0.8
Γαστρική	84 ± 8	nd	18.2 ± 3.9	554.0 ± 19.7	9.5 ± 1.9
Εντερικός αυλός	68 ± 7	nd	23.1 ± 3.4	418.0 ± 18.8	nd
Επιθήλιο	11 ± 3	nd	15.7 ± 4.4	226.2 ± 18.5	nd

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH; RP, αναγωγική δύναμη

Από τον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε ότι κατά τη διαδικασία της προσομοίωσης της πέψης το περιεχόμενο των φαινολικών ενώσεων παρουσίασε αύξηση από το στάδιο της μάσησης στο στάδιο της γαστρικής πέψης. Ανάλογα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και κατά την ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών.

Πίνακας 26. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας μαρμελάδας καρύδι με ψωμί

Μαρμελάδα καρύδι και ψωμί	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)
Μάσηση	15±5	nd	3.9±2.2	138.5 ± 8.4
Γαστρική	65±11	nd	7.6±2.3	439.0 ± 28.8
Εντερικός αυλός	110±18	nd	13.2±1.1	429.3 ± 92.0
Επιθήλιο	36±7	nd	0.8±0.2	241.5 ± 35.5

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH

Το βιοπροσβάσιμο περιεχόμενο των ολικών φαινολών φαίνεται ότι είναι μεγαλύτερο στο εντερικό επιθήλιο από την μαρμελάδα καρύδι χωρίς την προσθήκη ψωμιού, παρόλο το γεγονός ότι στα αρχικά στάδια της πέψης παρουσιάζει χαμηλότερη περιεκτικότητα. Αυτή η αύξηση πιθανόν να αποδίδεται στην συνεισφορά του ψωμιού ή και στις διαφορετικές

ποσότητες μαρμελάδας που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε περίπτωση. Ανάλογα είναι και τα αποτελέσματα κατά τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας.

6.2.4. Μαρμελάδα ελιά

Στους παρακάτω πίνακες αναλύεται το βιοπροσβάσιμο φαινολικό περιεχόμενο καθώς και η αντιοξειδωτική ικανότητα στην περίπτωση των μαρμελάδων ελιάς (Πίνακες 27-30).

Πίνακας 27. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας της εμπορικής μαρμελάδας ελιάς «2»

Μαρμελάδα Ελιά εμπορίου «2»	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*	
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)	RP (mg AscA/100g)
Μάσηση	8± 1	nd	0.9 ± 0.4	103.1 ± 7.5	1.3 ± 0.5
Γαστρική	16 ± 3	nd	1.9 ± 0.7	337.0 ± 18.3	1.4 ± 0.6
Εντερικός αυλός	31 ± 4	nd	6.1 ± 1.6	319.4 ± 15.8	nd
Επιθήλιο	nd	nd	0.6 ± 0.3	218.3 ± 16.9	nd

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH; RP, αναγωγική δύναμη

Πίνακας 28. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας εμπορικής μαρμελάδας ελιάς «2» με ψωμί

Μαρμελάδα ελιά εμπορίου «2» και ψωμί	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)
Μάσηση	3±1	tr	0.3 ± 0.1	124.3 ± 8.6
Γαστρική	15 ± 5	0.6 ± 0.3	2.4 ± 1.5	397.7 ± 16.8
Εντερικός αυλός	66±17	1.1 ± 0.4	4.5 ± 2.4	322.4 ± 71.0
Επιθήλιο	2±1	nd	0.2 ± 0.2	273.7 ± 18.4

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH

Κατά την προσθήκη ψωμιού στην εμπορική μαρμελάδα ελιά το βιοπροσβάσιμο περιεχόμενο ολικών φαινολών κατά την εντερική πέψη ήταν σχετικά αυξημένο.

Πίνακας 29. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας της εμπορικής μαρμελάδας ελιάς «1»

Μαρμελάδα Ελιά εμπορίου «1»	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)
Μάσηση	30± 6	nd	6.8 ± 1.2	156.5 ± 35.9
Γαστρική	57 ± 7	0.12 ± 0.09	15.6 ± 1.6	221.6 ± 16.8
Εντερικός αυλός	86 ± 24	nd	14.5 ± 4.0	86.7 ± 77.1
Επιθήλιο	nd	nd	0.7 ± 0.2	nd

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH; RP, αναγωγική δύναμη

Συγκριτικά με το φαινολικό περιεχόμενο του προϊόντος η βιοπροσβάσιμη ποσότητα πολικών φαινολών είναι πολύ χαμηλή.

Πίνακας 30. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας εμπορικής μαρμελάδας ελιάς «1» και ψωμί

Μαρμελάδα ελιά εμπορίου «1» και ψωμί	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)
Μάσηση	13± 1	nd	3.5 ± 1.4	187.5±3.7
Γαστρική	63±16	tr	4.9 ± 1.7	472.2±33.3
Εντερικός αυλός	87±12	0.24± 0.19	8.6 ± 2.9	382.6±21.2
Επιθήλιο	7 ± 2	nd	tr	249.1±42.4

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH

Τα αποτελέσματα σχετικά με το βιοπροσβάσιμο φαινολικό περιεχόμενο παρουσιάζει παρόμοια τάση με την μαρμελάδα καρύδι και με την εμπορική μαρμελάδα ελιά «2». Και σε αυτή την περίπτωση επομένως, παρότι στα αρχικά στάδια της πέψης το απορροφήσιμο φαινολικό περιεχόμενο είναι χαμηλότερο σε σχέση με τις αντίστοιχες αυτούσιες μαρμελάδες, στην πορεία κατά την απορρόφηση στο εντερικό αυλό η περιεκτικότητα αυξάνεται. Στον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας η ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών είναι υψηλή σε όλα τα στάδια.

6.2.5. Γλυκά κουταλιού

Στους πίνακες 31-33 περιγράφεται το βιοπροσβάσιμο φαινολικό περιεχόμενο των γλυκών κουταλιού.

Πίνακας 31. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας γλυκό κουταλιού ελιά «1»

Γλυκό κουταλιού Ελιά εμπορίου «1»	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*	
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)	RP (mg AscA/100g)
Μάσηση	19± 2	23.7 ± 18.8	6.6 ± 0.1	176.7 ± 12.5	2.3 ± 0.4
Γαστρική	34 ± 3	nd	10.1 ± 1.8	418.2 ± 9.0	5.6 ± 0.3
Εντερικός αυλός	51 ± 9	nd	35.5 ± 6.5	411.7 ± 20.7	1.8 ± 0.2
Επιθήλιο	3 ± 2	nd	14.8 ± 3.3	305.1 ± 88.6	nd

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH; RP, αναγωγική δύναμη

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα, στο εμπορικό γλυκό κουταλιού ελιά «1» η ποσότητα βιοπροσβάσιμων ολικών φαινολών ήταν σημαντικά μικρότερη από το προσδιοριζόμενο περιεχόμενο του προϊόντος. Σε όλα τα στάδια της πέψης προσδιορίστηκε υψηλή ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών.

Πίνακας 32. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας γλυκό κουταλιού ελιά «2»

Γλυκό κουταλιού ελιά εμπορίου «2»	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*	
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)	RP (mg AscA/100g)
Μάσηση	11± 2	nd	3.3± 1.5	148.5 ± 13.2	3.0± 0.5
Γαστρική	29 ± 4	nd	5.6 ± 2.2	424.2 ± 12.5	4.4 ± 1.1
Εντερικός αυλός	40 ± 2	nd	59.2 ± 23.3	355.7 ± 18.1	tr
Επιθήλιο	8 ± 4	nd	15.0 ± 2.6	247.4 ± 14.3	1.5 ± 1.0

GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH; RP, αναγωγική δύναμη

Τέλος, σύμφωνα με τα αποτελέσματα για τον προσδιορισμό του φαινολικού περιεχομένου η απορρόφηση στο επιθήλιο για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ήταν στα

ίδια επίπεδα με το εμπορικό γλυκό κουταλιού ελιά «1» (8±4 mg GAE/100g). Κατά τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης μέσω της αναγωγικής δύναμης στο επιθήλιο υπήρξε απορρόφηση.

Πίνακας 33. Αποτελέσματα φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας γλυκό κουταλιού καρύδι

Γλυκό κουταλιού καρύδι	*Φαινολικό Περιεχόμενο*			*Αντιοξειδωτική δράση in vitro*	
Στάδιο πέψης in vitro	Ολικές φαινόλες (mg GAE/100g)	Ολικές Φλαβανόλες (mg CE/100g)	Ολικές φλαβόνες (mg RE/100 g)	FRS (μmol Trolox/100g)	RP (mg AscA/100g)
Μάσηση	28± 3	nd	5.4± 2.7	211.9 ± 8.2	3.3± 0.2
Γαστρική	46 ± 7	nd	5.1 ± 1.3	409.5 ± 11.1	6.2 ± 0.6
Εντερικός αυλός	55 ± 5	nd	11.2 ± 4.9	384.7 ± 25.2	nd
Επιθήλιο	8 ± 2	nd	2.1 ± 1.1	229.9 ± 18.9	tr

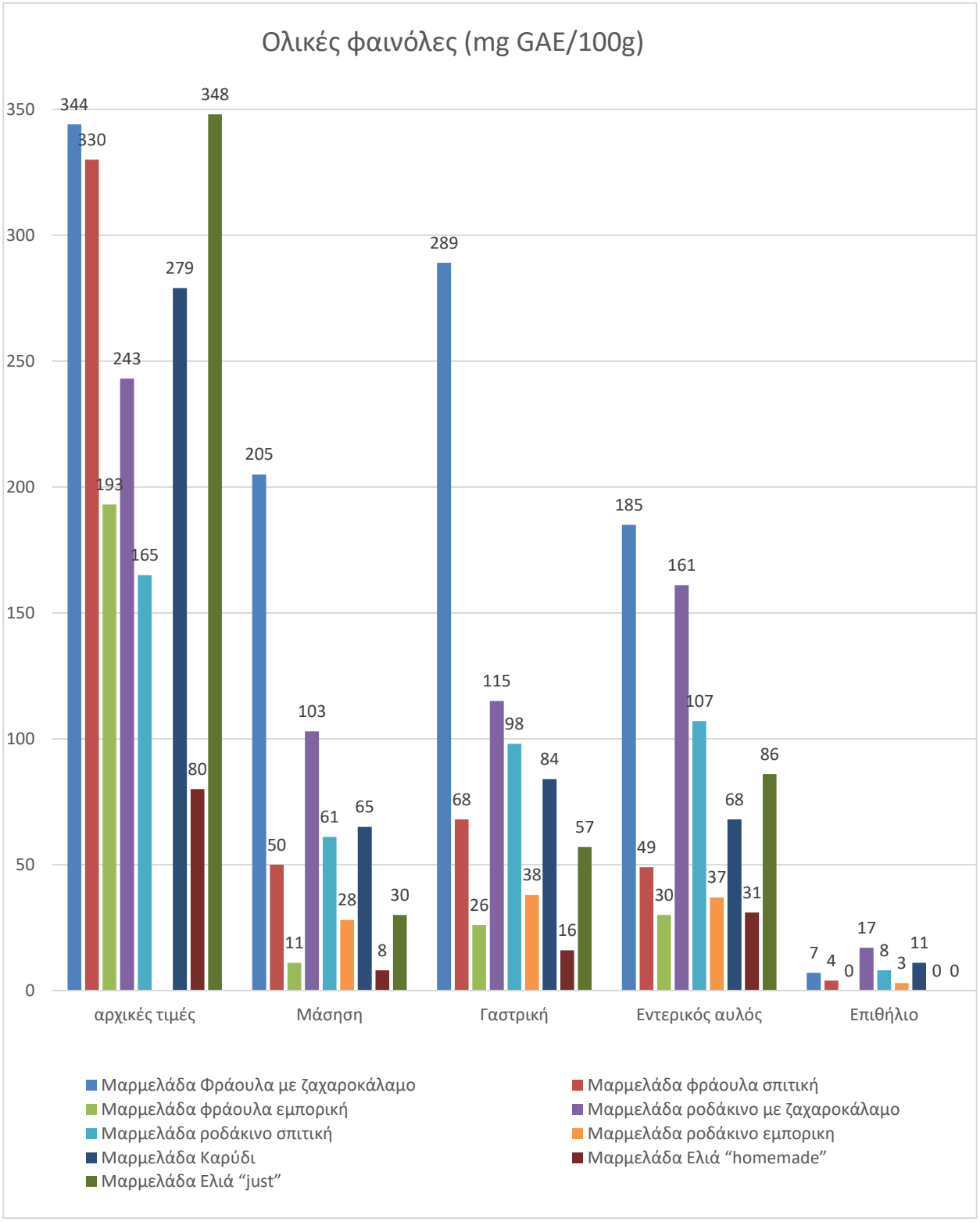
GAE, ισοδύναμα γαλλικού οξέος; CE, ισοδύναμα κατεχίνης; RE, ισοδύναμα ρουτίνης; FRS, ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH; RP, αναγωγική δύναμη

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που φαίνονται στον παραπάνω πίνακα η βιοπροσβάσιμη περιεκτικότητα των ολικών φαινολών ήταν χαμηλή σε όλα τα στάδια της πέψης. Παρόλο της χαμηλής συγκέντρωσης υπήρξε πρόσβαση στο εντερικό επιθήλιο τόσο στην περίπτωση των ολικών φαινολών όσο και των ολικών φλαβονών.

6.2.6. Συγκριτικά διαγράμματα βιοπροσβάσιμων ολικών φαινολών από μαρμελάδες

Στα γραφήματα που ακολουθούν παρουσιάζονται συγκεντρωτικά οι βιοπροσβάσιμες ποσότητες ολικών φαινολών για όλες τις μαρμελάδες καθώς και η περιεκτικότητα των φαινολικών ενώσεων έπειτα από εκχυλίσεις των αρχικών δειγμάτων κάθε μαρμελάδας.

Γράφημα 1. Ολικές φαινόλες μαρμελάδων κατά τα διάφορα στάδια της πέψης

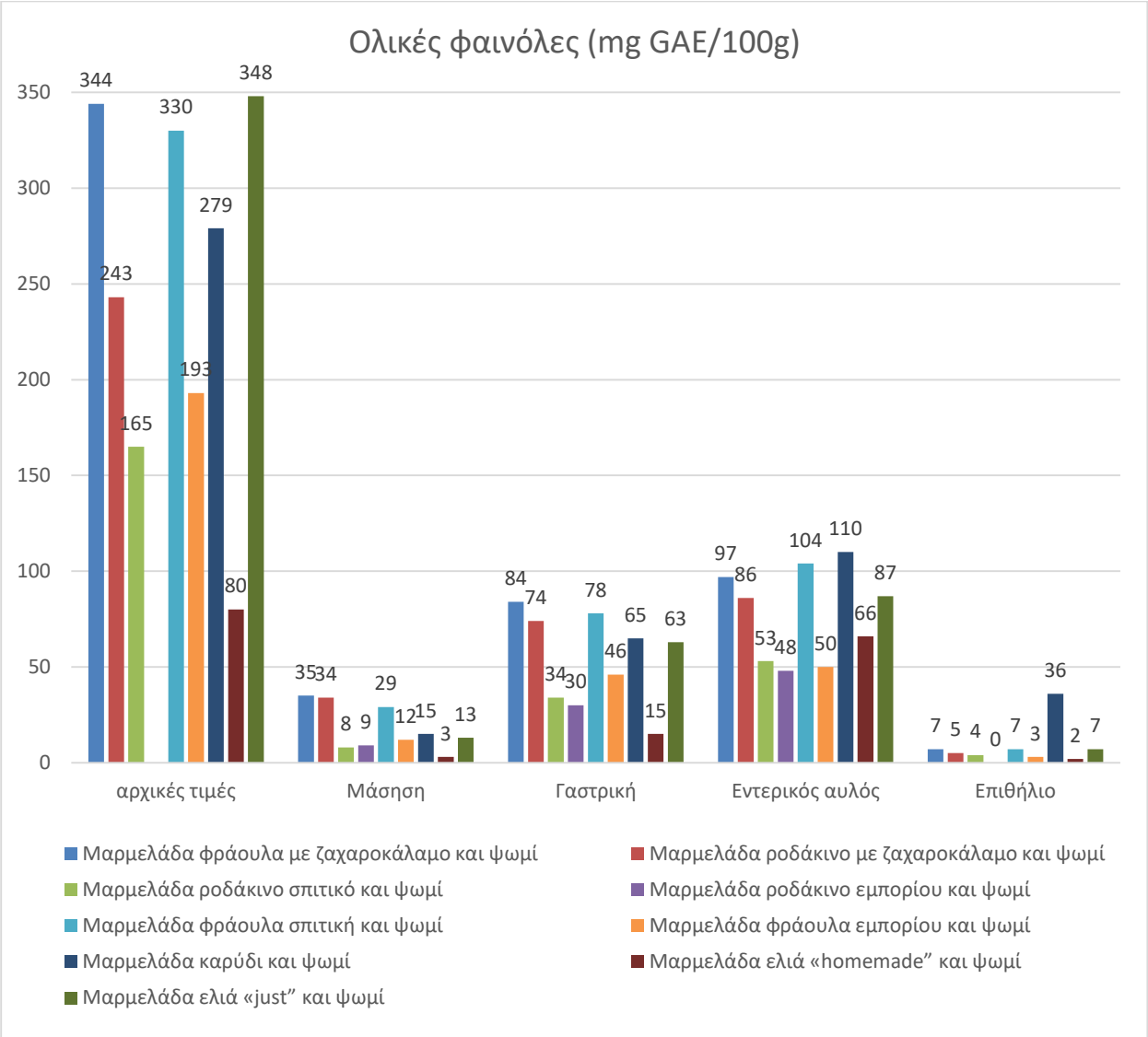


Αναφορικά με τις μαρμελάδες, όπως φαίνεται από το παραπάνω γράφημα εκείνη που φαίνεται να έχει μεγαλύτερη απόδοση στο στάδιο της μάσησης είναι η μαρμελάδα φράουλα με ζαχαροκάλαμο, όπως και στη γαστρική πέψη. Στο τελικό στάδιο της πέψης η μεγαλύτερη βιοπροσβάσιμη περιεκτικότητα στο εντερικό επιθήλιο εντοπίστηκε στη μαρμελάδα ροδάκινο με ζαχαροκάλαμο (17 mg GAE/100g) και έπειτα ακολούθησε η

μαρμελάδα καρύδι (11 mg GAE/100g). Στον εντερικό αυλό η μαρμελάδα φράουλα και ροδάκινο με ζαχαροκάλαμο εμφάνισαν την υψηλότερη βιοπροσβάσιμη περιεκτικότητα ολικών φαινολών.

6.2.7. Συγκριτικά διαγράμματα βιοπροσβάσιμων ολικών φαινολών από μαρμελάδες με ψωμί

Γράφημα 2. Ολικές φαινόλες μαρμελάδων κατά τα διάφορα στάδια της πέψης μαρμελάδων με ψωμί



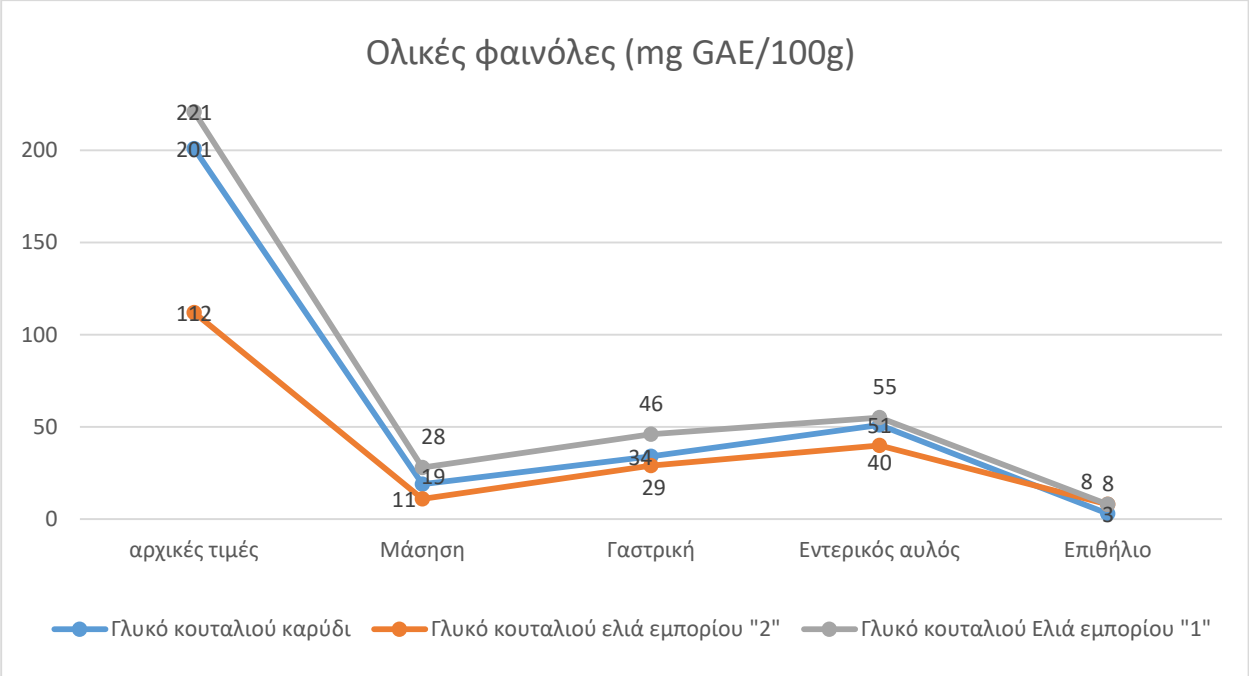
Όπως φαίνεται και από το παραπάνω γράφημα στο πρώτο στάδιο, της μάσησης, οι μαρμελάδες που φαίνεται να εμφανίζουν τη μεγαλύτερη βιοπροσβάσιμη περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες είναι η μαρμελάδα φράουλα με ζαχαροκάλαμο, η μαρμελάδα ροδάκινο με ζαχαροκάλαμο και η σπιτική μαρμελάδα ροδάκινο. Μεταβαίνοντας στο επόμενο στάδιο της πέψης, στη γαστρική, εκείνη που υπερτερεί αναφορικά με το ολικό φαινολικό

περιεχόμενο είναι η μαρμελάδα φράουλα με ζαχαροκάλαμο και ακολουθεί η σπιτική μαρμελάδα φράουλα. Τελικά, ωστόσο, τη μεγαλύτερη απορρόφηση από το εντερικό επιθήλιο τη συναντάμε στη μαρμελάδα καρύδι με ψωμί (26 mg GAE/100g).

6.2.8. Συγκριτικά διαγράμματα βιοπροσβάσιμων ολικών φαινολών σε γλυκά κουταλιού

Στο παρακάτω γράφημα αποτυπώνεται η βιοπροσβάσιμη περιεκτικότητα ολικών φαινολών στα γλυκά του κουταλιού.

Γράφημα 3. Ολικές φαινόλες γλυκών κουταλιού κατά τα διάφορα στάδια της πέψης



Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του παραπάνω γραφήματος, αναφορικά με το ολικό φαινολικό περιεχόμενο το γλυκό κουταλιού καρύδι παρουσίασε την υψηλότερη απορρόφηση σε όλα τα στάδια της πέψης (μάσησης, γαστρικής, εντερικής πέψης). Ωστόσο δεν υπήρχαν μεγάλες διαφορές στο τελικό στάδιο της πέψης καθώς το γλυκό κουταλιού καρύδι και το γλυκό κουταλιού ελιά εμπορίου «2» είχαν την ίδια απορρόφηση στο εντερικό επιθήλιο (8 mg GAE/100 g).

Κεφάλαιο 7ο

Συμπεράσματα/ Συζήτηση

Με βάση τη βιβλιογραφία οι μελέτες που αναφέρονται στη βιοπροσβασιμότητα πολικών φαινολών μαρμελάδων είναι λιγοστές (Tomas *et al.,* 2016; Kamiloglu *et al*., 2015), ενώ η βιβλιογραφική αναζήτηση δεν ανέδειξε παρόμοιες μελέτες για τα γλυκά του κουταλιού. Στο πλαίσιο αυτό η παρούσα μελέτη παρουσιάζει πρωτοτυπία ενώ παράλληλα αναφέρεται σε παραδοσιακά ελληνικά προϊόντα τα οποία εν δυνάμει έχουν διατροφική αξία υπό συνθήκες.

Επί συνόλου από τη μελέτη αυτή αναδείχθηκαν τα ακόλουθα:

ο Από όλα τα προϊόντα που μελετήθηκαν οι φαινολικές ενώσεις είναι βιοπροσβάσιμες στα διάφορα στάδια της πέψης. Η μεγαλύτερη διαθεσιμότητα φαινολικών ενώσεων παρουσιάζεται στη φάση της γαστρικής πέψης.

ο Η ποσότητα των ολικών πολικών φαινολών που διέρχονται δια του μιμητή εντερικού επιθηλίου είναι μικρή σε όλες τις περιπτώσεις, συγκριτικά με το περιεχόμενο του προϊόντος. Βέβαια αξίζει να σημειωθεί ότι οι τοπικές δράσεις των πολικών φαινολών στο γαστρεντερικό αυλό είναι ιδιαίτερης σημασίας για την υγεία του ανθρώπου. Επιπρόσθετα πολικές φαινόλες μπορεί υπό φυσιολογικές συνθήκες να διέρχονται δια του εντερικού επιθηλίου μέσω μεταφορέων σακχάρων αυξάνοντας πιθανά τη βιοδιαθεσιμότητα αυτού.

ο Συγκριτικά οι μαρμελάδες ελιάς που αναλύθηκαν φάνηκαν να αποδίδουν αντίστοιχα ποσά πολικών φαινολών κατά την *in vitro* πέψη με τα γλυκά κουταλιού. Στην περίπτωση της μαρμελάδας καρυδιού η απόδοση ήταν μεγαλύτερη από αυτή του γλυκού κουταλιού κατά τα στάδια της μάσησης και γαστρικής πέψης.

ο Η κατανάλωση μαρμελάδας με ψωμί επηρεάζει αρνητικά τη βιοπροσβασιμότητα των πολικών φαινολών στην περίπτωση της μαρμελάδας ροδάκινου ενώ στις περιπτώσεις μαρμελάδων ελιάς και καρυδιού δεν φαίνεται να έχει αντίκτυπο.

ο Εν γένει σε όλες τις περιπτώσεις οι διαθέσιμες προς απορρόφηση πολικές φαινόλες ήταν ποσοτικά χαμηλότερες συγκριτικά με την περιεκτικότητα του αρχικού προϊόντος σε όλα τα στάδια της πέψης. Κάτι τέτοιο μπορεί πιθανά να αποδοθεί στη θερμική επεξεργασία που έχει υποστεί το τρόφιμο η οποία έχει επηρεάσει την κυτταρική

ακεραιότητα και τις φυσικοχημικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μακροσυστατικών των τροφίμων και των πολικών φαινολών με αποτέλεσμα οι εκχυλιζόμενες φαινολικές ενώσεις στο αρχικό προϊόν να είναι πλήρως διαθέσιμες.

Βιβλιογραφία

Aguilera, Y., Martin-Cabrejas, M. A., & González de Mejia, E. (2015). Phenolic compounds in fruits and beverages consumed as part of the mediterranean diet: their role in prevention of chronic diseases. Phytochemistry Reviews, 15(3), 405–423. doi:10.1007/s11101-015-9443-z

Andersen, Ø. M., & Markham, K. R. (2007). Flavonoids, Chemistry, Biochemistry and Applications. J. Nat. Prod., 70 (1), 140–140.

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, 655–665.

Augustin, S. & Gary, W. (2000). Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. The Journal of Nutrition, 130, 8, 2073S–2085S.

Baker, R. A., Berry, N., Hui, Y.H., & Barrett, D. M. (2005) “Fruit Preserves and Jams” in “Processing Fruits, Science and Technology”Second Edition, Copyright by CRC Press LLC

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

Banaś, A., Korus, A., & Tabaszewska, M. (2017). Quality assessment of low-sugar jams enriched with plant raw materials exhibiting health-promoting properties. Journal of Food Science and Technology, 55(1), 408–417. doi:10.1007/s13197-017-2952-6

Benincasa, P., Galieni, A., Manetta, A. C., Pace, R., Guiducci, M., Pisante, M., & Stagnari, F. (2014). Phenolic compounds in grains, sprouts and wheatgrass of hulled and non-hulled wheat species. Journal of the Science of Food and Agriculture, 95(9), 1795–1803. doi:10.1002/jsfa.6877

Bertelli, A. A. A., & Das, D. K. (2009). Grapes, Wines, Resveratrol, and Heart Health. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 54(6), 468–476. doi:10.1097/fjc.0b013e3181bfaff3

Bianchi, S., Kroslakova, I. & Mayer, I. (2016). Determination of Molecular Structures of Condensed Tannins from Plant Tissues Using HPLC-UV Combined with Thiolysis and MALDI-TOF Mass Spectrometry. Bio-protocol, 6(20), e1975

Bohn, T. (2014). Dietary factors affecting polyphenol bioavailability. Nutrition Reviews, 72(7), 429–452. doi:10.1111/nure.12114

Boivin, D., Lamy, S., Lord-Dufour, S., Jackson, J., Beaulieu, E., Côté, M., Moghrabi, A., Barrette, S., Gingras, D. & Béliveau, R. (2009). Antiproliferative and antioxidant activities of common vegetables: A comparative study. Food Chemistry, 112, 374–380.

Bonetti, F., Brombo, G., & Zuliani, G. (2017). Nootropics, Functional Foods, and Dietary Patterns for Prevention of Cognitive Decline. Nutrition and Functional Foods for Healthy Aging, 211–232. doi:10.1016/b978-0-12-805376-8.00019-8

Boskou, G., Salta, F. N., Chrysostomou, S., Mylona, A., Chiou, A. & Andrikopoulos, N. K. (2006). Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market. Food Chemistry, 94(4), 558–564. doi:10.1016/j.foodchem.2004.12.005

Cao, H., Ou, J., Chen, L., Zhang, Y., Szkudelski, T., Delmas, D., Daglia, M. & Xiao, J. Dietary polyphenols and type 2 diabetes: Human study and clinical trials. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1-19.

Castelli, V., Grassi, D., Bocale, R., d' Angelo, M., Antonosante, A., Cimini, A., Desideri, G. (2018). Diet and Brain Health: Which Role for Polyphenols? Current Pharmaceutical Design, 24(2), 227–238. doi:10.2174/1381612824666171213100 4

Chiou A., Panagopoulou E. Karathanos V., Anthocyanins and other flavonoids in dried fruits of the Mediterranean area (2015), Handbook of Anthocyanins (Editor: Leah M. Warner) Chapter 15

Chiou, A., Karathanos, V. T., Mylona, A., Salta, F. N., Preventi, F. & Andrikopoulos, N. K. (2007). Currants (Vitis vinifera L.) content of simple phenolics and antioxidant activity. Food Chemistry, 102, 516–522.

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.

CODEX STAN 296, Codex Standard For Jams, Jellies, and Marmalades. (2009) (CODEX STAN 296-2009)

Cvek, J., Medić-Šarić, M., Jasprica I., Zubčić, S., Vitali, D., Mornar, A., Vedrina-Dragojević, I., Tomić, S. (2007). Optimisation of an extract procedure and chemical characterisation of Croatian propolis tinctures. Phytochemical Analysis, 18, 451-459.

D'Archivio, M., Filesi, C., Varì, R., Scazzocchio, B., & Masella, R. (2010). Bioavailability of the Polyphenols: Status and Controversies. International Journal of Molecular Sciences, 11(4), 1321–1342. doi:10.3390/ijms11041321

Da Silva Pinto, M., Lajolo, F. M., & Genovese, M. I. (2007). Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Strawberry Jams. Plant Foods for Human Nutrition, 62(3), 127–131. doi:10.1007/s11130-007-0052-x

Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P. E., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. (2013). Dietary (Poly) phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases. Antioxidants & Redox Signaling, 18(14), 1818–1892. doi:10.1089/ars.2012.4581

Desch, S., Kobler, D., Schmidt, J., Sonnabend, M., Adams, V., Sareban, M., Eitel I., Blüher, M., Schuler, G., & Thiele, H. (2010). Low vs. Higher-Dose Dark Chocolate and Blood Pressure in Cardiovascular High-Risk Patients. American Journal of Hypertension, 23(6), 694–700. doi:10.1038/ajh.2010.29

Devore, E. E., Kang, J. H., Breteler, M. M. B., & Grodstein, F. (2012). Dietary intakes of berries and flavonoids in relation to cognitive decline. Annals of Neurology, 72(1), 135–143. doi:10.1002/ana.23594.

Dohadwala, M. M. & Vita, J. A. (2009). Grapes and cardiovascular disease. J Nutr. 139 (9), 1788S-93S

Dragovic-Uzelac, V., Delonga, K., Levaj, B., Djakovic, S., & Pospisil, J. (2005). Phenolic Profiles of Raw Apricots, Pumpkins, and Their Purees in the Evaluation of Apricot Nectar and Jam Authenticity, J. Agric. Food Chem., 53 (12), 4836–4842.

Drogoudi P. , Gerasopoulos D. , Kafkaletou M. & Tsantili, E. (2017). Phenotypic characterization of qualitative parameters and antioxidant contents in peach and

nectarine fruit and changes after jam preparation. Journal of the Science of Food and Agriculture, 97(10), 3374–3383. doi:10.1002/jsfa.8188

Drogoudi, P., Gerasopoulos, D., Kafkaletou, M.

Eurostat. The fruit and vegetable sector in the EU - a statistical overview. Προσπελάστηκε στις 1 Σεπτεμβρίου, 2018, από: https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/The_fruit_and_vegetable_sector_in_the_EU_-_a_statistical_overview

Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I. & Pérez-Gálvez, A. (2009). In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. Nutrition Research, 29, 751–760.

Francis, S. T., Head, K., Morris, P. G., & Macdonald, I. A. (2006). The Effect of Flavanol-rich Cocoa on the fMRI Response to a Cognitive Task in Healthy Young People. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 47(Supplement 2), S215–S220. doi:10.1097/00005344-200606001-00018

Galleano, M., Oteiza, P. I. & Fraga, C. G. (2009). Cocoa, Chocolate, and Cardiovascular Disease. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 54(6), 483–490. doi:10.1097/fjc.0b013e3181b76787

Garcia-Vigueral, C., Bridle, P., Ferreres, F. & Tomas-Barberan, F.A. (1994). Influence of variety, maturity and processing on phenolic compounds of apricot juices and jams. Z Lebensm Unters Forsch. 199, 433-436.

Goleniowski, M., Bonfill, M., Cusido, R., & Palazo´n J., Natural Products, Phenolic Acids, 1952-1968.

Gresele, P., Cerletti, C., Guglielmini, G., Pignatelli, P., de Gaetano, G., & Violi, F. (2011). Effects of resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: an update. The Journal of Nutritional Biochemistry, 22(3), 201–211. doi:10.1016/j.jnutbio.2010.07.004

Grosso, G., Micek, A., Castellano, S., Pajak, A., & Galvano, F. (2015). Coffee, tea, caffeine and risk of depression: A systematic review and dose-response meta-analysis of observational studies. Molecular Nutrition & Food Research, 60(1), 223–234. doi:10.1002/mnfr.201500620

Groteworld, Erich (2006), The Science of Flavonoids. Springer.

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 & Technology, 47(10), 2023–2044. doi:10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x

Harborne J.B. (1980). Plant phenolics. In: Secondary Plant Products, pp. 329–402. Eds. Bell E.A. and Charlwood B.V. Springer-Verlag, Berlin

Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry, 55(6), 481–504. doi:10.1016/s0031-9422(00)00235-1

Hedren, E., Mulokozi, G. & Svanberg, U. (2002). In vitro accessibility of carotenes from green leafy vegetables cooked with sunflower oil or red palm oil. International Journal of Food Science and Nutrition, 53, 445-453

Hollman, P. C., & Arts, I. C. (2000). Flavonols, flavones and flavanols - nature, occurrence and dietary burden. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80(7), 1081–1093. doi:10.1002/(sici)1097-0010(20000515)80:7<1081::aid-jsfa566>3.0.co;2-g

Howard, L. R., Castrodale, C., Brownmiller, C., & Mauromoustakos, A. (2010). Jam Processing and Storage Effects on Blueberry Polyphenolics and Antioxidant Capacity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(7), 4022–4029. doi:10.1021/jf902850h

Iriti, M., & Varoni, E. M. (2016). Commentary: Are the proposed benefits of melatonin-rich foods too hard to swallow? Frontiers in Nutrition, 3. doi:10.3389/fnut.2016.00002

Ismail, A., Marjan, Z., & Foong, C. (2004). Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. Food Chemistry, 87(4), 581–586. doi:10.1016/j.foodchem.2004.01.010

Istrati, D., Vizireanu, C., Iordachescu, G., Dima, F. & Garnai, M. (2013). Physico-Chemical Characteristics And Antioxidant Activity Of Goji Fruits Jam And Jelly During Storage. Food Technology, 37(2), 100-110.

Jaganath, I. B., & Crozier, A. (2010). Dietary Flavonoids and Phenolic Compounds. Plant Phenolics and Human Health, 1–49. doi:10.1002/9780470531792.ch1

Janick, J. (2005). The origin of fruits, fruit growing, and fruit breeding. Plant Breeding Review, 25, 255-320.

Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R. & He, X. (2014). Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. J Pharm Pharmacol. 2, 377–392.

Kalogeropoulos, N., Chiou, A., Ioannou, M., Karathanos, V. T., Hassapidou, M., & Andrikopoulos, N. K. (2010). Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries. Food Chemistry, 121(3), 682–690. doi:10.1016/j.foodchem.2010.01.005

Kalogeropoulos, N., Chiou, A., Kaliora, A. C., Karathanos, V. T., & Andrikopoulos, N. K. (2012). Beyond Olive Oil: Active Components and Health Aspects of Some Less Studied Mediterranean Plant Products. Emerging Trends in Dietary Components for Preventing and Combating Disease, 237–261. doi:10.1021/bk-2012-1093.ch013

Kamiloglu, S., Pasli, A. A., Ozcelik, B., Van Camp, J., & Capanoglu, E. (2015). Influence of different processing and storage conditions on in vitro bioaccessibility of polyphenols in black carrot jams and marmalades. Food Chemistry, 186, 74–82. doi:10.1016/j.foodchem.2014.12.046

Krikorian, R., Shidler, M. D., Nash, T. A., Kalt, W., Vinqvist-Tymchuk, M. R., Shukitt-Hale, B., & Joseph, J. A. (2010). Blueberry Supplementation Improves Memory in Older Adults. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(7), 3996–4000. doi:10.1021/jf9029332

Leopoldo, G.-C., Santiago, F.-K., Arturo, B.-P. L., Norma, G.-V., & Aurea, B.-N. (2011). Carotenoid Content, Antioxidant Activity And Sensory Evaluation Of Low-Calorie Nopal (Opuntia Ficus-Indica) Marmalade. Journal of Food Processing and Preservation, 36(3), 267–275. doi:10.1111/j.1745-4549.2011.00589.x

Lindsay, J., Laurin, D., Verreault, R., Hébert, R., Helliwell, B., Hill, G. B. & McDowell, I. (2002). Risk Factors for Alzheimer's Disease: A Prospective Analysis from the Canadian Study of Health and Aging, American Journal of Epidemiology, 156(5), 445–453. doi:10.1093/aje/kwf074

Liu, Y.-J., Zhan, J., Liu, X.-L., Wang, Y., Ji, J., & He, Q.-Q. (2014). Dietary flavonoids intake and risk of type 2 diabetes: A meta-analysis of prospective cohort studies. Clinical Nutrition, 33(1), 59–63. doi:10.1016/j.clnu.2013.03.011

Magalhães, S. C. Q., Taveira, M., Cabrita, A. R. J., Fonseca, A. J. M., Valentão, P., & Andrade, P. B. (2017). European marketable grain legume seeds: Further insight into phenolic compounds profiles. Food Chemistry, 215, 177–184. doi:10.1016/j.foodchem.2016.07.152

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.

Malerba, S., Turati, F., Galeone, C., Pelucchi, C., Verga, F., La Vecchia, C., Tavani, A. (2013). A meta-analysis of prospective studies of coffee consumption and mortality for all causes, cancers and cardiovascular diseases. European Journal of Epidemiology. 28:527-53.

Mazur, W. (1998). Phytoestrogen content in foods. Baillière's Clin Endocrinol Metab, 12, 729–742.

McDougall, G.J., Dobson, P., Smith, P., Blake, A., & Stewart, D. (2005). Assessing potential bioavailability of raspberry anthocyanins using an in vitro digestion system. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 5896-5904.

Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Balance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D. J., Ménard, O., Recio, I., Santos, C. N., Singh, R. P., Vegarud, G. E., Wickham, M. S., Weitschies, W., & Brodkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. Food Funct., 5(6), 1113–1124. doi:10.1039/c3fo60702j

Mullen, W., Marks, S. C., & Crozier, A. (2007). Evaluation of Phenolic Compounds in Commercial Fruit Juices and Fruit Drinks. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55(8), 3148–3157. doi:10.1021/jf062970x

Nađpal, J. D., Lesjak, M. M., Šibul, F. S., Anačkov, G. T., Četojević-Simin, D. D., Mimica-Dukić, N. M., & Beara, I. N. (2016). Comparative study of biological activities and phytochemical composition of two rose hips and their preserves: Rosa canina L. and Rosa arvensis Huds. Food Chemistry, 192, 907–914. doi:10.1016/j.foodchem.2015.07.089

Nagel, C. W., & Glories, Y. (1991). Use of a modified dimethylaminocinnamaldehyde reagent for analysis of flavanols. American Journal of Enology and Viticulture, 42, 364–366

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. Journal of Food Science, 76(1), R6–R15. doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01957.x

Panagopoulou, E. A., Chiou, A., Nikolidaki, E. K., Christea, M., & Karathanos, V. T. (2018). Corinthian Raisins (Vitis Vinifera L., var. Apyrena) antioxidant and sugar content as affected by the drying process: a three-year study. Journal of the Science of Food and Agriculture. doi:10.1002/jsfa.9263

Patras, A., Brunton, N. P., Tiwari, B. K., & Butler, F. (2009). Stability and Degradation Kinetics of Bioactive Compounds and Colour in Strawberry Jam during Storage. Food and Bioprocess Technology, 4(7), 1245–1252. doi:10.1007/s11947-009-0226-7

Plessi, M., Bertelli, D., & Albasini, A. (2007). Distribution of metals and phenolic compounds as a criterion to evaluate variety of berries and related jams. Food Chemistry, 100(1), 419–427. doi:10.1016/j.foodchem.2005.09.018

Poiana, M.-A., Alexa, E., & Mateescu, C. (2012). Tracking antioxidant properties and color changes in low-sugar bilberry jam as effect of processing, storage and pectin concentration. Chemistry Central Journal, 6(1). doi:10.1186/1752-153x-6-4

Prolepsis. Ευ Δια...Τροφήν, Εθνικός Διατροφικός Οδηγός, Διατροφικές Συστάσεις, φρούτα, Προσπελάστηκε στις 1 Σεπτεμβρίου, 2018, από: http://www.diatrofikoiodigoi.gr/?page=diatrofikes-sistaseis

Promising EU Export Markets for Jam and Purees ", CBI Market Information Database, www.cbi.eu

Rababah, T. M., Al-Mahasneh, M. A., Kilani, I., Yang, W., Alhamad, M. N., Ereifej, K., & Al-u 'datt, M. (2011). Effect of jam processing and storage on total phenolics, antioxidant activity, and anthocyanins of different fruits. Journal of the Science of Food and Agriculture, 91(6), 1096–1102. doi:10.1002/jsfa.4289

Rababah, T. M., Al-u 'datt, M., Almajwal, A., Brewer, S., Feng, H., Al-Mahasneh, M., Ereife, K., & Yang, W. (2012). Evaluation of the Nutraceutical, Physiochemical and Sensory Properties of Raisin Jam. Journal of Food Science, 77(6), C609–C613. doi:10.1111/j.1750-3841.2012.02708.x

Reis Giada, M. de L. (2013). Food Phenolic Compounds: Main Classes, Sources and Their Antioxidant Power. Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants. doi:10.5772/51687

Rimbach, G., Boesch-Saadatmandi, C., Frank, J., Fuchs, D., Wenzel, U., Daniel, H., Hall, W. L., & Weinberg, P. D. (2008). Dietary isoflavones in the prevention of cardiovascular disease – A molecular perspective. Food and Chemical Toxicology, 46(4), 1308–1319. doi:10.1016/j.fct.2007.06.029

Rodriguez-Mateos, A., Pino-García, R. D., George, T. W., Vidal-Diez, A., Heiss, C., & Spencer, J. P. E. (2014). Impact of processing on the bioavailability and vascular effects of blueberry (poly) phenols. Molecular Nutrition & Food Research, 58(10), 1952–1961. doi:10.1002/mnfr.201400231

Rosa, A., Atzeri, A., Deiana, M., Scano, P., Incani, A., Piras, C., & Cesare Marincola, F. (2015). Comparative antioxidant activity and 1H NMR profiling of Mediterranean fruit products. Food Research International, 69, 322–330. doi:10.1016/j.foodres.2015.01.001

Sagdic, O., Toker, O. S., Polat, B., Arici, M., & Yilmaz, M. T. (2015). Bioactive and rheological properties of rose hip marmalade. Journal of Food Science and Technology, 52(10), 6465–6474. doi:10.1007/s13197-015-1753-z

Saxena, M., Saxena, J., & Pradhan, A. (2012). Flavonoids And Phenolic Acids As Antioxidants In Plants And Human Health, Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., 16(2), 130-134.

Setchell, K. D. R., & Cassidy, A. (1999). Dietary Isoflavones: Biological Effects and Relevance to Human Health. The Journal of Nutrition, 129(3), 758S–767S. doi:10.1093/jn/129.3.758s

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., & 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

Sicari, V., Pellicanò, T. M., Laganà, V., & Poiana, M. (2017). Use of orange by-products (dry peel) as an alternative gelling agent for marmalade production: Evaluation of antioxidant activity and inhibition of HMF formation during different storage temperature. Journal of Food Processing and Preservation, 42(2), e13429. doi:10.1111/jfpp.13429

Silva, B. M., Andrade, P. B., Mendes, G. C., Valentão, P., Seabra, R. M., & Ferreira, M. A. (2000). Analysis of Phenolic Compounds in the Evaluation of Commercial Quince Jam Authenticity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(7), 2853–2857. doi:10.1021/jf9911040

Silva, B. M., Andrade, P. B., Valentão, P., Ferreres, F., Seabra, R. M., & Ferreira, M. A. (2004). Quince (Cydonia oblongaMiller) Fruit (Pulp, Peel, and Seed) and Jam: Antioxidant Activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(15), 4705–4712. doi:10.1021/jf040057v

Song, Y., Manson, J. E., Buring, J. E., Sesso, H. D., & Liu, S. (2005). Associations of Dietary Flavonoids with Risk of Type 2 Diabetes, and Markers of Insulin Resistance and Systemic Inflammation in Women: A Prospective Study and Cross-Sectional Analysis. Journal of the American College of Nutrition, 24(5), 376–384. doi:10.1080/07315724.2005.10719488

Sun, C.-L., Yuan, J.-M., Koh, W.-P., & Yu, M. C. (2005). Green tea, black tea and breast cancer risk: a meta-analysis of epidemiological studies. Carcinogenesis, 27(7), 1310–1315. doi:10.1093/carcin/bgi276

Świeca, M., Gawlik-Dziki, U., Dziki, D., & Baraniak, B. (2017). Wheat bread enriched with green coffee – In vitro bioaccessibility and bioavailability of phenolics and antioxidant activity. Food Chemistry, 221, 1451–1457. doi:10.1016/j.foodchem.2016.11.006

Tamer, C. E. (2011). A Research On Raspberry And Blackberry Marmalades Produced From Different Cultivars. Journal of Food Processing and Preservation, 36(1), 74–80. doi:10.1111/j.1745-4549.2011.00573.x

Tomas, M., Toydemir, G., Boyacioglu, D., Hall, R. D., Beekwilder, J., & Capanoglu, E. (2017). Processing black mulberry into jam: effects on antioxidant potential and in vitro bioaccessibility. Journal of the Science of Food and Agriculture, 97(10), 3106–3113. doi:10.1002/jsfa.8152

Toussaint-Samat, M. (1994). A history of food. Wiley.

Tuck, K. L., & Hayball, P. J. (2002). Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. The Journal of Nutritional Biochemistry, 13(11), 636–644. doi:10.1016/s0955-2863(02)00229-2

U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. (2011). USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods, Release 3.0. Nutrient Data Laboratory Home Page: http://www.ars.usda.gov/nutrientdata/flav

Van Dam, R. M., Naidoo, N., & Landberg, R. (2013). Dietary flavonoids and the development of type 2 diabetes and cardiovascular diseases. Current Opinion in Lipidology, 24(1), 25–33. doi:10.1097/mol.0b013e32835bcdff

Vassallo, N., & Scerri, C. (2013). Mediterranean diet and dementia of the Alzheimer type. Current Aging Science, 6, (2), 150-162.

Velderrain-Rodríguez, G. R., Palafox-Carlos, H., Wall-Medrano, A., Ayala-Zavala, J. F., Chen, C.-Y. O., Robles-Sánchez, M. & González-Aguilar, G. A. (2014). Phenolic compounds: their journey after intake. Food Funct. 5(2), 189–197. doi:10.1039/c3fo60361j

Vermerris W., & Nicholson R., (2006). Phenolic Compound Biochemistry, pp 1-34. Dordrecht, the Netherlands: Springer

Villano, D., Fernandez-Pachon, M. S., Moya, M. L., Troncoso, A. M., Garcia- Parilla, M. C. (2007). Radical scavenging ability of phenolic compounds towards DPPH free radical. Talanta 71, 230–235.

Wilson, C. A. (1999). The Book of Marmalade: It’s Antecedents, Its History and Its Role in the World Today, Philadelphia: University of Pennsylvania Press.

Woman's Institute of Domestic Arts and Sciences, (2006). Woman's Institute Library of Cookery Volume 5: Fruit and Fruit Desserts; Canning and Drying; Jelly Making, Preserving and Pickling; Confections; Beverages; the Planning of Meals, Project Gutenberg.

Xanthopoulou, M. N., Asimakopoulos, D., Antonopoulou, S., Demopoulos, C. A., & Fragopoulou, E. (2014). Effect of Robola and Cabernet Sauvignon extracts on platelet activating factor enzymes activity on U937 cells. Food Chemistry, 165, 50–59. doi:10.1016/j.foodchem.2014.05.085

Xanthopoulou, M. N., Fragopoulou, E., Kalathara, K., Nomikos, T., Karantonis, H. C., & Antonopoulou, S. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activity of red and white wine extracts. Food Chemistry, 120(3), 665–672. doi:10.1016/j.foodchem.2009.10.058

Κατευθυντήρια Οδηγία (Ντιρεκτίβα) για τις μαρμελάδες (Ντιρεκτίβα του Συμβουλίου της ΕΕ, 79/693/EEC, 20 Δεκεμβρίου 2001)

Κατευθυντήρια Οδηγία (Ντιρεκτίβα) για τις μαρμελάδες (Ντιρεκτίβα του Συμβουλίου της ΕΕ, 79/693/EEC, 24 Ιουλίου 1979)

Κώδικας Τροφίμων & Ποτών, άρθρα 132, προϊόντα με γλυκαντικές ύλες, 2011

Κώδικας τροφίμων και ποτών, γλυκά του κουταλιού, άρθρο 68, ισχύουσα έκδοση 2, 2010

Παγκόσμιος οργανισμός υγείας. Healthy diet. Προσπελάσθηκε στις 2 Σεπτεμβρίου 2018, http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet

ΠΟΥ. Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας. Nutrition, 5 keys to a healthy diet. Προσπελάθηκε στις 1 Σεπτεμβρίου, 2018, από: http://www.who.int/nutrition/topics/5keys_healthydiet/en/