



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Της Ιωάννου Μαρίας

**ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ
ΔΡΑΣΗ ΞΗΡΩΝ ΚΑΡΠΩΝ ΚΑΙ ΟΣΠΡΙΩΝ ΑΠΟ ΤΗΝ
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΑΓΟΡΑ**



Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:

Χίου Αντωνία

Τριμελής Επιτροπή:

Χίου Αντωνία

Ανδρικόπουλος Νικόλαος

Καλογερόπουλος Νικόλαος

Αθήνα, Ιούνιος 2007

Αφιερωμένη

Στους γονείς μου, χωρίς την ηθική και οικονομική στήριξη των οποίων δε θα είχα τη δυνατότητα να πραγματοποιήσω τις μεταπτυχιακές μου σπουδές.

Στον Μάριο, που μου στάθηκε τόσα χρόνια, στις εύκολες και στις δύσκολες στιγμές.

Ευχαριστίες

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε από την Ιωάννου Μαρία, φοιτήτρια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Εφαρμοσμένη Διαιτολογία Διατροφή» στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. Το εργαστηριακό κομμάτι της μελέτης πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Χημείας, Φυσικοχημείας και Βιοχημείας Τροφίμων κατά το ακαδημαϊκό έτος 2006-2007, κάτω από την επίβλεψη της λέκτορα του τμήματος δρ. Αντωνίας Χίου.

Στον κύριο Ανδρικόπουλο οφείλω τις θερμές μου ευχαριστίες για την καθοδήγηση και την υποστήριξη του καθ' όλη τη διάρκεια διεκπεραίωσης της παρούσας πτυχιακής.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στην δρ. Αντωνία Χίου, χωρίς την βοήθεια της οποίας η ολοκλήρωση αυτής της μελέτης θα ήταν αδύνατη, για το αμέιωτο ενδιαφέρον και τη συμπαράσταση της, τόσο κατά την εκτέλεση του πειραματικού μέρους όσο και κατά τη συγγραφή του.

Ευχαριστώ τον δρ. Νικόλαο Καλογερόπουλο για το αμέριστο ενδιαφέρον και την ηθική συμπαράσταση που μου έδειξε καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας εργασίας. Θερμές ευχαριστίες, τόσο προς τον δρ Ν. Καλογερόπουλο, όσο και προς τη δρ. Αναστασία Μυλωνά για το χρόνο που μου αφιέρωσαν τόσο κατά την πραγματοποίηση του πειραματικού μέρους όσο και για την διόρθωση της παρούσας πτυχιακής εργασίας.

Ευχαριστώ επίσης το Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο για τη διάθεση του εργαστηριακού χώρου και την παραχώρηση των οργάνων για την πραγματοποίηση του πειραματικού μέρους, καθώς και όλο το προσωπικό του εργαστηρίου, και ιδιαίτερα την κ. Μαργαρίτα Χριστέα, που ήταν πρόθυμο να με βοηθήσει σε ότι πρόβλημα προέκυπτε.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω επιπλέον τον δρ. Βάιο Καραθάνο, τη δρ. Ανδριάννα Καλλιώρα, την Αγγελική Κουντούρη, την Έλενα Τρουλλίδου, την Αριστέα Γκιοζάρη, την Ευσταθία Παραμέρα και τον Γιάννη Μουρτζίνο για την ανυπολόγιστη ηθική υποστήριξη τους καθ' όλη τη διάρκεια της χρονιάς.

Τέλος, ευχαριστώ από καρδιάς τον Μάριο Πράκκη, τους γονείς μου, τα αδέρφια μου και όλη μου την οικογένεια για τη συνεχή συμπαράσταση, την αγάπη και την κατανόηση που έδειξαν όλο αυτόν τον καιρό.

Μαρία

Σκοπός της παρούσας εργασίας

Μελέτες με διατροφικά πρότυπα έχουν δείξει ότι η παραδοσιακή Μεσογειακή δίαιτα θεωρείται το καταλληλότερο διαιτητικό πρόγραμμα, λόγω των λειτουργικών της συστατικών, τα οποία προάγουν την ανθρώπινη υγεία. Ανάμεσα στις άλλες ευεργετικές επιδράσεις της, η Μεσογειακού τύπου διατροφή, η οποία περιλαμβάνει μεγάλες ποσότητες φυτικών τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων των ξηρών καρπών, των σπόρων και των οσπρίων, θεωρείται ότι ελέγχει το οξειδωτικό στρες του σώματος μέσω των υψηλών επιπέδων αντιοξειδωτικών ουσιών που περιέχει (Gentile et al., 2007). Υπάρχουν διάφορες μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία που αφορούν στο αντιοξειδωτικό περιεχόμενο και στην αντιοξειδωτική δράση ξηρών καρπών και οσπρίων (Gentile et al., 2007, Kornsteiner et al., 2006, Anderson et al., 2001, Díaz-Batalla L et al., 2006). Δεδομένου όμως ότι δεν υπάρχουν μελέτες που να αφορούν στους ξηρούς καρπούς και στα όσπρια από την ελληνική αγορά, θεωρήθηκε ενδιαφέρον να συλλεχθούν δείγματα που κυκλοφορούν στην ελληνική αγορά και να μελετηθούν ως προς το αντιοξειδωτικό τους περιεχόμενο και την αντιοξειδωτική τους δράση. Επιπλέον, αν και οι ξηροί καρποί έχουν μελετηθεί αρκετά, υπάρχει ένα κενό στη διεθνή βιβλιογραφία όσον αφορά στη σύσταση των ελαιούχων σπόρων σε φαινολικά συστατικά. Από τα όσπρια, αυτά που έχουν μελετηθεί αρκετά στην Αμερική κυρίως, είναι τα φασόλια. Όσπρια που είναι χαρακτηριστικά στην ελληνική αγορά, όπως η πράσινη και κίτρινη φάβα, δεν έχουν μελετηθεί καθόλου. Επίσης, συνήθως ο προσδιορισμός των αντιοξειδωτικών ουσιών στα όσπρια γίνεται σε ωμό τρόφιμο. Έτσι, κρίθηκε σκόπιμο να προσδιοριστεί το περιεχόμενο των βρασμένων οσπρίων σε αντιοξειδωτικά, ώστε τα αποτελέσματα να αντικατοπτρίζουν τις αντιοξειδωτικές ουσίες που θα μπορούσαν να προσληφθούν με την κατανάλωση του τροφίμου. Συνεπώς, ήταν δόκιμο να προσδιοριστεί η σύσταση των ξηρών καρπών και οσπρίων σε φυσικά αντιοξειδωτικά, καθώς και η ικανότητα τους *in vitro* να προστατεύουν από το οξειδωτικό στρες.

Περίληψη

Οι ξηροί καρποί και οι ελαιούχοι σπόροι αποτελούν συστατικά της Μεσογειακής διατροφής. Πρόσφατες διατροφικές επιδημιολογικές μελέτες απέδειξαν την προστατευτική τους δράση έναντι χρόνιων νοσημάτων, γεγονός που αποδίδεται στην περιεκτικότητά τους σε αντιοξειδωτικές ουσίες και υψηλό ποσοστό ακόρεστων λιπαρών οξέων. Στη βιβλιογραφία δεν υπάρχουν δεδομένα για το αντιοξειδωτικό περιεχόμενο ξηρών καρπών από την ελληνική αγορά. Με σκοπό να καλυφθεί αυτό το ερευνητικό κενό έγινε ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός πολυφαινολών και τοκοφερολών (βιταμίνης E), καθώς και μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας τεσσάρων ξηρών καρπών (φιστίκι Αιγίνης, φουντούκι, αμύγδαλο, καρύδι) και δύο ελαιούχων σπόρων (κολοκυθόσπορος, ηλιόσπορος).

Ο προσδιορισμός της βιταμίνης E έγινε με υγρή χρωματογραφία (HPLC) μετά από εκχύλιση. Οι συγκεντρώσεις ολικών τοκοφερολών στους ξηρούς καρπούς που μελετήθηκαν ήταν οι ακόλουθες: ηλιόσπορος (41.49 mg/100 g) > αμύγδαλο (30.79 mg/100 g) > κολοκυθόσπορος (22.87 mg/100 g) > φιστίκι Αιγίνης (15.56 mg/100 g) > φουντούκι (12.06 mg/100 g) > καρύδι (10.83 mg/100 g).

Το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο των καρπών και σπόρων προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, ενώ οι επιμέρους πολυφαινόλες και τα τριτερπενοειδή προσδιορίστηκαν με χρωματογραφία GC-MS. Η παραλαβή των πολυφαινολών έγινε με εκχύλιση, αφού πρώτα πραγματοποιήθηκε σειρά δοκιμαστικών πειραμάτων για την επιλογή του καταλληλότερου συστήματος διαλυτών και του βέλτιστου αριθμού εκχυλίσεων. Οι ολικές πολυφαινόλες των ξηρών καρπών και σπόρων που μελετήθηκαν (σε ισοδύναμα καφεϊκού οξέος, mg CAE /100 g ξηρού καρπού) κυμάνθηκαν από 50 ± 4 (κολοκυθόσπορος) έως 1216 ± 47 (καρύδι). Οι συγκεντρώσεις των επιμέρους πολυφαινολών στους ξηρούς καρπούς κυμάνθηκαν από 2.96 ± 0.07 mg/100 g (στα αμύγδαλα) έως 43.71 ± 7.76 mg/100 g (στα καρύδια). Το υψηλότερο περιεχόμενο σε υδροξυπεντακυκλοτερπενικά οξέα βρέθηκε στο φιστίκι Αιγίνης (6.13 ± 1.38 mg/100 g). Στους ελαιούχους σπόρους οι επιμέρους πολυφαινόλες κυμάνθηκαν από 2.52 ± 0.06 mg/100 g για τον κολοκυθόσπορο έως 3810.4 ± 485.5 mg/100 g για τον ηλιόσπορο (ποσοστό 97% ήταν το χλωρογενικό οξύ). Από τα τερπενικά οξέα, στον ηλιόσπορο προσδιορίστηκαν 9.03 ± 1.05 mg/100 g ολεανολικού οξέος και στον κολοκυθόσπορο 8.29 ± 0.21 mg/100 g.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των ξηρών καρπών και η σειρά δραστηριότητας των εκχυλισμάτων τους, ως προς την ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH[•] βρέθηκε ότι αυξανόταν με την ακόλουθη σειρά: κολοκυθόσπορος < αμύγδαλο < φουντούκι < φιστίκι Αιγίνης < ηλιόσπορος < καρύδι. Η ίδια σειρά δραστηριότητας των εκχυλισμάτων των ξηρών καρπών βρέθηκε και ως προς την ικανότητα αναγωγής του Fe⁺³ (μέθοδος FRAP). Βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των ολικών πολυφαινολών (Folin-Ciocalteu) και της αντιοξειδωτικής ικανότητας στους ξηρούς καρπούς (p<0.05, R>0.811). Επίσης, μετά από αποκλεισμό του ηλιόσπορου, βρέθηκαν σημαντικές συσχετίσεις και μεταξύ των επιμέρους πολυφαινολών και της αντιοξειδωτικής ικανότητας των ξηρών καρπών (p<0.05, R>0.878).

Ένα επιπλέον εύρημα της παρούσας μελέτης είναι ότι τα φαινολικά κλάσματα των ξηρών καρπών προστατεύουν την LDL από την οξείδωση *in vitro*. Η ποσότητα του ξηρού καρπού που χρησιμοποιήθηκε για τη μελέτη της αναστολής της οξείδωσης της LDL από ιόντα χαλκού καθορίστηκε με βάση τη μέση κατανάλωση ξηρών καρπών από τον ελληνικό πληθυσμό. Ο σχεδιασμός του πειράματος έγινε κατά τέτοιο τρόπο ώστε οι αναλογίες LDL και ξηρών καρπών να μπορούν να αντιστοιχηθούν με την αναλογία LDL και αντιοξειδωτικών από ξηρούς καρπούς, που δυνητικά θα μπορούσαν να αλληλεπιδράσουν στον ανθρώπινο οργανισμό βάσει της κυκλοφορούσας LDL και της ημερήσιας πρόσληψης ξηρών καρπών. Βρέθηκε ότι ποσότητες ξηρών καρπών που αντιστοιχούν στο 7-20% της ημερήσιας πρόσληψης για τον ελληνικό πληθυσμό είναι ικανές να προκαλέσουν αξιόλογη προστασία της LDL από οξείδωση *in vitro*. Τη μεγαλύτερη προστασία της LDL παρουσίασε το καρύδι και ακολούθησαν το φιστίκι Αιγίνης, το αμύγδαλο και το φουντούκι.

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε επιπλέον το πολυφαινολικό περιεχόμενο και η αντιοξειδωτική δράση των οσπρίων που καταναλώνονται στην Ελλάδα. Το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο των οσπρίων που μελετήθηκαν (σε mg CAE/100 g) κυμάνθηκε από 11.8 (πράσινη φάβα) έως 30.4 (ρεβίθια). Οι συγκεντρώσεις των επιμέρους πολυφαινολών (σε mg/100 g) κυμάνθηκαν από 0.28 (πράσινη φάβα) έως 2.12 (χοντρές φακές), ενώ τα υδροξυπεντακυκλοτερπενικά οξέα κυμάνθηκαν από 0.29 μmg/100g για τα μεγάλα φασόλια έως 8.28 mg/100g για τα φασόλια γίγαντες.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των οσπρίων και η σειρά δραστηριότητας των εκχυλισμάτων τους, ως προς την ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH[•] ήταν η εξής (κατά αύξουσα σειρά): φασόλια μαυρομάτικα < κουκιά < φάβα πράσινη <

φασόλια ελέφαντες < φασόλια μεγάλα < φακές χοντρές < φασόλια μεσαία < φασόλια μικρά < μπαρμπονοφάσολα < φασόλια γίγαντες < φάβα κίτρινη < ρεβίθια < φακές ψιλές. Η σειρά δραστηριότητας των εκχυλισμάτων των οσπρίων ως προς την ικανότητα αναγωγής του Fe^{+3} ήταν (κατά αύξουσα σειρά): φασόλια ελέφαντες < πράσινη φάβα < μεγάλα φασόλια < φασόλια γίγαντες < ρεβίθια < μπαρμπονοφάσολα < φασόλια μικρά < φάβα κίτρινη < κουκιά < φακές χοντρές < φασόλια μεσαία < φασόλια μαυρομάτικα < φακές ψιλές. Σ' αυτή την περίπτωση, σημαντική συσχέτιση προκύπτει μεταξύ των ολικών πολυφαινόλων προσδιορισμένων με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu και της αντιοξειδωτικής δράσης των οσπρίων, προσδιορισμένης με τη μέθοδο DPPH ($p < 0.05$, $R > 0.553$).

Abstract

Nuts and seeds are constituents of the Mediterranean diet and are popular worldwide. Recent nutritional epidemiological studies indicated that nuts exhibit protective action against ischemic heart disease and probably promote longevity. Nuts and seeds contain antioxidant compounds and high amounts of unsaturated fatty acids. As there is lack of data concerning the antioxidant content and composition of nuts from the Greek market, the present study aimed to the qualitative and quantitative determination of polyphenols and vitamin E and the study of the antioxidant capacity of nuts (pistachio, walnut, almond, and hazelnut) and seeds (pumpkin seed, sunflower seed).

Tocopherols were determined by HPLC after extraction. Total tocopherols content in the nuts studied was: sunflower seed (41.49 mg/100 g) > almond (30.79 mg/100 g) > pumpkin seed (22.87 mg/100 g) > pistachio (15.56 mg/100 g) > hazelnut (12.06 mg/100 g) > walnut (10.83 mg/100 g).

Total phenolics were determined by the Folin-Ciocalteu assay. Polyphenols and terpenoids were quantitated by GC-MS, after proper extraction. The optimum extraction conditions –extraction solvents and optimum number of extractions- were determined after trial experiments. Total polyphenol content of nuts (in mg caffeic acid equivalent (CAE)/100 g) varied from 50 ± 4 (pumpkin seed) to 1216 ± 47 (walnut). Polyphenols concentrations in nuts ranged from 2.96 ± 0.07 mg/100 g (in almonds) to 43.71 ± 7.76 mg/100 g (in walnuts). The highest amount of hydroxypentacyclic terpenic acids was found in pistachio (6.13 ± 1.38 mg/100 g). Individual polyphenols content ranged between 2.52 ± 0.06 mg/100 g in pumpkin and 3810.4 ± 485.5 mg/100 g (97% of that was chlorogenic acid) in sunflower seed. Oleanolic acid content was 9.03 ± 1.05 mg/100 g in sunflower seed and 8.29 ± 0.21 mg/100 g in pumpkin seed.

The antioxidant capacity of nuts extracts with regard to the capacity to bound DPPH[•] free radical, was (in ascending order): pumpkin seed < almond < hazelnut < pistachio < sunflower seed < walnut. The same order was followed in respect of nuts extracts capacity to reduce Fe⁺³ (FRAP assay). Total polyphenols (Folin-Ciocalteu) were significantly correlated to the antioxidant capacity of nuts ($p < 0.05$, $R > 0.811$).

Moreover, after the exclusion of the sunflower seed, significant correlations were also observed between polyphenols and antioxidant capacity of nuts ($p < 0.05$, $R > 0.878$).

In another series of experiments, it was studied whether the phenolic fraction of nuts possesses protective activity against Cu-mediated low-density lipoprotein (LDL) oxidation *in vitro*. The amount of nuts used in LDL oxidation experiments ranged between 7 and 20% of the mean nut consumption by the Greeks. The experiment was designed so that the proportion of LDL and nuts could correspond to the proportion of LDL and antioxidants of nuts that could potentially interact in the body of a healthy adult after the consumption of the typical daily intake of nuts. In this manner it was documented that quantities corresponding to the 7-20% of the daily nut consumption by the Greek population were capable to induce notable protection against Cu-mediated LDL oxidation *in vitro*. The most effective action against LDL oxidation was found for the walnut, followed by pistachio, almond and hazelnut.

Furthermore, in the present study, the polyphenol content and the antioxidant capacity of cooked legumes that are usually consumed in Greece were also studied. The total polyphenol content of legumes under investigation (in mg CAE/100 g) varied from 11.8 (green fava beans) to 30.4 (chick peas). Individual polyphenol concentrations in beans ranged from 0.28 mg /100 g (green fava) to 2.12 mg/100 g (big lentils), while hydroxypentacyclic terpenic acids varied from 0.29 mg/100g (big beans) to 8.28 mg/100g (elephant beans).

The antioxidant capacity of legumes extracts to bound DPPH[•] free radical, was found to be (in ascending order): black eyed beans < broad beans < green fava beans < elephant beans < large size white beans < big lentils < medium size white beans < small size white beans < red beans < giant beans < yellow fava beans < chick peas < small lentils. The capacity of legumes extracts to reduce Fe⁺³ (FRAP assay) was (in ascending order): elephant beans < green fava beans < large size white beans < giant beans < chick peas < red beans < small size white beans < yellow fava beans < broad beans < big lentils < medium size white beans < black eyed beans < small lentils. It was found that total polyphenols (Folin-Ciocalteu) were correlated to the antioxidant capacity determined by DPPH assay ($p < 0.05$, $R > 0.553$).

Περιεχόμενα

	<u>Σελίδα</u>
Κεφάλαιο 1^ο: Σύσταση ξηρών καρπών	1
1.1 Οι ξηροί καρποί ως μέρος της Μεσογειακής Διατροφής	1
Α. Σύσταση σε λίπος και λιπαρά οξέα	2
Β. Σύσταση σε πρωτεΐνες και αμινοξέα	5
Γ. Σύσταση σε υδατάνθρακες και φυτικές ίνες	8
 Κεφάλαιο 2^ο: Στοιχεία και διατροφική αξία των ξηρών καρπών της παρούσας μελέτης. Η σημασία τους στην ανθρώπινη υγεία	9
2.1. Στοιχεία και διατροφική αξία των ξηρών καρπών	9
Α. Καρύδι	9
Β. Φιστίκι Αιγίνης (<i>Pistachia vera</i>)	14
Γ. Φουντούκι (<i>Corylus avellana</i>)	18
Δ. Αμύγδαλο (<i>Prunus dulcis</i> , <i>Prunus amygdalus</i> ή <i>Amygdalus communis</i>)	22
Ε. Κολοκυθόσπορος	26
ΣΤ. Σπόροι ηλίανθου	29
2.2 Η σημασία των ξηρών καρπών στην ανθρώπινη υγεία	32
 Κεφάλαιο 3^ο: Αντιοξειδωτικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση ξηρών καρπών	42
3.1 Αντιοξειδωτικά και μηχανισμός ελευθέρων ριζών	42
3.2 Αντιοξειδωτικά στα τρόφιμα: ταξινόμηση και μηχανισμός δράσης	43
3.3 Αντιοξειδωτικά και ανθρώπινος οργανισμός	46
3.4 Βιταμίνη Ε	48
3.4.1 Η σημασία των τοκοφερολών στην ανθρώπινη υγεία	50
3.5 Πολυφαινολικές Ενώσεις	53
3.5.1 Η σημασία των φαινολικών ενώσεων στην ανθρώπινη υγεία	54

3.5.2 Βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών	58
3.6 Αντιοξειδωτικό περιεχόμενο ξηρών καρπών	61
3.6.1 Βιταμίνη Ε, Καροτενοειδή και Σκουαλένιο	61
3.6.2 Πολυφαινόλες	66
3.7 Αντιοξειδωτική δράση ξηρών καρπών	70
3.7.1 Μέθοδοι προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης	70
3.7.1.Α. Έμμεσες μέθοδοι	72
3.7.1.Β. Άμεσες μέθοδοι	75
3.7.2. Αντιοξειδωτική δράση ξηρών καρπών που μελετήθηκαν σε προηγούμενες εργασίες	78
Κεφάλαιο 4^ο: Αντιοξειδωτικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση οσπρίων	85
4.1 Γενική σύσταση οσπρίων	85
4.1.2 Σύσταση σε λιπαρά οξέα	86
4.1.3 Αντιοξειδωτικό περιεχόμενο οσπρίων	90
4.1.4 Αντιοξειδωτική δράση οσπρίων	97
Κεφάλαιο 5^ο: Πειραματικό μέρος	99
5.1 Υλικά και αντιδραστήρια	99
5.2 Όργανα	100
5.3 Γενικές Πορείες	101
5.3.1 Προσδιορισμός τοκοφερολών	101
5.3.1.Α Παρασκευή μέσου εκχύλισης	101
5.3.1.Β Πειραματική διαδικασία παραλαβής βιταμίνης Ε από τα νωπά δείγματα ξηρών καρπών	101
5.3.1.Γ Ανάλυση HPLC	103
α) Καμπύλες αναφοράς για τις τοκοφερόλες	103
β) Μέθοδος χρωματογραφικής ανάλυσης	103
5.3.2 Προσδιορισμός Πολυφαινολών	104

5.3.2.A Πειραματική διαδικασία παραλαβής πολυφαινολών από τα δείγματα των ξηρών καρπών	104
5.3.2.B Πειραματική διαδικασία παραλαβής πολυφαινολών από τα δείγματα των οσπρίων	106
5.3.2.Γ Προετοιμασία δειγμάτων για την ανάλυση με αέρια χρωματογραφία. Αντίδραση σιλυλίωσης	107
5.3.2.Δ Προσδιορισμός πολυφαινολικών συστατικών και τερπενικών οξέων με αέρια χρωματογραφία	107
5.3.2.E Υδρολύσεις πολυφαινολών	110
5.3.3 Φωτομετρικοί προσδιορισμοί	112
5.3.3.A Προσδιορισμός του συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu	112
5.3.3.B Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1-διφαινύλο-2-πικρυλο-ϋδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH [•])	113
5.3.3.Γ Προσδιορισμός αναγωγικής δύναμης εκχυλισμάτων ξηρών καρπών και οσπρίων μέσω αναγωγής του Fe ⁺³ σε Fe ⁺²	116
5.3.3.Δ Οξείδωση της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας <i>in vitro</i>	118
Κεφάλαιο 6^ο: Αποτελέσματα και συζήτηση	121
6.1 Γενικά	121
6.2 Προσδιορισμός τοκοφερολών και πολυφαινολών στους ξηρούς καρπούς και στα όσπρια	122
6.2.1 Προσδιορισμός τοκοφερολών	122
6.2.1.A Επιλογή κατάλληλου διαλύτη εκχύλισης για ποσοτική παραλαβή των τοκοφερολών από τους ξηρούς καρπούς	122
6.2.1.B Περιεχόμενο ξηρών καρπών σε τοκοφερόλες	123
6.2.2 Προσδιορισμός πολυφαινολών	126
6.2.2.A Επιλογή κατάλληλου διαλύτη και διαδικασίας εκχύλισης για ποσοτική παραλαβή των πολυφαινολών από τους ξηρούς καρπούς	126
6.2.2.B Προσδιορισμός ολικών πολυφαινολών στους ξηρούς καρπούς με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu	136

6.2.2.Γ Περιεχόμενο ξηρών καρπών σε επιμέρους πολυφαινόλες	139
6.2.2.Δ Υδρολύσεις πολυφαινολών στους ξηρούς καρπούς	145
6.2.2.Ε Επιλογή κατάλληλου διαλύτη εκχύλισης για ποσοτική παραλαβή των πολυφαινολών από τα όσπρια	147
6.2.2.ΣΤ Προσδιορισμός ολικών πολυφαινολών στα όσπρια με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu	147
6.2.2.Ζ Περιεχόμενο οσπρίων σε επιμέρους πολυφαινόλες	150
6.2.3 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης	159
6.2.3.Α Ξηροί καρποί και ελαιούχοι σπόροι	159
6.2.3.Α.1. Ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH [•] (2, 2 – Diphenyl – 1 – picrylhydrazyl radical scavenging assay) και ικανότητα αναγωγής του Fe ³⁺ (FRAP, Ferric anion Reducing Antioxidant Power)	159
6.2.3.Α.2. Συσχετίσεις μεταξύ ολικών πολυφαινολών (Folin-Ciocalteu), επιμέρους πολυφαινολών (GC-MS) και αντιοξειδωτικής δράσης (DPPH και FRAP) ξηρών καρπών και ελαιούχων σπόρων	160
6.2.3.Β. Όσπρια	163
6.2.3.Β.1. Ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH [•] (2, 2 – Diphenyl – 1 – picrylhydrazyl radical scavenging assay) και ικανότητα αναγωγής του Fe ³⁺ (FRAP, Ferric anion Reducing Antioxidant Power)	163
6.2.3.Β.2. Συσχετίσεις μεταξύ ολικών πολυφαινολών (Folin-Ciocalteu), επιμέρους πολυφαινολών (GC-MS) και αντιοξειδωτικής δράσης (DPPH και FRAP) οσπρίων	164
6.3 Οξείδωση της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας <i>in vitro</i>	168
6.3.1 Προστατευτική επίδραση των εκχυλισμάτων των ξηρών καρπών έναντι στην οξείδωση της LDL	170
Συμπεράσματα	175
Βιβλιογραφία	181

Πίνακες

Σελίδα

Πίνακας 1.1: Περιεχόμενο σε λίπος και αριθμός υπεροξειδίου των ελαίων που εξάγονται από πέντε ξηρούς καρπούς 3

Πίνακας 1.2: % Σύσταση σε λιπαρά οξέα των ελαίων που εξάγονται από πέντε ξηρούς καρπούς. 4

Πίνακας 1.3: Σύνοψη των σημαντικότερων παραμέτρων που αφορούν στα λιπαρά οξέα των ελαίων που εξάγονται από πέντε ξηρούς καρπούς. 4

Πίνακας 1.4: Πρωτεϊνικό περιεχόμενο ορισμένων ξηρών καρπών 5

Πίνακας 1.5: Ολική σύσταση αμινοξέων 7

Πίνακας 1.6: Σύσταση ξηρών καρπών σε μακροθρεπτικά συστατικά και διαιτητικές ίνες 8

Πίνακας 2.1: Γενική σύσταση καρυδιού 13

Πίνακας 2.2: Παγκόσμια παραγωγή φιστικιού (*Pistachia vera*) 15

Πίνακας 2.3: Γενική σύσταση φιστικιού Αιγίνης 17

Πίνακας 2.4: Γενική σύσταση Ελληνικού φουντουκιού 20

Πίνακας 2.5: Γενική σύσταση Αμερικάνικου φουντουκιού 21

Πίνακας 2.6: Γενική σύσταση Ελληνικού αμυγδάλου	24
Πίνακας 2.7: Γενική σύσταση Αμερικάνικου αμυγδάλου	25
Πίνακας 2.8: Γενική σύσταση του κολοκυθόσπορου	28
Πίνακας 2.9: Γενική σύσταση του ηλιόσπορου	31
Πίνακας 2.10: Μελέτες που αξιολόγησαν την επίδραση της κατανάλωσης ξηρών καρπών στα επίπεδα χοληστερόλης και λιποπρωτεϊνών πλάσματος	36
Πίνακας 2.11: Επίδραση της κατανάλωσης ξηρών καρπών στα επίπεδα χοληστερόλης και λιποπρωτεϊνών πλάσματος	36
Πίνακας 2.12: Βιοδραστικά συστατικά στα φυτικά προϊόντα	37
Πίνακας 2.13: Συστατικά στους ξηρούς καρπούς με ευεργετικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία	41
Πίνακας 3.1: Περιεχόμενο εκχυλιζόμενου από ξηρούς καρπούς ελαίου σε τοκοφερόλες και καροτενοειδή	62
Πίνακας 3.2: Σύσταση των ελαίων των ξηρών καρπών σε σκουαλένιο και τοκοφερόλες (μg/100 g ελαίου)	63
Πίνακας 3.3: Σύσταση σε αντιοξειδωτικές βιταμίνες ανά 100 g εδώδιμου ξηρού καρπού <i>P. Vera L.</i>	65
Πίνακας 3.4: Ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο στους ξηρούς καρπούς εκφρασμένο σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE)	66

Πίνακας 3.5: Πολυφαινολικό περιεχόμενο ανα 100 g φιστικιού Αιγίνης	68
Πίνακας 3.6: Περιεχόμενο σε ταννίνες ανά 100 g ξηρών καρπών	69
Πίνακας 3.7: Μεθόδοι προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης <i>in vitro</i>	71
Πίνακας 3.8: FRAP, TRAP και TEAC στα εκχυλίσματα ξηρών καρπών	78
Πίνακας 3.9: L-ORAC _{FL} , H- ORAC _{FL} , TAC και TP ξηρών καρπών από την αμερικανική αγορά	80
Πίνακας 3.10: Αντιοξειδωτικό δυναμικό του <i>P. Vera</i> L. (φιστίκι Αιγίνης)	81
Πίνακας 4.1: Όσπρια που καταναλώνονται ευρέως από τον ελληνικό πληθυσμό	87
Πίνακας 4.2: Γενική σύσταση (% fw) και ενεργειακό περιεχόμενο (kcal/100 g fw) βρασμένων οσπρίων	88
Πίνακας 4.3: Επίπεδα γαλακτο-ολιγοσακχαριτών στα νωπά και βρασμένα φασόλια (mg/g ξηρού τροφίμου)	88
Πίνακας 4.4: Κατηγορίες λιπαρών οξέων (% ολικών λιπαρών οξέων) και περιεχόμενο σε α-λινολενικό οξύ στα βρασμένα όσπρια	89
Πίνακας 4.5: Συγκεντρώσεις α-Τοκοφερόλης, σκουαλενίου και φυτοστερολών (mg/100 g fw) στα βρασμένα όσπρια	90
Πίνακας 4.6: Χαρακτηριστικά των δειγμάτων που εξετάστηκαν (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) στη μελέτη των Diaz-Batalla L et al. (2006)	92
Πίνακας 4.7: Περιεχόμενο σε κερκετίνη, καμπφερόλη και φαινολικά οξέα (μg/g ξηρού βάρους) στα νωπά και μαγειρεμένα μεξικάνικα φασόλια	93
Πίνακας 4.8: Επίπεδα φυτικού οξέος στα νωπά και βρασμένα φασόλια (mg/g ξηρού τροφίμου)	95

Πίνακας 4.9: Περιεχόμενο οσπρίων σε φλαβανόλες (mg/100 g νωπού δείγματος)	96
Πίνακας 4.10: Αντιοξειδωτική ικανότητα οσπρίων	98
Πίνακας 5.3.1: Βάρος δειγμάτων και όγκος αναδιάλυσης	102
Πίνακας 5.3.2: Βάρος δειγμάτων και όγκος αναδιάλυσης	105
Πίνακας 5.3.3: Βάρος και Υγρασία δειγμάτων και όγκος αναδιάλυσης	106
Πίνακας 5.3.4: Χρόνοι κατακράτησης και χαρακτηριστικά ιόντα που επελέγησαν για τον προσδιορισμό του κάθε συστατικού.	109
Πίνακας 5.3.5: Τελικές αραιώσεις δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη μέθοδο DPPH	115
Πίνακας 5.3.6: Όγκος αναδιάλυσης ξηρών καρπών	120
Πίνακας 6.2.1: Περιεκτικότητα ξηρών καρπών σε τοκοφερόλες	123
Πίνακας 6.2.2: Περιεχόμενο φιστικιού Αιγίνης σε πολυφαινόλες (mg/100g), όπως προέκυψε από έξι εκχυλίσσεις (πέντε + μία) με μεθανόλη, μεθανόλη/ακετόνη/νερό (7/2/1) και ακετόνη/νερό (8/2) και προσδιορίστηκε με GC/MS	129
Πίνακας 6.2.3: Περιεχόμενο φιστικιού Αιγίνης σε πολυφαινόλες (mg/100g), όπως προέκυψε μετά από ολονύκτια παραμονή διαλύτη και δείγματος σε επαφή, ακολουθούμενη από έξι εκχυλίσσεις (πέντε + μία) με μεθανόλη, μεθανόλη/ακετόνη/νερό (7/2/1) και ακετόνη/νερό (8/2) και προσδιορίστηκε με GC/MS.	130
Πίνακας 6.2.4: Περιεχόμενο φιστικιού Αιγίνης σε πολυφαινόλες (mg/100g), όπως προέκυψε μετά από απολίπανση των δειγμάτων, ακολουθούμενη από έξι εκχυλίσσεις (πέντε + μία) με μεθανόλη/ακετόνη/νερό (7/2/1) και ακετόνη/νερό (8/2) και προσδιορίστηκε με GC/MS.	131
Πίνακας 6.2.5: Περιεχόμενο κολοκυθόσπορου σε πολυφαινόλες (mg/100g), όπως	134

προέκυψε μετά από ολονύκτια παραμονή διαλύτη και δείγματος σε επαφή, ακολουθούμενη από έξι εκχυλίσσεις με μεθανόλη/ακετόνη/νερό (7/2/1) και ακετόνη/νερό (8/2) και προσδιορίστηκε με GC/MS.

Πίνακας 6.2.6: Περιεχόμενο κολοκυθόσπορου σε πολυφαινόλες (mg/100g), όπως προέκυψε μετά από απολίπανση του δείγματος και ολονύκτια παραμονή διαλύτη και δείγματος σε επαφή, ακολουθούμενη από έξι εκχυλίσσεις με μεθανόλη/ακετόνη/νερό (7/2/1) και ακετόνη/νερό (8/2) και προσδιορίστηκε με GC/MS. 135

Πίνακας 6.2.7: Προσδιορισμός ολικών πολυφαινολών στους ξηρούς καρπούς και στους ελαιούχους σπόρους με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. 136

Πίνακας 6.2.8: Συγκεντρώσεις πολυφαινολικών ενώσεων και υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων (HPTA) στους ξηρούς καρπούς όπως προσδιορίστηκαν με αέρια χρωματογραφία 142

Πίνακας 6.2.9: Συγκεντρώσεις πολυφαινολικών ενώσεων και υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων στους ελαιούχους σπόρους 143

Πίνακας 6.2.10: Συγκεντρώσεις πολυφαινολικών ενώσεων πριν και μετά από ενζυμική υδρόλυση στα εκχυλίσματα αμυγδάλου και φιστικιού Αιγίνης. 146

Πίνακας 6.2.11.: Προσδιορισμός ολικών πολυφαινολών στα όσπρια με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu 147

Πίνακας 6.2.12.: Προσδιορισμός ολικών πολυφαινολών στα αμερικάνικα όσπρια με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu (Wu et al., 2004). 149

Πίνακας 6.2.13: Συγκεντρώσεις πολυφαινολικών ενώσεων και υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων στα φασόλια (mg/100 g νωπού δείγματος) 154

Πίνακας 6.2.14: Συγκεντρώσεις πολυφαινολικών ενώσεων και υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων στα όσπρια (mg/100 g νωπού δείγματος) 155

Πίνακας 6.2.15: Σύνολο πολυφαινολικών ενώσεων και υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων στα όσπρια (mg/100 g νωπού δείγματος) 158

Πίνακας 6.2.16: Αντιοξειδωτική δράση ξηρών καρπών: (α) Ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH [•] (2,2-διφαινυλο-1-πικρυλοϋδραζυλο ελεύθερη ρίζα) εκφρασμένη σε ισοδύναμα Trolox και (β) Ικανότητα αναγωγής του Fe ³⁺ (FRAP, ferric anion reducing antioxidant power) εκφρασμένη σε ισοδύναμα ασκορβικού οξέος.	159
Πίνακας 6.2.17: Τιμές ολικών και επιμέρους πολυφαινολών, ολεανολικού οξέος και αντιοξειδωτικής δράσης ξηρών καρπών και ελαιούχων σπόρων	161
Πίνακας 6.2.18: Συσχετίσεις μεταξύ μεθόδων προσδιορισμού πολυφαινολών και αντιοξειδωτικής δράσης: α) όλων των ξηρών καρπών και ελαιούχων σπόρων και β) όλων των ξηρών καρπών και ελαιούχων σπόρων, εκτός του ηλιόσπορου.	161
Πίνακας 6.2.19: Αντιοξειδωτική δράση οσπρίων: (α) Ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH [•] (2,2-διφαινυλο-1-πικρυλοϋδραζυλο ελεύθερη ρίζα) εκφρασμένη σε ισοδύναμα Trolox και (β) Ικανότητα αναγωγής του Fe ³⁺ (FRAP, ferric anion reducing antioxidant power) εκφρασμένη σε ισοδύναμα ασκορβικού οξέος.	163
Πίνακας 6.2.20: Τιμές ολικών και επιμέρους πολυφαινολών, υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων και αντιοξειδωτικής δράσης οσπρίων	165
Πίνακας 6.2.21: Συσχετίσεις μεταξύ μεθόδων προσδιορισμού πολυφαινολών και αντιοξειδωτικής δράσης οσπρίων	166

Σχήματα

	Σελίδα
Σχήμα 1.1: Πυραμίδα Μεσογειακής Διατροφής	1
Σχήμα 3.1: Μηχανισμός ελευθέρων ριζών	43
Σχήμα 3.2: Δομή και σχετική δραστικότητα τοφερολών και τοκοτριενολών.	49
Σχήμα 3.3: Το ισοδύναμο της βιταμίνης E, Trolox και η δέσμευση της ρίζας ABTS – από τα αντιοξειδωτικά	72
Σχήμα 3.4: Οι ενώσεις που εμπλέκονται στη μέθοδο FRAP	73
Σχήμα 3.5: Η ελεύθερη ρίζα DPPH	74
Σχήμα 3.6: Λουμινόλη και συγγενείς ενώσεις	74
Σχήμα 3.7: Η αναγωγή του Cu(II) σε Cu(I) από τα αντιοξειδωτικά	75
Σχήμα 3.8: Η διαδικασία της αθηρογένεσης.	76
Σχήμα 3.9: In vitro μελέτη της οξείδωσης της LDL χοληστερόλης	77
Σχήμα 3.10: Σχηματισμός λιπιδικών υδροϋπεροξειδίων συζυγών διενίων κατά τη διάρκεια της προκαλούμενης από Cu^{+2} οξείδωσης της LDL, είτε κατά την απουσία (διακεκομμένη γραμμή), είτε κατά την παρουσία (ευθείες a, b, c) υδρόφιλων εκχυλισμάτων από 30 (a), 60 (b) και 100 (c) μg ξηρού καρπού	82
Σχήμα 3.11: Ο σχηματισμός TBARS (Thiobarbituric acid reacting substance) στην προκαλούμενη από AAPH οξείδωση στο πλάσμα μειώνεται στην παρουσία των φαινολικών ενώσεων του καρυδιού και του ελλαγικού οξέος.	83
Σχήμα 3.12: Οι επιδράσεις των πλούσιων σε πολυφαινόλες εκχυλισμάτων του καρυδιού και των πρότυπων φαινολικών ενώσεων στο χρόνο υστέρησης της οξείδωσης της LDL.	84

Σχήμα 4.1: Διατροφικές οδηγίες με βάση την Κρητική Διατροφή	85
Σχήμα 5.3.1: Καμπύλη αναφοράς καφεϊκού οξέος	112
Σχήμα 5.3.2: Καμπύλη αναφοράς Trolox	114
Σχήμα 5.3.3: Πρότυπη καμπύλη ασκορβικού οξέος	117
Σχήμα 5.3.4: Οξειδωση της λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (LDL)	118
Σχήμα 6.2.1: Ενδεικτικό χρωματογράφημα δείγματος ξηρού καρπού (καρύδι)	140
Σχήμα 6.2.2: Ενδεικτικό χρωματογράφημα οσπρίου (μπαρμπούνοφάσολα).	151
Σχήμα 6.3.1: Διαγραμματική παρουσίαση της παραγωγής συζυγών διενίων κατά τη διάρκεια της οξειδωσης της LDL από Cu^{+2} , κατά την απουσία (OX LDL) και κατά την παρουσία εκχυλίσματος αμυγδάλου (almond).	170
Σχήμα 6.3.2: Διαγραμματική παρουσίαση της παραγωγής συζυγών διενίων κατά τη διάρκεια της οξειδωσης της LDL από Cu^{+2} , κατά την απουσία (OX LDL) και κατά την παρουσία εκχυλίσματος καρυδιού (walnut).	171
Σχήμα 6.3.3: Διαγραμματική παρουσίαση της παραγωγής συζυγών διενίων κατά τη διάρκεια της οξειδωσης της LDL από Cu^{+2} , κατά την απουσία (OX LDL) και κατά την παρουσία εκχυλίσματος φιστικιού Αιγίνης (pistachio).	172
Σχήμα 6.3.4: Διαγραμματική παρουσίαση της παραγωγής συζυγών διενίων κατά τη διάρκεια της οξειδωσης της LDL από Cu^{+2} , κατά την απουσία (OX LDL) και κατά την παρουσία εκχυλίσματος φουντουκιού (HAZ).	173

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

Σύσταση ξηρών καρπών

1.1 Οι ξηροί καρποί ως μέρος της Μεσογειακής Διατροφής

Η παραδοσιακή Μεσογειακή Διατροφή, ύστερα από μελέτες και στη χώρα μας και αλλού, έχει αποδειχτεί η πιο υγιεινή διατροφή. Η Μεσογειακή διατροφή χαρακτηρίζεται από τις διατροφικές συνήθειες που βρέθηκε ότι είχαν οι κάτοικοι της Κρήτης και της Νότιας Ιταλίας στις αρχές της δεκαετίας του 1960. Είναι ξακουστή για τις ευεργετικές της ιδιότητες καθώς προφυλάσσει από εμφράγματα του μυοκαρδίου και από διάφορες μορφές καρκίνου, είναι φτωχή σε θερμίδες, τονώνει τον οργανισμό, βοηθά την καλή λειτουργία του εντέρου κ.ά. Πλήθος μελετών έχουν δείξει ότι οι κάτοικοι Μεσογειακών περιοχών ζουν περισσότερο, ενώ πολύ σπανιότερα σε σχέση με τους Αμερικανούς και τους Βορειοευρωπαίους, πάσχουν από καρκίνο εντέρου και στήθους ή καρδιακές παθήσεις. Το μενού είναι απλό και στηρίζεται στη λιτή διατροφή: χορταρικά, φρούτα, όσπρια, λαχανικά, αγνό τυρί, ζυμωτό μαύρο ψωμί, ωμό ελαιόλαδο, ξηροί καρποί, λίγο σπιτικό κρασί και ψάρια (Σχήμα 1.1). Αυτά τα βασικά χαρακτηριστικά της Μεσογειακής διατροφής, δηλαδή η υψηλή κατανάλωση φρούτων, λαχανικών και ακόρεστων λιπαρών, προστατεύουν, εκτός των άλλων, και το δέρμα από τα σημάδια του χρόνου. Σε συνδυασμό με καθημερινή σωματική άσκηση (π.χ. περπάτημα, χορός, κλπ) το Μεσογειακό διατροφικό μενού αποτελεί συνταγή για μακροζωία, υγεία και ομορφιά.



Σχήμα 1.1: Πυραμίδα Μεσογειακής Διατροφής.

Οι ξηροί καρποί αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι της δίαιτας των Μεσογειακών λαών. Από πολύ παλιά ο κόσμος αναγνώρισε τα ευεργετικά συστατικά των ξηρών καρπών και τους χρησιμοποίησε στη διατροφή του. Ειδικά στην Ελλάδα και στην Κύπρο που η θρησκεία μας επιβάλλει πολλές περιόδους νηστείας, οι ξηροί καρποί αποτέλεσαν και αποτελούν καλή πηγή ενέργειας σε αυτές τις περιόδους. Η μειωμένη κατανάλωση κορεσμένου λίπους (ζωικό-επιβλαβές) κατά τη νηστεία και η ταυτόχρονη κατανάλωση μονοακόρεστου λίπους από το ελαιόλαδο, το ταχίνι και τους ξηρούς καρπούς συντελούν στη μείωση των καρδιαγγειακών παθήσεων, στην ομαλοποίηση της αρτηριακής πίεσης και στην πτώση του σακχάρου. Στην Ελλάδα καταναλώνονται ευρέως οι ξηροί καρποί, όπως τα φιστίκια Αιγίνης, τα φουντούκια, τα καρύδια, τα αμύγδαλα, αλλά και οι ελαιούχοι σπόροι, όπως ο ηλιόσπορος και ο κολοκυθόσπορος.

Οι ξηροί καρποί μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες: στους ξηρούς καρπούς που προέρχονται από δέντρα και τους ξηρούς καρπούς του εδάφους. Βέβαια, δε συμφωνούν όλοι οι ερευνητές με το διαχωρισμό αυτό. Επειδή στις μεσογειακές χώρες εκτός από το σιτάρι, τις ελιές, τα όσπρια, τα λαχανικά και τα φρέσκα φρούτα, οι ξηροί καρποί παράγονταν σε αφθονία για μεγάλο χρονικό διάστημα, μπορούν να θεωρηθούν ως ξεχωριστή ομάδα τροφίμων και ονομάζονται «Μεσογειακοί Ξηροί Καρποί», οι οποίοι χωρίζονται περαιτέρω σε δύο υποομάδες: στους Μεσογειακούς ελαιούχους ξηρούς καρπούς (αμύγδαλο, φουντούκι, φιστίκι Αιγίνης, καρύδι) και τους Μεσογειακούς αμυλούχους ξηρούς καρπούς (κάστανο, χαρούπι), (Flaminio Fidanza, II Conferencia SALUD Y FRUTOS SECOS, Barcelona, 2002).

Οι ελαιούχοι ξηροί καρποί ορίζονται διαφορετικά από τους ξηρούς καρπούς. Οι ξηροί καρποί μπορούν να είναι σπόροι αλλά δεν είναι όλοι οι σπόροι ξηροί καρποί. Ένας σπόρος προέρχεται από ένα καρπό και μπορεί να αφαιρεθεί απ' αυτόν. Ένας ξηρός καρπός είναι σύνθετο σύστημα σπόρου και καρπού, τα οποία δε μπορούν να διαχωριστούν.

A. Σύσταση σε λίπος και λιπαρά οξέα

Αυξανόμενα στοιχεία δείχνουν ότι οι δίαιτες που περιέχουν ξηρούς καρπούς μπορεί να δρουν προστατευτικά έναντι των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Οι ξηροί καρποί είναι τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε λίπος. Παρόλα αυτά, πάνω από το

75% του λίπους που περιέχεται στους ξηρούς καρπούς είναι ακόρεστο και έτσι οι ξηροί καρποί θεωρείται ότι έχουν ένα προφίλ λιπαρών οξέων που είναι καρδιοπροστατευτικό. Τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (MUFA) είναι τα κυρίαρχα λιπαρά οξέα στους ξηρούς καρπούς και παρέχουν, κατά μέσο όρο, περίπου το 62% της ενέργειας που προέρχεται από λίπος στους ξηρούς καρπούς (Maguire et al., 2004).

Είναι ευρέως γνωστό ότι ο τύπος του λίπους στη δίαιτα επηρεάζει τα επίπεδα χοληστερόλης πλάσματος σε μεγαλύτερο βαθμό απ' ό,τι η ολική πρόσληψη λίπους. Έτσι, η αντικατάσταση του κορεσμένου λίπους από ακόρεστο μπορεί να είναι πιο ευεργετική στην αντιμετώπιση των καρδιαγγειακών νοσημάτων από τη μείωση της συνολικής πρόσληψης λίπους (Maguire et al., 2004). Επίσης, φαίνεται ότι αντικαθιστώντας το 50% του καθημερινού προσλαμβανόμενου λίπους με λίπος που προέρχεται από ξηρούς καρπούς, μπορεί να επέλθει σημαντική μείωση των επιπέδων ολικής και LDL χοληστερόλης στους ανθρώπους (Wijeratne et al., 2006). Οι δίαιτες πλούσιες σε MUFA έχουν ευνοϊκή επίδραση στο λόγο ολική χοληστερόλη/λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας (HDL), ο οποίος θεωρείται καλύτερος δείκτης κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα απ' ό,τι τα επίπεδα ολικής χοληστερόλης μόνο. Επίσης, αυτές οι δίαιτες μειώνουν τα επίπεδα λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL), χωρίς να επηρεάζουν δυσμενώς το κλάσμα της HDL, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα (Maguire et al., 2004).

Στους παρακάτω πίνακες φαίνεται το περιεχόμενο μερικών ξηρών καρπών σε λίπος, καθώς και η σύσταση των ελαίων των ξηρών καρπών σε λιπαρά οξέα (Maguire et al., 2004).

Πίνακας 1.1: Περιεχόμενο σε λίπος και αριθμός υπεροξειδίου των ελαίων που εξάγονται από πέντε ξηρούς καρπούς.

<i>Oil sample</i>	<i>Total oil (g/100 g)</i>	<i>Peroxide value (meq O₂/kg oil)</i>
Hazelnut	49.2 ± 1.6	0.43 ± 0.04
Macadamia	59.2 ± 1.5	0.36 ± 0.03
Peanut	37.9 ± 1.8	0.39 ± 0.04
Walnut	50.8 ± 1.4	0.37 ± 0.07
Almond	40.8 ± 2.5	0.19 ± 0.004

Results are the mean value ± standard error of the mean from three independent experiments.

Πίνακας 1.2: % Σύσταση σε λιπαρά οξέα των ελαίων που εξάγονται από πέντε ξηρούς καρπούς.

Oil sample	Fatty acid											
	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:3	20:5	22:0	22:6
Hazelnut	0.13	5.82	0.29	2.74	79.30	10.39	0.46	0.16	ND	ND	ND	ND
Macadamia	0.95	8.37	17.28	3.17	65.15	2.31	0.06	2.28	0.01	ND	0.2	0.27
Peanut	0.03	11.08	0.15	2.66	38.41	44.6	0.58	1.57	0.02	0.02	0.1	0.75
Walnut	0.13	6.70	0.23	2.27	21.00	57.46	11.58	0.08	ND	0.06	0.07	ND
Almond	0.06	6.85	0.63	1.29	69.24	21.52	0.16	0.16	ND	ND	0.05	ND

Results are the mean value from three independent experiments. ND, not detected.

Πίνακας 1.3: Σύνοψη των σημαντικότερων παραμέτρων που αφορούν στα λιπαρά οξέα των ελαίων που εξάγονται από πέντε ξηρούς καρπούς.

Oil sample	Polyunsaturated fatty acids (g/100 g)	Monounsaturated fatty acids (g/100 g)	Total saturated fatty acids (g/100 g)	Total unsaturated fatty acids (g/100 g)	Ratio unsaturated/saturated
Hazelnut	10.9	79.6	9.2	90.4	9.9
Macadamia	2.4	82.4	15.1	84.8	5.6
Peanut	46.0	38.6	15.5	84.5	5.45
Walnut	69.0	21.2	9.5	90.3	9.5
Almond	21.7	69.9	8.5	91.6	10.8

Results are the mean value from three independent experiments.

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 1.1, το περιεχόμενο των ξηρών καρπών σε λίπος είναι υψηλό και κυμαίνεται από 37 έως 59%. Η ανάλυση για το προφίλ λιπαρών οξέων δείχνει αυξημένο λόγο ακόρεστων/κορεσμένων λιπαρών οξέων. Τα κύρια κορεσμένα λιπαρά οξέα στους ξηρούς καρπούς είναι το στεατικό (C18:0) και το παλμιτικό οξύ (C16:0) με ίχνη μυριστικού (C14:0) και εικοσανοϊκού οξέος (C20:0). Τα υψηλότερα επίπεδα κορεσμένων λιπαρών οξέων βρέθηκαν στους ξηρούς καρπούς macadamia και στα αράπικα φιστίκια. Παρόλο που ταξινομούνται μαζί με τους άλλους ξηρούς καρπούς, τα φιστίκια ανήκουν στα λεγκουμινώδη, αναπτύσσονται υπόγεια και συχνά αναφέρονται ως καρποί εδάφους (groundnuts). Τα αποτελέσματα της μελέτης των Maguire et al. (2004) δείχνουν ότι τα φιστίκια έχουν όμοια σύσταση με τους ξηρούς καρπούς που αναπτύσσονται στα δέντρα. Τα κύρια ακόρεστα λιπαρά οξέα στους ξηρούς καρπούς είναι το ελαϊκό (C18:1), το λινελαϊκό (C18:2), το λινολενικό (C18:3) και το παλμιτελαϊκό οξύ (C16:1). Σε αντίθεση με τα φουντούκια και τα αμύγδαλα, όπου το κύριο μονοακόρεστο λιπαρό οξύ είναι το ελαϊκό (C18:1), στους ξηρούς καρπούς macadamia το παλμιτελαϊκό οξύ (C16:1) φτάνει σε ποσοστό 21%. Το έλαιο αυτού του ξηρού καρπού περιέχει το υψηλότερο ποσοστό μονοακόρεστων λιπαρών οξέων, ποσοστό το οποίο είναι υψηλότερο και από

το αναφερόμενο για το ελαιόλαδο, το εμπλουτισμένο σε ελαϊκό οξύ ηλιέλαιο και το κραμβέλαιο (Leissner et al, 1989). Το καρύδι είναι σημαντική πηγή ω-3 λιπαρών οξέων. Το λινολενικό οξύ (C18:3) βρίσκεται περίπου σε ποσοστό 12% στους ξηρούς καρπούς. Ένας πιθανός μηχανισμός που εξηγεί την προστατευτική δράση των ξηρών καρπών έναντι των καρδιαγγειακών νοσήματων είναι η μείωση της θανατηφόρας κοιλιακής αρρυθμίας (Albert et al, 2002). Υπάρχουν διάφορα συστατικά των ξηρών καρπών που μπορούν πιθανώς να παρουσιάζουν τέτοια δράση, συμπεριλαμβανομένου και του α-λινολενικού οξέος. Έτσι, το καρύδι πιθανώς να είναι σημαντικό για το σκοπό αυτό.

B. Σύσταση σε πρωτεΐνες και αμινοξέα

Οι ξηροί καρποί είναι τυπικές πλούσιες πηγές λίπους αλλά και πρωτεϊνών. Η διατροφική αξία των πρωτεϊνών των ξηρών καρπών δεν είναι πολύ ψηλή. Το χημικό σκορ κυμαίνεται από 0.38 έως 0.54 και το περιοριστικό αμινοξύ είναι η λυσίνη (Flaminio Fidanza, II Conferencia SALUD Y FRUTOS SECOS, Barcelona, 2002). Η πρωτεϊνική σύσταση των ξηρών καρπών εξαρτάται από την περιοχή ανάπτυξης και την καλλιέργεια. Παρακάτω παρουσιάζεται η σύσταση κάποιων ξηρών καρπών σε πρωτεΐνες (Venkatachalam and Sathe, 2006).

Πίνακας 1.4: Πρωτεϊνικό περιεχόμενο ορισμένων ξηρών καρπών

nut	protein
almond (<i>Prunus dulcis</i>)	19.48 ± 0.51
Brazil nut (<i>Bertholletia excelssa</i>)	13.93 ± 0.40
cashew nut (<i>Anacardium occidentale</i>)	18.81 ± 0.06
hazelnut (<i>Corylus avellana</i>)	14.08 ± 0.34
macadamia nut (<i>Macadamia integrifolia</i>)	8.40 ± 0.71
pecan (<i>Carya illinoensis</i>)	7.50 ± 0.24
pine nut (<i>Pinus pinea</i>)	13.08 ± 0.75
pistachio (<i>Pistachia vera</i>)	19.80 ± 0.49
walnut (<i>Juglans regia</i>)	13.46 ± 0.47
Virginia peanut (<i>Arachis hypogaea</i>)	21.56 ± 0.26
LSD ($p = 0.05$)	1.62

^a All values are expressed on a grams per 100 g of edible portion basis (as-is basis), and data are reported as mean ± standard error of mean ($n = 3$).

Τα κύρια αμινοξέα στους ξηρούς καρπούς είναι το γλουταμινικό οξύ, η αργινίνη και το ασπαραγινικό οξύ (Flaminio Fidanza, II Conferencia SALUD Y FRUTOS SECOS, Barcelona, 2002). Η σύσταση των ξηρών καρπών σε αμινοξέα συνοψίζεται στον πίνακα 1.5 (Venkatachalam and Sathe, 2006).

Όπως προκύπτει από τον παρακάτω πίνακα τα υδρόφοβα αμινοξέα κυριαρχούν στις πρωτεΐνες των ξηρών καρπών και κυμαίνονται από 37.2% (macadamia) ως 44.5% (Brazil nuts). Τα όξινα αμινοξέα (Glu+Asp) είναι η επόμενη κυρίαρχη ομάδα (28.0% - Brazil nuts ως 36.0% - αμύγδαλα), ενώ ακολουθούν τα βασικά (16.1% - αμύγδαλα ως 21.2% - κουκουνάρι) και τα υδρόφιλα αμινοξέα (8.5% - αμύγδαλα ως 11.6% - φιστίκια Αιγίνης). Συγκρινόμενα τα αποτελέσματα αυτά με τις συστάσεις του FAO/WHO για τα απαραίτητα αμινοξέα στην ηλικία 2-5 ετών, η λυσίνη είναι το πρώτο απαραίτητο περιοριστικό αμινοξύ στο φουντούκι, στο καρύδι, στα cashew nuts, στα κουκουνάρια και στα Brazil nuts, ενώ τα θειούχα αμινοξέα (Met+Cys) είναι τα πρώτα απαραίτητα περιοριστικά αμινοξέα στα αμύγδαλα. Η θρυπτοφάνη είναι το πρώτο απαραίτητο περιοριστικό αμινοξύ στο φιστίκι Αιγίνης, στους καρπούς της λευκής καρυάς (pecan nuts) και στους καρπούς macadamia. Η θρεονίνη είναι το πρώτο απαραίτητο περιοριστικό αμινοξύ στα φιστίκια Virginia. Σε σχέση με τις συστάσεις του FAO/WHO για τα απαραίτητα αμινοξέα στους ενήλικες, μόνο τα αμύγδαλα και τα φιστίκια είναι πλήρη σε θειούχα αμινοξέα, ενώ οι υπόλοιποι ξηροί καρποί φαίνεται να περιέχουν επαρκείς ποσότητες απ' όλα τα απαραίτητα αμινοξέα (Venkatachalam and Sathe, 2006) .

Η αργινίνη είναι πρόδρομη ένωση του μονοξειδίου του αζώτου (NO). Το NO έχει αγγειοδιασταλτικές, αντιοξειδωτικές και αντιθρομβωτικές ιδιότητες, οι οποίες προστατεύουν από τον κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα. Οι αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις των συστατικών των ξηρών καρπών μπορεί να προσφέρουν ευεργετήματα στον ανθρώπινο οργανισμό, όπως μείωση του κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα, ελάττωση του οξειδωτικού φορτίου των κυττάρων και πιθανώς έχουν θετικές επιπτώσεις έναντι φλεγμονωδών καταστάσεων, όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα. Η σύσταση των ξηρών καρπών σε αργινίνη (από 9.15 g/100 g πρωτεΐνης στο φιστίκι Αιγίνης έως 15.41 g/100 g πρωτεΐνης στα κουκουναρόμηλα που ισοδυναμούν με 1.8 και 2.0 g αργινίνης/100 g βρώσιμων ξηρών καρπών) είναι συγκρίσιμη με την ποσότητα της στο κόντρα φιλέτο (2.14 g/110 g προϊόντος), στο ψάρι μερλούγγιο (2.15 g/182.55 g προϊόντος) και στα αράπικα φιστίκια (2.14 g/64.4 g προϊόντος). Έτσι, οι ξηροί καρποί θεωρούνται από τις πλουσιότερες πηγές αργινίνης. Όσον αφορά στη λυσίνη, τα επίπεδα της στους ξηρούς καρπούς είναι χαμηλά. Αυτό είναι θετικό από την άποψη ότι η λυσίνη παρεμποδίζει την πρόσληψη αργινίνης *in vivo* από τα κύτταρα (Venkatachalam and Sathe, 2006).

Το υψηλό περιεχόμενο των βρώσιμων ξηρών καρπών σε αργινίνη, σε συνδιασμό με την παρουσία μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, τους καθιστούν μία συνετή επιλογή και ως μέρος μιας ισορροπημένης διατροφής μπορούν να προσφέρουν πλεονεκτήματα στην ανθρώπινη υγεία. Οι θετικές επιδράσεις των ξηρών καρπών στην υγεία οφείλονται και στη σύσταση τους σε μη πρωτεϊνικά συστατικά, όπως οι φυτικές ίνες, τα μεταλλικά στοιχεία, κάποιες βιταμίνες και προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών, όπως οι φαινολικές ενώσεις (Venkatachalam and Sathe, 2006).

Πίνακας 1.5: Ολική σύσταση αμινοξέων

amino acid	almond	Brazil nut	cashew nut	hazelnut	macadamia nut	pecan	pine nut	pistachio	walnut	Virginia peanut	LSD
Asx	9.18 ± 0.08	7.69 ± 0.18	8.53 ± 0.16	9.25 ± 0.02	8.69 ± 0.51	9.33 ± 0.46	8.63 ± 0.00	8.55 ± 0.27	9.11 ± 0.71	12.07 ± 0.26	1.18
Glx	26.78 ± 1.09	20.26 ± 0.09	22.43 ± 0.13	23.88 ± 0.04	23.65 ± 1.04	21.06 ± 0.37	20.45 ± 0.02	23.02 ± 0.43	21.03 ± 0.63	21.11 ± 0.17	1.90
Ser	3.67 ± 0.18	4.00 ± 0.53	5.21 ± 0.21	4.69 ± 0.10	4.30 ± 0.13	5.21 ± 0.02	5.47 ± 0.06	6.25 ± 0.11	5.33 ± 0.18	4.81 ± 0.17	0.74
Gly	6.88 ± 0.07	4.75 ± 0.08	4.55 ± 0.25	4.73 ± 0.05	4.87 ± 0.33	4.73 ± 0.38	4.39 ± 0.04	4.93 ± 0.35	4.89 ± 0.03	6.43 ± 0.30	0.80
His (1.9/1.6)	2.97 ± 0.14	2.92 ± 0.07	2.68 ± 0.02	2.65 ± 0.09	2.45 ± 0.28	2.80 ± 0.11	2.23 ± 0.16	2.38 ± 0.10	2.43 ± 0.04	2.54 ± 0.07	0.44
Arg	10.09 ± 0.29	12.91 ± 0.38	9.84 ± 0.04	12.51 ± 0.13	12.53 ± 0.13	12.45 ± 0.14	15.41 ± 0.01	9.15 ± 0.19	13.80 ± 0.07	11.04 ± 0.19	0.65
Thr (3.4/0.9)	2.60 ± 0.10	2.27 ± 0.29	3.22 ± 0.26	2.95 ± 0.05	2.81 ± 0.34	2.90 ± 0.23	2.43 ± 0.10	2.97 ± 0.25	3.00 ± 0.39	2.21 ± 0.11	0.82
Ala	4.85 ± 0.10	4.30 ± 0.30	4.44 ± 0.06	5.12 ± 0.06	4.51 ± 0.09	5.06 ± 0.02	5.00 ± 0.02	4.78 ± 0.24	4.69 ± 0.02	4.58 ± 0.20	0.49
Pro	5.09 ± 0.38	5.21 ± 0.20	5.37 ± 0.04	4.81 ± 0.09	6.77 ± 0.81	5.50 ± 0.35	5.27 ± 0.02	5.53 ± 0.63	5.50 ± 0.67	5.81 ± 0.16	1.47
Val (3.5/1.3)	4.41 ± 0.12	4.71 ± 0.05	5.65 ± 0.08	4.66 ± 0.04	4.31 ± 0.03	4.72 ± 0.03	4.52 ± 0.05	5.69 ± 0.08	4.61 ± 0.08	3.95 ± 0.02	0.68
Met (2.5/1.7)	0.81 ± 0.20	0.98 ± 0.14	2.27 ± 0.11	1.90 ± 0.00	2.15 ± 0.05	2.52 ± 0.02	2.93 ± 0.02	1.88 ± 0.04	2.14 ± 0.05	1.31 ± 0.04	0.30
Cys	0.30 ± 0.10	0.75 ± 0.14	0.54 ± 0.02	0.52 ± 0.03	0.84 ± 0.23	0.45 ± 0.01	0.67 ± 0.01	0.53 ± 0.03	0.46 ± 0.06	0.33 ± 0.07	0.32
Ile (2.8/1.3)	3.79 ± 0.12	3.21 ± 0.02	4.15 ± 0.02	3.69 ± 0.01	3.26 ± 0.03	4.08 ± 0.04	3.65 ± 0.03	4.10 ± 0.11	4.00 ± 0.03	3.45 ± 0.04	0.19
Leu (6.6/1.9)	7.19 ± 0.19	7.89 ± 0.08	8.00 ± 0.05	7.40 ± 0.04	6.55 ± 0.04	7.51 ± 0.06	7.30 ± 0.01	7.56 ± 0.23	7.76 ± 0.01	7.03 ± 0.03	0.35
Phe (6.3/1.9)	5.46 ± 0.11	4.06 ± 0.07	4.83 ± 0.03	4.54 ± 0.03	3.34 ± 0.04	5.09 ± 0.02	3.59 ± 0.02	4.92 ± 0.24	4.63 ± 0.04	5.38 ± 0.12	0.33
Tyr	2.21 ± 0.45	2.47 ± 0.14	2.43 ± 0.13	2.82 ± 0.12	4.31 ± 0.19	3.01 ± 0.01	3.73 ± 0.12	2.40 ± 0.10	3.41 ± 0.02	3.40 ± 0.19	0.64
Lys (5.8/1.6)	3.06 ± 0.30	2.95 ± 0.06	4.59 ± 0.08	2.93 ± 0.01	4.10 ± 0.03	3.17 ± 0.01	3.54 ± 0.08	4.64 ± 0.69	2.71 ± 0.06	3.88 ± 0.07	0.83
Trp (1.1/0.5)	0.70 ± 0.01	0.71 ± 0.02	1.31 ± 0.08	0.98 ± 0.01	0.59 ± 0.04	0.47 ± 0.01	0.84 ± 0.05	0.78 ± 0.06	0.55 ± 0.02	0.73 ± 0.01	0.13

LEAA ^b	almond	Brazil nut	cashew nut	hazelnut	macadamia	pecan	pine nut	pistachio	walnut	Virginia peanut
first	Met/Cys	Lys	Lys	Lys	Trp	Trp	Lys	Trp	Lys	Thr
second	Lys	Trp	Thr	Thr	Lys	Lys	Thr	Lys	Trp	Met/Cys
third	Trp	Thr		Trp	Thr	Thr	Trp	Thr	Thr	Trp

LEAA ^c	almond	Brazil nut	cashew nut	hazelnut	macadamia	pecan	pine nut	pistachio	walnut	Virginia peanut
first	Met/Cys									Met/Cys
second										
third										
E/T (%)	30.97	37.67	36.68	31.69	29.54	33.23	31.00	34.88	31.82	30.44

AAD ^d (%)	almond	Brazil nut	cashew nut	hazelnut	macadamia	pecan	pine nut	pistachio	walnut	Virginia peanut
hydrophobic	39.44	44.54	41.09	38.33	37.16	40.10	38.13	40.66	39.21	38.96
hydrophilic	8.48	8.74	10.86	10.46	11.42	11.11	11.62	11.61	11.74	10.41
acidic	35.96	27.95	30.96	33.13	32.34	30.39	29.08	31.57	30.13	33.17
basic	16.12	18.77	17.10	18.08	19.07	18.42	21.17	16.16	18.94	17.45

^a All amino acid (AA) values are expressed as grams per 100 g of protein, and data are reported as mean ± standard deviation (n = 2). For botanical names, see Table 2 footnote. All samples are corrected for 100% recovery using norleucine as an internal standard. Numbers in parentheses represent essential amino acid scores compared to the FAO/WHO recommended pattern for ^bpre-school child (2–5 years) and ^cadult, respectively, and the LEAA value represents corresponding limiting essential amino acid (recommendations by the joint FAO/WHO expert Consultation, 1989). E/T (%) represents essential to total amino acid ratio. ^d Amino acid distribution.

Γ. Σύσταση σε υδατάνθρακες και φυτικές ίνες

Η ποσότητα των διαθέσιμων υδατανθράκων είναι αρκετά χαμηλή, αλλά οι διαιτητικές ίνες είναι σε υψηλά επίπεδα στους ξηρούς καρπούς (Πίνακας 1.6). Οι διαιτητικές ίνες στους ξηρούς καρπούς είναι κυρίως μη διαλυτές. Σ' αυτές ανήκουν η λιγνίνη, η κυτταρίνη και ορισμένα μόρια ημικυτταρίνης.

Η κατανάλωση ολόκληρων ξηρών καρπών, όπως αμύγδαλα, κάστανα και καρύδια τύπου pecan, παρέχει στον οργανισμό επαρκείς ποσότητες φυτικών ινών, οι οποίες παρουσιάζουν λειτουργικές ιδιότητες (Venkatachalam and Sathe, 2006). Συγκεκριμένα, μειώνουν τη χοληστερόλη με παράλληλη αύξηση του λόγου HDL/LDL, απορροφούν νερό συμβάλλοντας έτσι στην αντιμετώπιση της υπεργλυκαιμίας, παρουσιάζουν αντικαρκινική δράση και επηρεάζουν τη λειτουργία του παχέος εντέρου εφόσον αυξάνουν τον όγκο των κοπράνων. Το τελευταίο αποτελεί χαρακτηριστική λειτουργία των μη διαλυτών φυτικών ινών.

Πίνακας 1.6: Σύσταση ξηρών καρπών σε μακροθρεπτικά συστατικά και διαιτητικές ίνες

	Water	Protein	Lipids	Sugar	Starch	Dietary Fiber	Energy	
	g/100 g						kcal	MJ
Almond	5.5	19.4	54.2	3.5	1.2	12.5	584	2.4
Hazelnut	4.5	13.7	64.1	4.1	1.8	8.1	642	2.7
Pine nut	4.3	32.9	50.3	3.9	0.6	4.6	602	2.5
Pistachio	3.8	18.1	56.1	4.7	3.3	10.6	607	2.5
Walnut	3.6	15.6	67.4	2.9	1.2	7.0	686	2.9

(Amount in 100 g, edible portion)

(Από: Flaminio Fidanza, II Conferencia SALUD Y FRUTOS SECOS, Barcelona, 2002)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο

Στοιχεία και διατροφική αξία των ξηρών καρπών της παρούσας μελέτης.

Η σημασία τους στην ανθρώπινη υγεία

2.1. Στοιχεία και διατροφική αξία των ξηρών καρπών

Α. Καρύδι



Η καρυδιά είναι αυτοφυές δέντρο της Ασίας και κατατάσσεται στα φαρμακευτικά φυτά. Αξιοποιούνται σχεδόν όλα τα μέρη της (ρίζα, κορμός, φύλλα, καρποί, άνθη), τόσο για θεραπευτικούς και διατροφικούς σκοπούς, όσο και σε διάφορες βιομηχανίες. Διακρίνεται για την υψηλή διατροφική της αξία και για τη συμβολή της σε διάφορες ασθένειες.

1. ΟΝΟΜΑΣΙΑ-ΚΑΤΑΓΩΓΗ

Η καρυδιά είναι γνωστή με διάφορα ονόματα όπως γιούνγκλας η βασιλική (Jounglas regia), κάρνα η βασιλική και Αγγλική ή Περσική καρυδιά κ.α. Οι καρποί της πήραν το όνομα τους, κατά τον Πλούταρχο από το «κάρος» επειδή όσοι κοιμούνται κάτω απ' αυτή εισπνέουν τη βαριά οσμή που εκπέμπεται και πέφτουν σε βαθύ ύπνο.

Η καρυδιά κατάγεται από την Αρμενία και προ παντός από την Περσία, όπου βρίσκεται κυρίως σε άγρια κατάσταση. Στην Ασία απαντά στις περιοχές του

Καυκάσου, της Κασπίας θάλασσας, της Βιρμανίας, της Ιαπωνίας, στα Βόρεια των Ινδών και στην Κίνα. Στην Ευρώπη καλλιεργείται από τη Ρωμαϊκή εποχή για τα εδώδιμα καρύδια της και στην Ελλάδα βρίσκεται ως αυτοφυές και καλλιεργούμενο δέντρο σε πολλές περιοχές και κυρίως στη Θεσσαλία, την Ήπειρο και την Τυμφρηστό.

2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ-ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ

Η καρυδιά ανήκει στο βασίλειο των φυτών (Βασίλειο: Plantae), στα σπερματόφυτα (Άθροισμα: Spermatophyta), αγγειόσπερμα φυτά (Ομάδα: Angiospermae, Υποάθροισμα: Mangoliophytina), είναι δικοτυλήδονο - απέταλο (Κλάση: Mangoliatae, Υποκλάση: Hamamelidae) και ανήκει στην οικογένεια των Καρυωδών (Juglandaceae) της τάξης Juglandales και στο γένος Juglans.

Το γένος αυτό αριθμεί 55 περίπου είδη, καθώς και αρκετές ποικιλίες. Από τις ελληνικές οι πιο διαδεδομένες είναι η «Ανδριώτικη», η «Καρπενισσιώτικη», η ποικιλία «Σελιτσάνης», τα «Μυτοκάρυδα», τα «Αγιορείτικα», τα «Γυμνοκάρυδα» κ.α. Από τις ξένες ποικιλίες οι πιο γνωστές είναι η «Φελτρίνα», το καρύδι του «Σερέντο», η «Παριζιάνικη», η «Φρανκέτ» (Franquette), η «Μαγιέτ» (Mayette) κ.α.

3. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Η καρυδιά είναι ένα μεγάλο φυλλοβόλο δέντρο, μακρόβιο, ύψους 12-30 μέτρων, όπου σπάνια φτάνει τα 60 μέτρα. Είναι δέντρο με ελεύθερη ανάπτυξη, δυνατά κλαδιά και με μεγάλη απλωτή κόμη. Τα φύλλα της είναι μεγάλα, σύνθετα, χωρισμένα σε πολλά μικρότερα ωοειδή, σκουροπράσινα, κατά ζεύγη, φυλλάρια που έχουν ευχάριστη οσμή.

Τα άνθη της έχουν λευκό χρώμα, είναι μονογενή και παράγουν αρσενικά και θηλυκά αναπαραγωγικά όργανα σε διαφορετικά άνθη, πάνω στο ίδιο όμως δέντρο. Τα αρσενικά άνθη είναι διατεταγμένα κατά κρεμάμενους βότρες, ενώ τα θηλυκά κατά στάχεις στις άκρες των βλαστών. Ανθίζει Απρίλιο-Μάιο. Ο καρπός της είναι δρύπη, το γνωστό καρύδι, με σχήμα ωοειδές ή σφαιρικό. Το περικάρπιο του, που είναι πράσινο στην αρχή και μετά σκουραίνει όταν ωριμάσει, αποτελείται από ανθεκτική επένδυση, το ενδοκάρπιο που είναι σκληρό, ξυλώδες και λέγεται κέλυφος. Το ενδοκάρπιο αποτελείται από δύο τμήματα και περικλείει το σπέρμα (ψίχα), το οποίο χωρίζεται ως το μέσο σε τέσσερις λοβούς με τέσσερα μεμβρανώδη ημιδιαφράγματα.



4. ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ-ΣΥΛΛΟΓΗ

Η συγκομιδή των καρπών γίνεται με το τίναγμα των δέντρων με δονητές κορμών ή άκρων ανάλογα με το μέγεθός τους. Τα καρύδια συλλέγονται σε μεγάλα δοχεία και μεταφέρονται σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας, όπου αφαιρείται ο εξωτερικός φλοιός και ξηραίνονται σε στεγνωτήρες με εξαναγκασμένο αέρα στους 38-43 °C έως ότου η περιεχόμενη υγρασία φτάσει το 8%. Μπορούν να διατηρηθούν αρκετούς μήνες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος όταν είναι ξερά και για χρόνια όταν καταψυχθούν. Πωλούνται είτε με το περίβλημα μετά από λεύκανση, είτε μόνο η ψίχα.

5. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΚΑΡΠΩΝ ΤΗΣ ΚΑΡΥΔΙΑΣ

Το σαρκώδες πράσινο περικάρπιο των καρυδιών είναι πλούσιο σε καρπικά οξέα και μεταλλικά στοιχεία. Περιέχει άμυλο, χλωροφύλλη, μηλικό και κιτρικό οξύ, άλατα, τανίνη, δεσίνη και άλλες ουσίες. Ο χυμός του, διηθούμενος, είναι ανοιχτόχρωμος στην αρχή, όταν όμως έρθει σε επαφή με τον αέρα γίνεται σκούρος και ταυτόχρονα χάνει την πικρή του γεύση. Στην επιφάνεια του περικαρπίου σχηματίζεται μια μαύρη κρούστα που παράγεται από την αλλοίωση ενός συστατικού της καρυδιάς, της γιουκλόνης, που είναι άγευστη, άοσμη και όταν αποξηρανθεί έχει την όψη Εβραϊκού κατραμιού. Επίσης από το περικάρπιο παράγεται ένα αιθέριο έλαιο κίτρινου χρώματος, ινολίνη και γιουκλόνη, η οποία στον αέρα μετατρέπεται σε οξυαναφθακινόνη ή διοξυαναφθακινόνη. Στην επιδερμίδα του φλοιού περιέχεται και καρυοδεψικό οξύ. Τέλος, το περικάρπιο είναι πλούσιο σε βιταμίνη C. Η κιτρινόχρωμη επιδερμίδα που περιβάλλει το παρέγχυμα του καρυδιού έχει γεύση

πολύ στυπτική όταν είναι φρέσκια, που τη χάνει όταν ξεραθεί γιατί ελαττώνεται η περιεχόμενη σ' αυτή δεψίνη και κάποια ρητινώδης ύλη.

Το παρέγχυμα είναι λευκού χρώματος, έχει ευχάριστη και γλυκιά γεύση, περιέχει αζωτούχες, λιπαρές και εκχυλιστικές ουσίες, κυτταρίνη, αλβουμίνη, τέφρα και νερό. Από τη ψίχα παράγεται με έκθλιψη ένα σημαντικό έλαιο, το καρυδέλαιο, το οποίο περιέχει α-λινολενικό και α-λινολεϊκό οξύ, καθώς επίσης παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ. Έχει ευχάριστη, γλυκιά γεύση και μπορεί να αντικαταστήσει το ελαιόλαδο και το αγνό βούτυρο, παρουσιάζοντας όμως το μειονέκτημα ότι ταγγίζει εύκολα και γρήγορα. Η ψίχα έχει περιεκτικότητα σε λιπαρές ύλες 42 % όταν είναι φρέσκια και 57 % όταν είναι ξερή.

Τα άγουρα καρύδια είναι από τις πλουσιότερες πηγές ασκορβικού οξέος (βιταμίνη C). Χωνεύονται πιο εύκολα άγουρα, γιατί όταν ωριμάσουν κιτρινίζουν, ταγκίζουν, ερεθίζουν το λαιμό και προκαλούν δυνατούς κολικούς. Τα καρύδια περιέχουν ασβέστιο, κοβάλτιο, σίδηρο, φωσφόρο, μαγγάνιο, βιταμίνες κ.α (Πίνακας 2.1).

Η καρυδιά είναι δέντρο γνωστό εδώ και πολλά χρόνια για τη φαρμακευτική του δράση, η οποία οφείλεται στα διάφορα συστατικά που περιέχονται τόσο στη ρίζα, τα φύλλα, τον πράσινο φλοιό των καρυδιών, όσο και στα ίδια τα καρύδια. Περιέχει κυρίως ναφθοκινόνες, οξέα, φλαβονοειδή, τερπενοειδή, καροτενοειδή, πτητικά έλαια, υδρογονάνθρακες, τανίνες, αλδεΐδες, αλκαλοειδή, βιταμίνες, μέταλλα, ένζυμα, φωσφογλυκερίδια, αμίνες και πρωτεΐνες (Σάπικα Ε, Ιάτωρ, Δεκαπενθήμερη Έκδοση για τη Σύγχρονη Ιατρική Εποχή).

Πίνακας 2.1: Γενική σύσταση καρυδιού.

ΚΑΡΥΔΙ: ΜΑΚΡΟΣΥΣΤΑΤΙΚΑ			
Ενέργεια	Άμεσος υπολογισμός	Kcal/100g	739
Εμμεσος υπολογισμός		Kcal/100g	646
Πρωτεΐνη		g/100g	3,6
Υδατάνθρακες		g/100g	15,9
Λίπος, ολικό		g/100g	69,0
Κορεσμένα		% σύσταση λίπους	7,3
Μονοακόρεστα cis		% σύσταση λίπους	13,4
Πολυακόρεστα cis		% σύσταση λίπους	79,0
Trans		% σύσταση λίπους	ΔΑ
ω-3		% σύσταση λίπους	15,5
ω-6		% σύσταση λίπους	63,5
ω-6 / ω-3		-	4,09
Μονοακόρεστα / κορεσμένα		-	1,84
Πολυακόρεστα / κορεσμένα		-	10,83
Νερό		g/100g	4,3
Χοληστερόλη		mg/100g	<0,5
ΜΕΤΑΛΛΑ & ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ			
Ασβέστιο, Ca		mg / 100g	139
Κάλιο, K		mg / 100g	262
Μαγνήσιο, Mg		mg / 100g	495
Νάτριο, Na		mg / 100g	3
Σελήνιο, Se		μg / 100g	ΔΑ
Σίδηρος, Fe		mg / 100g	2,5
Φώσφορος, P		mg / 100g	1000
Χρόμιο, Cr		μg / 100g	ΔΑ

(http://nutrition.med.uoc.gr/GreekTables/pinakes/arxikos_pinakas.htm)

B. Φιστίκι Αιγίνης (*Pistachia vera*)



I. ΟΝΟΜΑΣΙΑ-ΚΑΤΑΓΩΓΗ

Η φιστικιά είναι δίοικο φυλλοβόλο δέντρο του γένους πιστακία και της οικογένειας ανακαρδιίδες. Η καταγωγή της είναι από το Ιράν και σήμερα καλλιεργείται ευρύτατα από την Ασία μέχρι τις Μεσογειακές χώρες και την Αμερική για το καρπό της, το φιστίκι.

Στην Ελλάδα καλλιεργείται μία από τις καλύτερες ποικιλίες στον κόσμο, η **Αιγινίτικη** με τα περίφημα **φιστίκια Αιγίνης**. Σε μικρότερο βαθμό καλλιεργείται η ποικιλία **Νυχάτη**. Οι καλλιέργειες της φιστικιάς τα τελευταία χρόνια εκτός από την Αίγινα και τα Μέγαρα, που ήταν παραδοσιακά φιστικοπαραγωγές περιοχές, επεκτάθηκε στη Φθιώτιδα, Βοιωτία και Εύβοια.

Το Ιράν έχει τη μεγαλύτερη παραγωγή στο κόσμο. Ακολουθούν οι Η.Π.Α., η Τουρκία και η Συρία. Η Ελλάδα είναι πρώτη στην Ευρώπη και έκτη στον κόσμο με 9.500 τόνους ετησίως (Πίνακας 2.2).

Πίνακας 2.2: Παγκόσμια παραγωγή φιστικιού (*Pistachia vera*)

Country	Production Percentage
Iran	38%
U.S. (mainly California)	28%
Turkey	12%
Syria	12%
China	7%
Greece	2%
Rest of world	1%

2. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Το ύψος του δέντρου φτάνει τα 10 μέτρα με πλούσια διακλάδωση με κλαδιά που έχουν χρώμα σταχτί. Τα [φύλλα](#) του είναι δερματώδη και σύνθετα. Οι [ταξιανθίες](#) της φιστικιάς σχηματίζουν τσαμπιά από μικρά άνθη. Οι φιστικιές είναι αρσενικά και θηλυκά δέντρα, με τα αρσενικά να ανθίζουν νωρίτερα. Έτσι η [γύρη](#) συλλέγεται και συντηρείται σε ψυγεία, και ρίχνεται αργότερα στα θηλυκά άνθη με τη μορφή ραντίσματος (τεχνητή επικονίαση). Ο καρπός του δέντρου έχει μήκος 1-2 εκατοστά και το περικάρπιο είναι δερματώδες και έχει πράσινο χρώμα, ενώ το εσωτερικό (ενδοκάρπιο) είναι ξυλώδες και σκληρό. Όταν ωριμάσει το περικάρπιο τότε γίνεται ωχρό, σχίζεται και πέφτει αφήνοντας το ενδοκάρπιο που με τη σειρά του ανοίγει αφήνοντας να φανεί η εσωτερική ψίχα. Αυτή έχει χρώμα πράσινο και περιβάλλεται από λεπτό φλοιό ρόδινου χρώματος (περισπέρμιο). Οι καρποί της φιστικιάς σχηματίζουν ολόκληρα τσαμπιά.

Η φιστικιά είναι δέντρο που δεν αντέχει την πολλή υγρασία. Αναπτύσσεται καλύτερα σε κρύο και σύντομο χειμώνα χωρίς πολλές βροχές και μακρύ και ζεστό καλοκαίρι. Οι ρίζες της μπαίνουν βαθιά μέσα στο έδαφος και έτσι είναι εξαιρετικά

ανθεκτική στην ξηρασία, περισσότερο ακόμα και από την ελιά. Πάντως χρειάζεται και πότισμα κατά καιρούς και ειδικά όταν η ξηρασία είναι παρατεταμένη. Το χώμα που προτιμά είναι αμμοπηλώδες με πολύ ασβέστιο. Η φιστικιά πολλαπλασιάζεται με εμβολιασμό και σπορά. Ο καρπός μαζεύεται, στεγνώνεται και φυλάσσεται για λίγο καιρό μέχρι να φυτευτεί.

Το έδαφος χρειάζεται αρκετά φρεζαρίσματα έτσι ώστε να εξαφανιστούν τα ζιζάνια για εξοικονόμηση της υγρασίας. Χρειάζεται λίπανση κυρίως με αζωτούχα λιπάσματα όταν το δέντρο είναι μικρό. Η απόδοση του δέντρου με κανονική καρποφορία αρχίζει τον 4ο χρόνο μετά από τη φύτευση του.

3. ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ-ΣΥΛΛΟΓΗ

Σήμερα η συγκομιδή γίνεται με σύγχρονες μεθόδους, με ειδικούς ηλεκτρικούς δονητές που τινάζουν τους καρπούς από τα δέντρα. Στη συνέχεια τα φιστίκια συγκεντρώνονται, ξεφλουδίζονται, πλένονται με ειδικό διάλυμα, στεγνώνονται και ξηραίνονται σε σκιερό μέρος. Μετά, μπαίνουν για να ψηθούν σε αλατούχο διάλυμα για λίγη ώρα και στη συνέχεια σε φούρνους στους 80 βαθμούς, μέχρι να απομακρυνθεί η υγρασία που έχει παραμείνει. Μετά φουρνίζονται ξανά για 40 λεπτά στους 120 βαθμούς.

4. ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΚΑΡΠΩΝ ΤΗΣ ΚΑΡΥΔΙΑΣ

Τα φιστίκια είναι από τους καλύτερους ποιοτικά και πιο νόστιμους ξηρούς καρπούς. Είναι μεγάλης θρεπτικής αξίας, πλούσια σε βιοτίνη, πρωτεΐνες και ανόργανα άλατα (Πίνακας 2.3). Καταναλώνονται ψημένα με αλάτι, είτε νωπά ανάλατα. Χρησιμοποιούνται και στη ζαχαροπλαστική (<http://el.wikipedia.org>).

Πίνακας 2.3: Γενική σύσταση φιστικιού Αιγίνης

ΦΙΣΤΙΚΙ ΑΙΓΙΝΗΣ: ΜΑΚΡΟΣΥΣΤΑΤΙΚΑ			
Ενέργεια	Άμεσος υπολογισμός	Kcal/100g	776
Εμμεσος υπολογισμός		Kcal/100g	596
Πρωτεΐνη		g/100g	4,8
Υδατάνθρακες		g/100g	22,3
Λίπος, ολικό		g/100g	54,2
Κορεσμένα		% σύσταση λίπους	11,8
Μονοακόρεστα cis		% σύσταση λίπους	62,7
Πολυακόρεστα cis		% σύσταση λίπους	24,4
Trans		% σύσταση λίπους	0,1
ω-3		% σύσταση λίπους	0,8
ω-6		% σύσταση λίπους	23,7
ω-6 / ω-3		-	28,85
Μονοακόρεστα / κορεσμένα		-	5,31
Πολυακόρεστα / κορεσμένα		-	2,07
Νερό		g/100g	4,4
Χοληστερόλη		mg/100g	<0,5
ΜΕΤΑΛΛΑ & ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ			
Ασβέστιο, Ca		mg / 100g	158
Κάλιο, K		mg / 100g	474
Μαγνήσιο, Mg		mg / 100g	132
Νάτριο, Na		mg / 100g	6
Σελήνιο, Se		μg / 100g	ΔΑ
Σίδηρος, Fe		mg / 100g	2,8
Φώσφορος, P		mg / 100g	953
Χρόμιο, Cr		μg / 100g	28,5

(http://nutrition.med.uoc.gr/GreekTables/pinakes/arxikos_pinakas.htm)

Γ. Φουντούκι (*Corylus avellana*)



(Common Hazel - from Thomé, *Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz*, 1885)

1. ΟΝΟΜΑΣΙΑ-ΚΑΤΑΓΩΓΗ

Η φουντουκιά ή αλλιώς λεπτοκαρυά (*Corylus avellana*) κατάγεται από τον Πόντο της Μικράς Ασίας, από όπου και διαδόθηκε στην Ελλάδα. Οι κυριότερες χώρες που καλλιεργείται η φουντουκιά είναι η Ιταλία, οι Η.Π.Α, η Ισπανία, η Τουρκία κ.α (Παγκόσμια Εγκυκλοπαίδεια 2002, Τόμος 20, Εκδόσεις Humanitus).

2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ-ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ

Είναι θάμνος της οικογένειας των βετουλιδών, της τάξεως των φηγωδών, της κλάσεως των δικοτυλήδων. Οι κυριότερες ποικιλίες που καλλιεργούνται στη χώρα μας είναι η «μπαντέμ», η «παλάζ», η «σιβρί γιαγλί», η «τομπούλ γιαγλί» κ.α (Παγκόσμια Εγκυκλοπαίδεια 2002, Τόμος 20, Εκδόσεις Humanitus).

3. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Είναι θαμνώδες δέντρο που φτάνει σε ύψος 3-8 m, αλλά μπορεί να φτάσει και τα 15 m. Είναι φυλλοβόλο, με φύλλα κυκλικά, 6-12 cm μήκος, ελαφρώς χνουδωτά και στις δύο πλευρές. Η βάση είναι καρδιόμορφη. Οι παρυφές είναι διπλά οδοντωτές ή μερικές φορές ελαφρά έλλοβες. Η πάνω επιφάνεια είναι βαθυπράσινη με τα νεύρα βυθισμένα, ενώ προεξέχουν στην κάτω επιφάνεια. Στους κλαδίσκους υπάρχουν αδενώδεις τρίχες. Τα άνθη είναι μονογενή. Τα αρσενικά είναι ίουλοι στην αρχή καστανού χρώματος και στη συνέχεια γίνονται κίτρινοι. Τα θηλυκά είναι διχάσια κρυμμένα μέσα στους οφθαλμούς (προεξέχουν μόνο οι ύπεροι). Ο καρπός είναι κωνοειδές μονόσπερμο κάρυο (φουντούκι). Ωριμάζει το Σεπτέμβριο με Οκτώβριο. Αυξάνεται μόνο σε εδάφη που είναι πολύ γόνιμα, δροσερά και χαλαρά (Παγκόσμια Εγκυκλοπαίδεια 2002, Τόμος 20, Εκδόσεις Humanitus).

4. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΚΑΡΠΩΝ ΤΗΣ ΦΟΥΝΤΟΥΚΙΑΣ

Το ξυλώδες περικάρπιο των καρπών έχει χρώμα ανοιχτοπράσινο στην αρχή και μαυροκόκκινο όταν οι καρποί ωριμάσουν. Το σπέρμα τους είναι πολύ εύγευστο και τρώγεται σαν ξηρός καρπός ή χρησιμοποιείται για την παρασκευή ζαχαροπλαστικών ειδών. Περιέχουν λάδι μέχρι 70%, το οποίο εξάγεται με πίεση (Παγκόσμια Εγκυκλοπαίδεια 2002, Τόμος 20, Εκδόσεις Humanitus). Τα φουντούκια θεωρούνται πολύ καλή πηγή διαλυτών φυτικών ινών και μαγγανίου, ενός ιχνοστοιχείου που συμμετέχει σε αντιοξειδωτικά συστήματα του οργανισμού μας. Η δράση αυτή διαφαίνεται και από μελέτη (Durak, I. et al., Clin Chim Acta. 1999, 284(1), 113-5) που έδειξε πως τα φουντούκια συμβάλλουν στην αύξηση της αντιοξειδωτικής δυναμικής του πλάσματος του αίματος, κατά 20%. Μια χούφτα φουντούκια αποδίδουν 177 θερμίδες και δεν έχουν καθόλου χοληστερόλη. Στους πίνακες 2.4 και 2.5 φαίνεται η διατροφική αξία των φουντουκιών από δύο διαφορετικές πηγές.

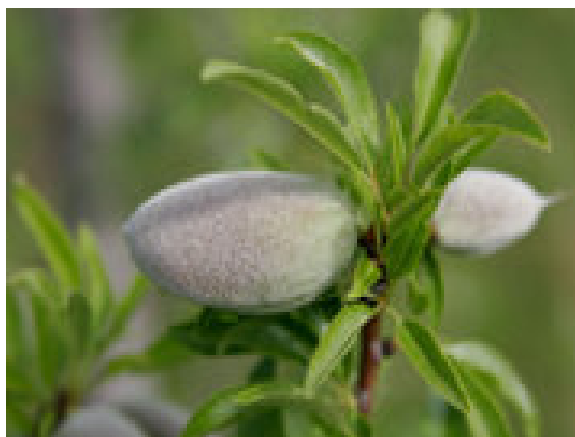
ΦΟΥΝΤΟΥΚΙ: ΜΑΚΡΟΣΥΣΤΑΤΙΚΑ			
Ενέργεια	Άμεσος υπολογισμός	Kcal / 100g	836
Εμμεσος υπολογισμός		Kcal / 100g	711
Πρωτεΐνη		g /100g	13,6
Υδατάνθρακες		g /100g	14,3
Λίπος, ολικό		g /100g	66,6
Κορεσμένα		% σύσταση λίπους	9,5
Μονοακόρεστα cis		% σύσταση λίπους	82,7
Πολυακόρεστα cis		% σύσταση λίπους	6,7
Trans		% σύσταση λίπους	ΔΑ
ω-3		% σύσταση λίπους	0,3
ω-6		% σύσταση λίπους	6,4
ω-6 / ω-3		-	23,7
Μονοακόρεστα / κορεσμένα		-	8,66
Πολυακόρεστα / κορεσμένα		-	0,70
Νερό		g / 100g	3,9
Χοληστερόλη		mg / 100g	<0,5
ΜΕΤΑΛΛΑ & ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ			
Ασβέστιο, Ca		mg / 100g	262
Κάλιο, K		mg / 100g	282
Μαγνήσιο, Mg		mg / 100g	450
Νάτριο, Na		mg / 100g	12
Σελήνιο, Se		μg / 100g	ΔΑ
Σίδηρος, Fe		mg / 100g	3,1
Φώσφορος, P		mg / 100g	753
Χρόμιο, Cr		μg / 100g	14

(http://nutrition.med.uoc.gr/GreekTables/pinakes/arxikos_pinakas.htm)

Πίνακας 2.5: Γενική σύσταση Αμερικάνικου φουντουκιού

Hazelnuts	(edible parts)
Nutritional value per 100 g	
Energy 630 kcal 2630 kJ	
<u>Carbohydrates</u>	17 g
- <u>Dietary fibre</u>	10 g
<u>Fat</u>	61 g
- saturated	4 g
- monounsaturated	46 g
- polyunsaturated	8 g
<u>Protein</u>	15 g
<u>Thiamin (Vit. B1)</u>	0.6 mg/46%
<u>Riboflavin (Vit. B2)</u>	0.11 mg/7%
<u>Niacin (Vit. B3)</u>	1.8 mg/12%
<u>Vitamin B6</u>	0.6 mg/46%
<u>Folate (Vit. B9)</u>	113 µg/28%
<u>Calcium</u>	114 mg/1%
<u>Phosphorus</u>	290 mg/41%
<u>Potassium</u>	1680 mg/4%
Percentages are relative to US recommendations for adults.	
Source: USDA Nutrient database	

Δ. Αμύγδαλο (*Prunus dulcis*, *Prunus amygdalus* ή *Amygdalus communis*)



1. ΟΝΟΜΑΣΙΑ-ΚΑΤΑΓΩΓΗ

Η αμυγδαλιά (*Prunus amygdalus*) κατάγεται από τη Δυτική Ασία και την Παλαιστίνη. Η εισαγωγή της στην Ελλάδα έγινε από τους αρχαίους χρόνους. Διαδόθηκε στις υπόλοιπες Μεσογειακές χώρες από τους Έλληνες και τους Ρωμαίους. Στην πατρίδα μας καλλιεργείται σε πολλά μέρη, ιδίως όμως στη Θράκη, στη Μακεδονία, στην Κρήτη, στη Χίο και σε άλλα νησιά του Αιγαίου.

2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ-ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ

Είναι καρποφόρο δέντρο της οικογένειας των ροδιδών και της τάξεως των ροδανθών. Στην Ελλάδα υπάρχουν αυτοφυείς ποικιλίες αγριοαμυγδαλιάς, χαμηλά δέντρα ύψους 4-5 μέτρα με φύλλα λογχοειδή, με αγκάθια στους βλαστούς και με μικρούς και πικρούς καρπούς. Κύριως καλλιεργείται σε κήπους, σε περιβόλια και σε χωράφια.

3. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Η κύρια ρίζα της είναι ξυλώδης, συνέχεια του κορμού της και μπαίνει βαθιά μέσα στη γη. Αυτό είναι σημαντικό γιατί η αμυγδαλιά φυτεύεται σε άγονους και ηλιόφωτους τόπους. Έτσι, η ρίζα της που εισχωρεί βαθιά στη γη, βρίσκει υγρό χώμα. Επειδή το έδαφος όπου καλλιεργείται ούτε σκάβεται, ούτε λιπαίνεται, γρήγορα εξαντλείται από θρεπτικές ύλες, γι' αυτό το φυτό βγάζει πλάγιες ρίζες, που απλώνονται όπου υπάρχει τροφή στο έδαφος. Κάθε χρόνο οι ρίζες απλώνουν όλο και περισσότερο. Πάνω στις ρίζες υπάρχουν λεπτά νημάτια, οι ριζικές ή απορροφητικές

τρίχες. Με αυτές το φυτό απορροφά από τη γη το νερό και τα διάφορα θρεπτικά συστατικά που χρειάζεται.

Είναι δέντρο φυλλοβόλο. Τα φύλλα της είναι πράσινα και στενόμακρα και ολόγυρα πριονωτά. Το φθινόπωρο πέφτουν πρώτα τα χαμηλότερα και ύστερα τα ψηλότερα. Στις γωνιές μεταξύ φύλλων και κλαδιών μένουν μικρά εξογκώματα που τα λέμε «μάτια». Από αυτά άλλα είναι στενά και μακρουλά και άλλα χοντρά. Από τα μακρουλά βγαίνουν κλαδάκια με φύλλα και από τα χοντρά βγαίνουν τα άνθη. Τα άνθη της είναι ασπρορόδινα. Ανθίζει κατά το Φεβρουάριο και μερικές φορές από τον Ιανουάριο, πρώτη απ' όλα τα δέντρα. Αλλά τους μήνες αυτούς οι μέλισσες δεν κυκλοφορούν ή κυκλοφορούν λίγες ώρες, γι' αυτό γίνεται δύσκολα η επικονίαση. Το δέντρο αναγκάζεται να κρατά για πολύ χρόνο τα άνθη του και να κάνει πολλά. Ο καρπός της πριν ωριμάσει έχει απ' έξω ένα φλούδι πράσινο, που είναι ξινό και σκληρό. Όταν ωριμάσει ο καρπός, αυτό ανοίγει και φαίνεται μέσα ένα σκληρό στρώμα. Το σπέρμα είναι λευκό και περιβάλλεται από σκληρή και καφετί φλούδα. Τα αμύγδαλα διακρίνονται σε πικρά και γλυκά. Τα γλυκά περιέχουν μεγάλη ποσότητα λαδιού, λευκωματίνη, σάκχαρο κλπ (Πίνακας 2.6 και 2.7).

(Από: Παγκόσμια Εγκυκλοπαίδεια 2002, Εκδόσεις Humanitus).

ΜΑΚΡΟΣΥΣΤΑΤΙΚΑ			
Ενέργεια	Άμεσος υπολογισμός	Kcal / 100g	755
	Εμμεσος υπολογισμός	Kcal / 100g	591
Πρωτεΐνη		g /100g	7,1
Υδατάνθρακες		g /100g	23,3
Λίπος, ολικό		g /100g	52,1
Κορεσμένα		% σύσταση λίπους	8,6
Μονοακόρεστα cis		% σύσταση λίπους	59,7
Πολυακόρεστα cis		% σύσταση λίπους	31,7
Trans		% σύσταση λίπους	ΔΑ
ω-3		% σύσταση λίπους	0,5
ω-6		% σύσταση λίπους	31,2
ω-6 / ω-3		-	67,83
Μονοακόρεστα / κορεσμένα		-	6,91
Πολυακόρεστα / κορεσμένα		-	3,66
Νερό		g / 100g	5,2
Χοληστερόλη		mg / 100g	<0,5
ΜΕΤΑΛΛΑ & ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ			
Ασβέστιο, Ca		mg / 100g	405
Κάλιο, K		mg / 100g	4,7
Μαγνήσιο, Mg		mg / 100g	720
Νάτριο, Na		mg / 100g	2,5
Σελήνιο, Se		μg / 100g	ΔΑ
Σίδηρος, Fe		mg / 100g	3,0
Φώσφορος, P		mg / 100g	1235
Χρώμιο, Cr		μg / 100g	14,3

(http://nutrition.med.uoc.gr/GreekTables/pinakes/arxikos_pinakas.htm)

Πίνακας 2.7: Γενική σύσταση Αμερικάνικου αμυγδάλου

Almond, nut, raw	
Nutritional value per 100 g	
Energy 580 kcal 2420 kJ	
<u>Carbohydrates</u>	19.74 g
- Sugars	4.80 g
- <u>Dietary fiber</u>	11.8 g
<u>Fat</u>	50.64 g
<u>Protein</u>	21.26 g
<u>Thiamin (Vit. B1)</u>	0.241 mg/19%
<u>Riboflavin (Vit. B2)</u>	0.811 mg/54%
<u>Niacin (Vit. B3)</u>	3.925 mg/26%
<u>Pantothenic acid (B5)</u>	0.349 mg/7%
<u>Vitamin B6</u>	0.131 mg/10%
<u>Folate (Vit. B9)</u>	29 µg/7%
<u>Vitamin C</u>	0.0 mg/0%
<u>Calcium</u>	248 mg/25%
<u>Iron</u>	4.30 mg/34%
<u>Magnesium</u>	275 mg/74%
<u>Phosphorus</u>	474 mg/68%
<u>Potassium</u>	728 mg/15%
<u>Zinc</u>	3.36 mg/34%
Percentages are relative to US recommendations for adults.	
Source: USDA Nutrient database	

Ε. Κολοκυθόσπορος



1. ΟΝΟΜΑΣΙΑ-ΚΑΤΑΓΩΓΗ

Πατρίδα της θεωρείται η τροπική Αμερική. Στην Ευρώπη εισάχθηκε κατά το 16^ο αιώνα. Σήμερα ευδοκίμει στις τροπικές και τις ηπειρωτικές χώρες της Αφρικής, της Ασίας, της Αμερικής και της Ευρώπης.

2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ-ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ

Η κολοκυθιά είναι φυτό μονοετές, της οικογένειας των κουκουρβιτιδών, της τάξεως των κουκουρβιτωδών. Στην Ελλάδα ευδοκίμουν δύο κυρίως είδη: κολοκύνθη η κοινή και η κολοκύνθη η μέγιστη ή κουκούρβιτα η μέγιστη. Η κολοκύνθη η μέγιστη κάνει πελώριες, κόκκινες και γλυκές κολοκύθες, που φτάνουν μέχρι και τα 100 κιλά σε βάρος. Τα σπέρματά της είναι μεγάλα και τρώγονται ευχάριστα, είτε ωμά είτε, κυρίως, αλατισμένα και καβουρδισμένα, οπότε αποτελούν το γνωστό μας πασατέμπο.

3. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Είναι φυτό ετήσιο, ποώδες, που αναπτύσσεται πολύ γρήγορα. Χρειάζεται άφθονο νερό, πολύ ήλιο και γόνιμο έδαφος. Οι βλαστοί του, που έρπουν ή αναρριχώνται, διακλαδίζονται με κλάδους κυλινδρικούς, πράσινους, κοίλους, τριχωτούς, με μαλακές τρίχες και έλικες. Οι κλάδοι έχουν κόμπους και από κάθε κόμπο βγαίνει ένα φύλλο μεγάλο, πλατύ, σκισμένο σε πολλά μέρη, πράσινο με τριχίτσες. Ανάμεσα στα φύλλα και στους κλάδους ξεφυτρώνουν τα άνθη με χρώμα κίτρινο ή πορτοκαλί. Είναι φυτό μόνοικο, με χωριστά αρσενικά και θηλυκά άνθη. Ο καρπός, τα κολοκύθια, έχουν απ' έξω φλούδα και μέσα ένα σαρκώδες πολύ άσπρο στρώμα και στο κέντρο υπάρχουν τα σπέρματα.

4. ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΚΑΡΠΩΝ ΤΗΣ ΚΟΛΟΚΥΘΙΑΣ

Οι κολοκυθόσποροι είναι καλή πηγή σιδήρου, ψευδαργύρου, απαραίτητων λιπαρών οξέων, καλίου και μαγνησίου. Επίσης, προστατεύουν από τον καρκίνο του προστάτη, αφού τα συστατικά των κολοκυθόσπορων φαίνεται ότι διακόπτουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων από την τεστοστερόνη και το DHT. Στον πίνακα 2.8 φαίνεται η γενική σύσταση του κολοκυθόσπορου σε μακροσυστατικά, μέταλλα και ιχνοστοιχεία.

(Από: Παγκόσμια Εγκυκλοπαίδεια 2002, Εκδόσεις Humanitus).

Πίνακας 2.8: Γενική σύσταση του κολοκυθόσπορου

ΚΟΛΟΚΥΘΟΣΠΟΡΟΣ: ΜΑΚΡΟΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Ενέργεια	Άμεσος υπολογισμός	Kcal / 100g	739
	Εμμεσος υπολογισμός	Kcal / 100g	646
Πρωτεΐνη		g /100g	19,9
Υδατάνθρακες		g /100g	34,4
Λίπος, ολικό		g /100g	47,6
Κορεσμένα		% σύσταση λίπους	16,3
Μονοακόρεστα cis		% σύσταση λίπους	34,0
Πολυακόρεστα cis		% σύσταση λίπους	49,5
Trans		% σύσταση λίπους	ΔΑ
ω-3		% σύσταση λίπους	0,4
ω-6		% σύσταση λίπους	49,1
ω-6 / ω-3		-	114,13
Μονοακόρεστα / κορεσμένα		-	2,09
Πολυακόρεστα / κορεσμένα		-	3,04
Νερό		g / 100g	6,2
Χοληστερόλη		mg / 100g	<0,5
ΜΕΤΑΛΛΑ & ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ			
Ασβέστιο, Ca		mg / 100g	59
Κάλιο, K		mg / 100g	479
Μαγνήσιο, Mg		mg / 100g	960
Νάτριο, Na		mg / 100g	4
Σελήνιο, Se		μg / 100g	6,7
Σίδηρος, Fe		mg / 100g	5,7
Φώσφορος, P		mg / 100g	2947
Χρόμιο, Cr		μg / 100g	20

(http://nutrition.med.uoc.gr/GreekTables/pinakes/arxikos_pinakas.htm)

ΣΤ. Σπόροι ηλίανθου



Τα διάφορα είδη σπόρων ηλίανθου

1. ΟΝΟΜΑΣΙΑ-ΚΑΤΑΓΩΓΗ

Ο σπόρος ηλίανθου (*Helianthus annuus*) ή διαφορετικά ο ηλιόσπορος καλλιεργείται εδώ και μερικές χιλιάδες χρόνια στο Μεξικό και το Περού. Μεταφέρθηκε στην Ευρώπη από τους Ισπανούς κατακτητές το 16^ο αιώνα (Εγκυκλοπαίδεια Ακμή, Εκδόσεις Φάρος, Τόμος 7).

2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ-ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ

Ο ηλίανθος ανήκει στο γένος των φυτών της οικογένειας των συνθέτων, στο οποίο υπάγονται φυτά ποώδη μονοετή ή πολυετή. Στην Ελλάδα καλλιεργούνται κυρίως δύο είδη: Ο ηλίανθος ο ετήσιος (κοινά ήλιος) για τους σπόρους του, από τους οποίους βγαίνει λάδι (απόδοση 25% ως 35%), που χρησιμοποιείται ως βρώσιμο ή στη βιομηχανία και για τους πλακούντες που χρησιμεύουν για διατροφή γαλακτοφόρων ζώων ή και ως χειμερινή τροφή των ορνίθων. Το δεύτερο είδος είναι ο ηλίανθος ο κονδυλόριζος (τοπιναμπούρ). Καλλιεργείται για τα ριζώματα, που είναι άριστη τροφή για τα ζώα. Το είδος αυτό έχει μεγάλη απόδοση σε ριζώματα που αντέχουν σε θερμοκρασία εδάφους μέχρι και -20 °C (Εγκυκλοπαίδεια Ακμή, Εκδόσεις Φάρος, Τόμος 7).

3. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Τα φύλλα του ηλίανθου του ετήσιου έχουν σχήμα καρδιάς ή ωοειδές και τα άνθη είναι μεγάλοι δίσκοι με μαύρους σπόρους ή άσπρους ή ανάμεικτου χρώματος. Ο

ηλίανθος ο κονδυλόριζος παράγει άσπρα ή κίτρινα ριζώματα, παρόμοια με πατάτες. Τα φύλλα είναι όμοια με του προηγούμενου είδους, ενώ τα άνθη είναι άγονα (Εγκυκλοπαίδεια Ακμή, Εκδόσεις Φάρος, Τόμος 7).

4. ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΚΑΡΠΩΝ ΤΗΣ ΚΟΛΟΚΥΘΙΑΣ

Οι ηλιόσποροι χρησιμοποιούνται περισσότερο ως ένα υγιεινό σνακ παρά ως μέρος του κυρίως γεύματος, κυρίως στις Μεσογειακές χώρες. Το ηλιέλαιο είναι ένα από τα πιο γνωστά έλαια σε όλο τον κόσμο. Χρησιμοποιείται ως έχει ή για παρασκευή πολυακόρεστων μαργαρινών. Το έλαιο συνήθως εξάγεται με εφαρμογή μεγάλης πίεσης των σπόρων ηλίανθου. Μετά την παραλαβή του ελαίου, οι σπόροι μπορούν να ξαναχρησιμοποιηθούν, αφού είναι πλούσιοι σε πρωτεΐνες. Το αρχικό ηλιέλαιο είναι πλούσιο σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (περίπου 66% λινελαϊκό οξύ) και φτωχό σε κορεσμένα λιπαρά οξέα, όπως παλμιτικό και στεατικό οξύ. Εντούτοις, ορισμένα υβρίδια αναπτύσσονται για διαφοροποίηση της σύστασης σε λιπαρά οξέα για διάφορους λόγους. Εκτός από το λινελαϊκό οξύ, που είναι ένα απαραίτητο λιπαρό οξύ, οι ηλιόσποροι είναι εξαιρετική πηγή διαιτητικών ινών, πρωτεϊνών, βιταμίνης Ε και μεταλλικών στοιχείων, όπως μαγνησίου και σεληνίου. Επιπλέον, είναι πλούσιοι σε φυτοστερόλες που μειώνουν τα επίπεδα χοληστερόλης. Στον πίνακα 2.9 φαίνεται η γενική σύσταση των σπόρων ηλίανθου (<http://el.wikipedia.org>).

Πίνακας 2.9: Γενική σύσταση του ηλιόσπορου

ΣΠΟΡΟΙ ΗΛΙΑΝΘΟΥ: ΜΑΚΡΟΣΥΣΤΑΤΙΚΑ
--

Ενέργεια	Άμεσος υπολογισμός	Kcal / 100g	777
	Εμμεσος υπολογισμός	Kcal / 100g	632
Πρωτεΐνη		g /100g	18,8
Υδατάνθρακες		g /100g	26,6
Λίπος, ολικό		g /100g	50,0
Κορεσμένα		% σύσταση λίπους	8,9
Μονοακόρεστα cis		% σύσταση λίπους	32,8
Πολυακόρεστα cis		% σύσταση λίπους	58,0
Trans		% σύσταση λίπους	ΔΑ
ω-3		% σύσταση λίπους	0,2
ω-6		% σύσταση λίπους	57,7
ω-6 / ω-3		-	250,86
Μονοακόρεστα / κορεσμένα		-	3,70
Πολυακόρεστα / κορεσμένα		-	6,55
Νερό		g / 100g	4,5
Χοληστερόλη		mg / 100g	<0,5
ΜΕΤΑΛΛΑ & ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ			
Ασβέστιο, Ca		mg / 100g	110
Κάλιο, K		mg / 100g	532
Μαγνήσιο, Mg		mg / 100g	930
Νάτριο, Na		mg / 100g	10
Σελήνιο, Se		μg / 100g	244,4
Σίδηρος, Fe		mg / 100g	4,1
Φώσφορος, P		mg / 100g	2513
Χρόμιο, Cr		μg / 100g	7

(http://nutrition.med.uoc.gr/GreekTables/pinakes/arxikos_pinakas.htm)

2.2 Η σημασία των ξηρών καρπών στην ανθρώπινη υγεία

Πιθανώς, ένα από τα πιο απροσδόκητα και νέα ευρήματα στην διατροφική επιδημιολογία της τελευταίας δεκαετίας είναι ότι η κατανάλωση ξηρών καρπών προστατεύει έναντι των ισχαιμικών καρδιακών νοσημάτων (IHD), τα οποία παγκόσμια είναι η κυριότερη αιτία θανάτου σε άντρες και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Βέβαια, οι ξηροί καρποί δε θεωρούνταν το καταλληλότερο τρόφιμο το οποίο θα ασκούσε προστασία έναντι των καρδιαγγειακών νοσημάτων, λόγω της υψηλής περιεκτικότητας τους σε λίπος. Οι ξηροί καρποί, τόσο τώρα, όσο και στο παρελθόν, καταναλώνονται σπανίως από το γενικό πληθυσμό, κάτι που καθιστά δύσκολη τη μελέτη τους από επιδημιολογική άποψη. Εντούτοις, κάποιοι πληθυσμοί, όπως οι χορτοφάγοι, οι Μεσογειακοί λαοί και οι αντβεντιστές της 7^{ης} μέρας στην Καλιφόρνια, καταναλώνουν ξηρούς καρπούς πιο συχνά. Σ' αυτούς τους πληθυσμούς έχει αναφερθεί χαμηλότερος κίνδυνος για καρδιακά ισχαιμικά επεισόδια (Sabate J, 1999).

Η Adventist Health Study είναι η πρώτη επιδημιολογική μελέτη που ανέφερε την προστατευτική επίδραση των ξηρών καρπών στον κίνδυνο για IHD και αυτό το εύρημα ήταν κάπως απροσδόκητο (Fraser GE et al., 1992). Σ' αυτή την επιδημιολογική μελέτη βρέθηκε ότι η συχνότητα κατανάλωσης ξηρών καρπών σχετίστηκε αντιστρόφως με τον κίνδυνο για οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου ή θάνατο από IHD. Αυτή η επίδραση ήταν ανεξάρτητη από τους αναγνωρισμένους παράγοντες κινδύνου για IHD, όπως η ηλικία, το φύλο, το κάπνισμα, η υπέρταση, το σχετικό βάρος και η άσκηση, καθώς και από την κατανάλωση άλλων τροφίμων, όπως φρούτων, οσπρίων, ψωμιού, τυριού, ψαριού, κρέατος και καφέ. Σε σχέση με την ομάδα που κατανάλωνε ξηρούς καρπούς < 1 φορά/εβδομάδα, η ομάδα που κατανάλωνε ξηρούς καρπούς 1-4 φορές την εβδομάδα, είχε 22% χαμηλότερο κίνδυνο για οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, ενώ η ομάδα που κατανάλωνε ξηρούς καρπούς ≥ 5 φορές την εβδομάδα είχαν 51% χαμηλότερο κίνδυνο για οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου. Όμοια αποτελέσματα προέκυψαν και για τον κίνδυνο για θάνατο από IHD. Η προστατευτική επίδραση της κατανάλωσης ξηρών καρπών έναντι των IHD ήταν εμφανής στις διάφορες υποομάδες του πληθυσμού, όπως σε άντρες και γυναίκες, σε νεότερους και γηραιότερους, σε άτομα με κανονική και υψηλή αρτηριακή πίεση.

Επιπλέον επιδημιολογική στήριξη της σχέσης μεταξύ κατανάλωσης ξηρών καρπών και μειωμένου κινδύνου για IHD προέκυψε πρόσφατα από την Iowa

Women's Health Study, παρά το γεγονός ότι σχετικά μικρό ποσοστό του πληθυσμού της μελέτης αυτής κατανάλωνε συχνά ξηρούς καρπούς. Σ' αυτή τη μελέτη των 34 500 μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, μετά από 5 χρόνια παρακολούθησης, η θνησιμότητα από στεφανιαία νόσο σχετίστηκε αντιστρόφως με την πρόσληψη ξηρών καρπών (Kushi LH et al., 1996). Στις γυναίκες που κατανάλωναν ξηρούς καρπούς > 1 φορά/εβδομάδα, μειώθηκε ο κίνδυνος για εμφάνιση IHD κατά 40%. Η κατανάλωση ξηρών καρπών λίγες φορές το μήνα δεν επιφέρει σημαντικό πλεονέκτημα για την προστασία από IHD. Πάντως, και από τις δύο προαναφερθείσες μελέτες προκύπτει ότι υπάρχει ένα κατώφλι πάνω από το οποίο η κατανάλωση ξηρών καρπών ασκεί ευεργετική επίδραση, και αυτό αντιστοιχεί σε συχνότητα κατανάλωσης $\approx$ 1 φορά την εβδομάδα.

Χρησιμοποιώντας πληροφορίες από την Adventist Health Study, οι Fraser GE και συνεργάτες, ανέπτυξαν μία πρωτότυπη προσέγγιση για την αξιολόγηση του κινδύνου εμφάνισης IHD κατά τη διάρκεια της ζωής και υπολογισμού της ηλικίας που κάποιος θα παρουσιάσει στεφανιαία νόσο. Τα άτομα που κατανάλωναν ξηρούς καρπούς $\geq$ 5 φορές την εβδομάδα μείωσαν την πιθανότητα εμφάνισης IHD κατά 12%, ενώ στους άντρες που νόσησαν, η νόσος παρουσιάστηκε 5.6 χρόνια αργότερα από τους άντρες που κατανάλωναν ξηρούς καρπούς σπάνια. Έτσι, αυξημένη κατανάλωση ξηρών καρπών φαίνεται ότι μπορεί να μειώσει τη δια βίου πιθανότητα εμφάνισης IHD, αλλά και να καθυστερήσει την ανάπτυξη της νόσου για μερικά χρόνια (Sabate J, 1999).

Αξίζει να σημειωθεί το εξής: αν οι χορτοφάγοι έχουν μικρότερο κίνδυνο για IHD και ταυτόχρονα καταναλώνουν ξηρούς καρπούς πιο συχνά από τους μη χορτοφάγους, υπάρχει η πιθανότητα σύγχυσης. Για την ακρίβεια, θα μπορούσε να υποστηριχθεί ότι τα προφανή ευεργετικά αποτελέσματα της κατανάλωσης ξηρών καρπών προκύπτουν από την απουσία των επιβλαβών επιδράσεων του κρέατος, των αυγών και των γαλακτοκομικών προϊόντων, τα οποία οι χορτοφάγοι υποκαθιστούν με τους ξηρούς καρπούς εν μέρει ή εξ' ολοκλήρου. Από την Adventist Health Study, όπου το 50% των συμμετεχόντων ήταν μη χορτοφάγοι, προκύπτει ότι η προστατευτική επίδραση των ξηρών καρπών ισχύει τόσο στους χορτοφάγους, όσο και στους μη χορτοφάγους και αυτό δε μπορεί να εξηγηθεί στη βάση των συγκεχυμένων επιδράσεων (Sabate J, 1999).

Οι ξηροί καρποί ξεκίνησαν να προσελκύουν το ενδιαφέρον των ερευνητών ως τρόφιμο το οποίο περιέχει βιοδραστικά συστατικά που προστατεύουν από καρδιαγγειακά νοσήματα. Είναι σύνθετο φυτικό τρόφιμο και πλούσια πηγή ακόρεστου λίπους. Επίσης, περιέχουν διάφορα μη λιπαρά συστατικά, όπως φυτικές πρωτεΐνες, διαιτητικές ίνες, μικροσυστατικά, όπως χαλκό και μαγνήσιο, φυτοστερόλες και φυτοχημικά. Λόγω του ότι οι ξηροί καρποί έχουν ευμενές λιπιδικό προφίλ και περιέχουν διάφορα βιοδραστικά συστατικά τα οποία μπορεί να προσφέρουν επιπλέον προστατευτικές επιδράσεις, είναι ενδιαφέρον να αξιολογηθεί ο ρόλος των ξηρών καρπών στις δίαιτες που μειώνουν τα επίπεδα της χοληστερόλης (Kris-Etherton et al., 1999).

Δεδομένα από πολύ καλά ελεγχόμενες διατροφικές έρευνες που πραγματοποιήθηκαν τα τελευταία σαράντα χρόνια χρησιμοποιήθηκαν για να την ανάπτυξη προγνωστικών εξισώσεων υπολογισμού της χοληστερόλης πλάσματος. Όλες αυτές οι εξισώσεις δείχνουν ότι τα κορεσμένα λιπαρά οξέα αυξάνουν τα επίπεδα χοληστερόλης αίματος περίπου κατά διπλάσιο τρόπο απ' ότι τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μειώνουν τα επίπεδα χοληστερόλης. Τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (MUFA) είτε δεν έχουν επίδραση στη συγκέντρωση χοληστερόλης, είτε είναι ήπια υποχοληστεραιμικά. Η κατανάλωση διαιτητικής χοληστερόλης επίσης αυξάνει τη συγκέντρωση χοληστερόλης στο αίμα, αλλά η επίδρασή της είναι μικρότερη απ' αυτή των κορεσμένων λιπαρών οξέων (SFA). Η απόκριση της LDL-χοληστερόλης προσομοιάζει με την απόκριση της ολικής χοληστερόλης. Όλες οι τάξεις λιπαρών οξέων αυξάνουν τα επίπεδα HDL-χοληστερόλης σε σχέση με τους υδατάνθρακες, αλλά τα SFA έχουν την πιο ισχυρή επίδραση. Έτσι, με βάση αυτές τις εξισώσεις, μπορεί να προβλεφθεί η επίδραση της διατροφής στο λιπιδαιμικό προφίλ, αλλά και η παρουσία άλλων βιοδραστικών συστατικών, εκτός από τα MUFA και PUFA, που έχουν ευεργετικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία (Kris-Etherton et al., 1999).

Η σύσταση των ξηρών καρπών σε λίπος κυμαίνεται από 0.51 έως 0.73 g/g. Περίπου το 79% της ενέργειας στους ξηρούς καρπούς προέρχεται από το λίπος. Έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε SFA και υψηλή σε ακόρεστα. Ο κυρίαρχος τύπος ακόρεστων λιπαρών οξέων είναι τα MUFA, συμβάλλοντας περίπου στο 62% της ενέργειας από λίπος. Τα MUFA και PUFA μαζί συμβάλλουν στο 91% της ενέργειας από λίπος. Από τους ξηρούς καρπούς, τα καρύδια είναι μοναδικά, γιατί είναι πλούσια πηγή α-λινολενικού οξέος. Επίσης, είναι καλές πηγές σημαντικών συστατικών, όπως

μαγγανίου, χαλκού, μαγνησίου, φωσφόρου και ψευδαργύρου. Οι πιο πολλοί ξηροί καρποί, και ειδικά τα αμύγδαλα, είναι καλές πηγές βιταμίνης Ε. Άλλα συστατικά που βρίσκονται σε σημαντικές ποσότητες στους ξηρούς καρπούς είναι η θειαμίνη, η νιασίνη, η ριβοφλαβίνη, το σελήνιο, ο σίδηρος και το κάλιο (Kris-Etherton et al., 1999). Σημαντικό είναι το γεγονός ότι μια μερίδα ξηρών καρπών 28.4 g παρέχει το 5-10% της συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης διαιτητικών ινών (Rainey C, Nyquist L, 1997).

Στον πίνακα 2.10 φαίνονται οι εννέα μελέτες που αξιολόγησαν την επίδραση της διατροφής που περιέχει ξηρούς καρπούς στα επίπεδα χοληστερόλης και λιποπρωτεϊνών αίματος. Σε γενικές γραμμές, οι πειραματικές δίαιτες που περιείχαν ξηρούς καρπούς ήταν χαμηλές σε χοληστερόλη (≈ 300 mg/d) και κορεσμένο λίπος. Το συνολικό λίπος κυμαινόταν από 26% έως 42% της συνολικής ενέργειας. Ανεξάρτητα από το ποσοστό λίπους και ξηρών καρπών στη διαίτα, οι δίαιτες που αποσκοπούσαν στη μείωση των επιπέδων χοληστερόλης και περιείχαν ξηρούς καρπούς, οδήγησαν σε μείωση της συνολικής και της LDL χοληστερόλης κατά $\approx 2-16\%$ και $9-20\%$, αντίστοιχα (Πίνακας 2.11). Έτσι, η κατανάλωση ξηρών καρπών, λόγω της σύστασης τους σε μακροσυστατικά και λιπαρά οξέα, βοηθά στη μείωση του περιεχομένου της διαίτας σε SFA, αφού αντικαθίσταται η ενέργεια από τα SFA με ενέργεια από τα ακόρεστα λιπαρά οξέα των ξηρών καρπών, ενώ διατηρείται το ποσοστό διαιτητικού λίπους. Αυτή είναι μία αποτελεσματική τακτική, ώστε να επιτυγχάνονται μειώσεις στα επίπεδα συνολικής και LDL χοληστερόλης, καθώς και να αποφεύγεται η μείωση των επιπέδων HDL χοληστερόλης και η αύξηση των επιπέδων τριακυλογλυκερολών ως αποτέλεσμα της χαμηλής σε λίπος και υψηλής σε υδατάνθρακες διατροφής (Kris-Etherton et al., 1999).

Πίνακας 2.10: Μελέτες που αξιολόγησαν την επίδραση της κατανάλωσης ξηρών καρπών στα επίπεδα χοληστερόλης και λιποπρωτεϊνών πλάσματος.

Study and subjects	TC at baseline <i>mmol/L</i>	Study duration	Study design	Diet characteristics
Spiller et al, 1990 (10) (<i>n</i> = 45 M and 45 F with hypercholesterolemia)	6.49 ²	4 wk	Parallel arm	1) High-PUFA (and high-MUFA) diet from almonds (100 g/d), 2) high-MUFA diet from olive oil, 36 g/d, and 3) high-SFA diet from cheese and butter.
Berry et al, 1991 (16) (<i>n</i> = 24 M)	3.81	12 wk	Randomized, controlled, crossover	1) High-MUFA diet from almonds, olive oil, and avocado and 2) high-PUFA diet from walnuts, safflower oil, and soybean oil.
Berry et al, 1992 (17) (<i>n</i> = 17 M)	4.06	12 wk	Randomized, controlled, crossover	1) High-MUFA diet from almonds, olive oil, and avocados and 2) low-fat, high-carbohydrate diet.
Spiller et al, 1992 (11) (<i>n</i> = 13 M and 13 F with hypercholesterolemia)	6.08	9 wk	Dietary advice, consecutive supplemental field study	1) High-MUFA diet from almonds (100 g/d) and 2) baseline diet.
Sabaté et al, 1993 (12) (<i>n</i> = 18 M)	5.12	8 wk	Randomized, controlled, crossover	1) NCEP Step I, high-PUFA diet from walnuts (84 g/d) and 2) NCEP Step I diet.
Abbey et al, 1994 (18) (<i>n</i> = 16 M)	5.15	3 wk	Consecutive supplemental field study	1) High-MUFA diet from almonds (84 g/d), 2) high-PUFA diet from walnuts (68 g/d), and 3) reference diet.
Colquhoun et al, 1996 (13) (<i>n</i> = 7 M and 7 F with hypercholesterolemia)	5.69	4 wk	Dietary advice, randomized, crossover	1) High-MUFA diet from macadamia nuts and 2) low-fat, high-carbohydrate diet.
O'Byrne et al, 1997 (14) (<i>n</i> = 25 post-menopausal F with hypercholesterolemia)	6.60	6 mo	Dietary advice, parallel arm	1) Low-fat, high-MUFA diet from peanuts and 2) low-fat diet.
Chisholm et al, 1998 (15) (<i>n</i> = 21 M with hypercholesterolemia)	6.58	4 wk	Dietary advice, randomized, crossover	1) High-PUFA diet from walnuts and 2) low-fat diet.

¹ TC, total cholesterol; PUFA, polyunsaturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; SFA, saturated fatty acids; NCEP, National Cholesterol Education Program.
² $\bar{x}$.

Πίνακας 2.11: Επίδραση της κατανάλωσης ξηρών καρπών στα επίπεδα χοληστερόλης και λιποπρωτεϊνών πλάσματος.

Study and diet characteristics	Total cholesterol	LDL cholesterol	HDL cholesterol	Triacylglycerol
	<i>% change</i>			
Spiller et al, 1990 (10)				
High-PUFA compared with baseline	-12	NR	NR	NS
High-MUFA compared with baseline	-5	NR	NR	NS
High-SFA compared with baseline	+4	NR	NR	NS
Berry et al, 1991 (16)				
High-MUFA compared with baseline	-10	-14	0 (NS)	-10 (NS)
High-PUFA compared with baseline	-16	-20	-4 (NS)	-9 (NS)
Berry et al, 1992 (17)				
High-MUFA compared with baseline	-8	-14	+1 (NS)	-4 (NS)
Spiller et al, 1992 (11)				
High-MUFA compared with baseline	-9	-12	0 (NS)	-4 (NS)
Sabaté et al, 1993 (12)				
NCEP Step I, high-PUFA compared with NCEP Step I	-12	-16	-5	-8
Abbey et al, 1994 (18)				
High-MUFA compared with reference	-7	-10	0 (NS)	+1 (NS)
High-PUFA compared with reference	-5	-9	+3 (NS)	+4 (NS)
Colquhoun et al, 1996 (13)				
Low-fat, high-carbohydrate compared with baseline	-8	-11	-13	-9 (NS)
High-MUFA compared with baseline	-8	-11	+1 (NS)	-21
O'Byrne et al, 1997 (14)				
High-MUFA, low-fat compared with baseline	-10	-12	0 (NS)	-1 (NS)
Low-fat, high-carbohydrate compared with baseline	-2 (NS)	0 (NS)	0 (NS)	+12 (NS)
Chisholm et al, 1998 (15)				
High-PUFA compared with low-fat, high-carbohydrate	-2 (NS)	-4 (NS)	+3 (NS)	+8 (NS)

¹ NR, not reported; PUFA, polyunsaturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; SFA, saturated fatty acids; NCEP, National Cholesterol Education Program.

Εκτός από τα λιπαρά οξέα, υπάρχουν και άλλα συστατικά στους ξηρούς καρπούς που επηρεάζουν θετικά το λιπιδαιμικό προφίλ, και συγκεκριμένα τη συγκέντρωση χοληστερόλης στο αίμα. Τέτοια συστατικά είναι η πρωτεΐνη σόγιας και τα φυτοοιστρογόνα. Δεδομένου ότι οι ξηροί καρποί περιέχουν φυτικές πρωτεΐνες και διάφορα φυτοχημικά, είναι λογικό να υποθέσουμε ότι τα μη λιπαρά κλάσματα των ξηρών καρπών, ασκούν ευεργετικές βιολογικές επιδράσεις. Αυτά τα συστατικά μειώνουν την ολική και LDL χοληστερόλη πέρα από την αναμενόμενη μείωση που

προκαλείται από τα ακόρεστα λιπαρά οξέα (Hegsted DM et al., 1993). Επιπλέον, τα φυτοοιστρογόνα, εκτός από την προστατευτική τους δράση έναντι των καρδιαγγειακών νοσημάτων, των εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων και της οστεοπόρωσης, πιθανώς να βοηθούν στην πρόληψη και τη θεραπεία διαφόρων τύπων καρκίνου, όπως του στήθους, του προστάτη και του παχέος εντέρου (Kris-Etherton et al., 2002).

Οι ξηροί καρποί είναι πολυσύνθετα τρόφιμα. Εκτός από το λίπος και τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, περιέχουν φυτική πρωτεΐνη που είναι πλούσια σε αργινίνη, διαιτητικές ίνες, καθώς και διάφορα μικροσυστατικά. Επίσης, είναι πηγές φυτοστερολών και άλλων φυτοχημικών με ενδεχόμενες θετικές επιδράσεις στα επίπεδα χοληστερόλης. Τα φυτοχημικά στους ξηρούς καρπούς περιλαμβάνουν το ελλαγικό οξύ, τα φλαβονοειδή, τα φαινολικά συστατικά, όπως οι ταννίνες, τη λουτεολίνη και την τοκοτριενόλη. Διάφορα άλλα βιοδραστικά συστατικά έχουν αναγνωριστεί στα φυτικά προϊόντα (Πίνακας 2.12). Λίγα είναι γνωστά για την παρουσία και το ποσοστό αυτών των συστατικών στους ξηρούς καρπούς, καθώς και για την επίδρασή τους στην υγεία. Κάποια στοιχεία υποστηρίζουν ότι τα φλαβονοειδή ασκούν καρδιοπροστατευτική επίδραση. Επιδημιολογικές μελέτες (Hertog MGL et al., 1993, 1995) έχουν δείξει ότι η πρόσληψη φλαβονοειδών σχετίζεται σημαντικά και αντιστρόφως με τη θνησιμότητα από στεφανιαία νόσο (Kris-Etherton et al., 1999).

Πίνακας 2.12: Βιοδραστικά συστατικά στα φυτικά προϊόντα

Indoles
Indole-3-carbinol
Indole-3-acetonitrile
3,3'-Diindomethane
Glucosinolates
Isitguictabates
Sulforaphen
Phenolics
Caffeic acid
Ellagic acid
Curcumin
Flavonoids
Luteolin
Quercetin
Myricetin
Apigenin
Kaempferol
Isoflavones
Genistein
Formononetin
Daidzein
Biochanin A
Terpenes
d-Carvone
d-Limonene
Organosulfuric compounds
Allyl methyl disulfide
Diallyl sulfide
Diallyl disulfide
Diallyl trisulfide

¹ Adapted from Kitts (23).

Από τα φλαβονοειδή, η κερκετίνη κυριαρχεί στη δίαιτα και συναντάται στα φρούτα, στα λαχανικά, στους ξηρούς καρπούς και στους σπόρους, στα λουλούδια και στους φλοιούς των δέντρων. Υπάρχουν επιδημιολογικά στοιχεία που αποδεικνύουν την προστατευτική δράση των τροφίμων που παρέχουν 16 με 24 mg κερκετίνης/ημέρα έναντι των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Η κερκετίνη εμποδίζει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων *in vitro* και μειώνει τη σύνθεση θρομβοξάνης *in vivo*. Πρόσφατα στοιχεία υποστηρίζουν ότι η κερκετίνη και άλλα φλαβονοειδή έχουν κάποιο ρόλο στην πρόληψη του καρκίνου. Φαίνεται ότι τα φλαβονοειδή διακόπτουν διάφορα στάδια της καρκινικής διαδικασίας. Αυτά τα φυτοχημικά παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση καθώς και άλλες αντικαρκινικές ιδιότητες. Τα φλαβονοειδή δρουν με διάφορους τρόπους πέρα από την αντιοξειδωτική τους δράση, για να παρεμβαίνουν στην καρκινογένεση, όπως είναι η προστασία του DNA από την οξειδωτική βλάβη, η απενεργοποίηση καρκινογόνων ουσιών, η παρεμπόδιση της έκφρασης μεταλλαξιογόνων γονιδίων και της δραστηριότητας των ενζύμων που προάγουν την καρκινογένεση καθώς και η αποτοξίκωση των ξενοβιοτικών. Για παράδειγμα, πειραματικές μελέτες έχουν δείξει ότι η κερκετίνη παρεμποδίζει την έναρξη, την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των όγκων σε πειραματικά μοντέλα (Kris-Etherton et al., 2002).

Οι ξηροί καρποί, και κυρίως τα φιστίκια, είναι πλούσιοι σε ρεσβερατρόλη, μία πολυφαινόλη που παράγεται κατά τη διάρκεια περιβαλλοντικού στρες και παθολογικής προσβολής. Φαίνεται ότι η ρεσβερατρόλη εμποδίζει την οξείδωση της LDL *in vitro*, τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και τη σύνθεση εικοσανοειδών. Επίσης, προστατεύει από τις αρρυθμίες, πιθανώς λόγω της αντιοξειδωτικής της δράσης και της ικανότητας της να αυξάνει την απελευθέρωση του μονοξειδίου του αζώτου, αλλά αυτή η επίδραση έχει φανεί μόνο σε πειραματόζωα. Η ρεσβερατρόλη δρα και ως χημειοπροστατευτικός παράγοντας. Φαίνεται ότι αναστέλλει τη ριβονουκλεοτιδική ρεδουκτάση και κάποιες άλλες κυτταρικές διαδικασίες που σχετίζονται με την έναρξη της καρκινογένεσης, την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των όγκων (Kris-Etherton et al., 2002).

Οι ξηροί καρποί περιέχουν ω-3 λιπαρά οξέα, τα οποία φαίνεται ότι εκδηλώνουν καρδιοπροστατευτική δράση. Τα άκρως ακόρεστα ω-3 λιπαρά οξέα εικοσαπεντανοϊκό (EPA) και δοκοσαεξανοϊκό (DHA) οξύ είναι κυρίως υπεύθυνα γι' αυτή τη δράση (Stone NJ, 1996). Εντούτοις, το α-λινολενικό οξύ έχει επίσης κάποιο

ρόλο γιατί μετατρέπεται σε κάποιο βαθμό σε EPA και DHA (Emken EA et al., 1994). Έχει προταθεί ότι η καρδιοπροστατευτική επίδραση των ω-3 λιπαρών οξέων οφείλεται στην αντιθρομβωτική τους δράση (Connor WE, 1997). Τα ω-3 λιπαρά οξέα παρεμποδίζουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και την αγγειοσυστολή (Kaminski WE et al., 1993). Επιπλέον, τα ω-3 λιπαρά οξέα φαίνεται ότι επηρεάζουν ευνοϊκά την αιμόσταση μέσω επιδράσεων στην ινόλυση και στο σχηματισμό θρόμβων στο αίμα (Shahar E et al., 1993).

Οι ξηροί καρποί είναι καλή πηγή διαιτητικών ινών (≈ 7 g/100 g), από τις οποίες $\approx 25\%$ είναι διαλυτές ίνες. Οι διαλυτές ίνες φαίνεται ότι μειώνουν τα επίπεδα ολικής και LDL χοληστερόλης και βελτιώνουν το γλυκαιμικό έλεγχο (Anderson JW et al., 1994). Έτσι, στο φάσμα μίας πλούσιας σε MUFA δίαιτας, με τους ξηρούς καρπούς να παρέχουν μεγάλο ποσοστό MUFA, 100 g ξηρών καρπών μπορούν να συμβάλουν αισθητά στη συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη φυτικών ινών (20-35 g/d), (Kris-Etherton et al., 1999).

Η βιταμίνη E σε υψηλές δόσεις (> 100 IU/d) φαίνεται ότι μειώνει τον κίνδυνο για στεφανιαία νόσο (Rimm EB, Stampher MJ, 1997). Αυτή η καρδιοπροστατευτική επίδραση φαίνεται να οφείλεται στην προκαλούμενη από τη βιταμίνη E αναστολή της οξείδωσης της LDL χοληστερόλης [η βιταμίνη E μεταφέρεται στο κλάσμα της LDL], ένα σημείο κλειδί κατά την αθηρογένεση. Οι ξηροί καρποί είναι πλούσιες πηγές βιταμίνης E, παρόλο που οι ποσότητες που λαμβάνονται από τη συνηθισμένη κατανάλωση ξηρών καρπών είναι μικρές σε σχέση με αυτές που φαίνεται ότι προστατεύουν από στεφανιαία νόσο. Εντούτοις, η κατανάλωση ξηρών καρπών είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος αύξησης της πρόσληψης βιταμίνης E (Kris-Etherton et al., 1999).

Το φυλλικό οξύ επίσης ανευρίσκεται στους ξηρούς καρπούς. Η κατανάλωση 100 g ξηρών καρπών παρέχει περίπου το 16% της διαιτητικής πρόσληψης αναφοράς (DRI) για φυλλικό οξύ, που είναι 400 mg/ημέρα. Επαρκής πρόσληψη φυλλικού οξέος εμποδίζει την αύξηση των επιπέδων ομοκυστεΐνης, η οποία φαίνεται να σχετίζεται με την καρωτιδική στένωση (Selhub J et al., 1995).

Κατά μέσο όρο, μία ουγγιά ξηρών καρπών (≈ 30 g) παρέχει το 18% του DRI για το σίδηρο (2 mg) και γι' αυτό μπορούν να είναι σημαντική πηγή αυτού του βασικού μεταλλικού στοιχείου. Ο σίδηρος έχει ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της

πίεσης του αίματος. Δίαιτες χαμηλές σε σίδηρο έχουν συσχετισθεί με δυσμενείς μεταβολές στα λιπίδια του αίματος, στην ανοχή γλυκόζης, την πίεση του αίματος και τα ηλεκτροκαρδιογραφήματα (Klevay LM, 1993).

Σχεδόν όλοι οι ξηροί καρποί είναι καλές πηγές μαγνησίου. 28.4 g ξηρών καρπών παρέχουν περίπου 8-20% του DRI (400 mg) αυτού του σημαντικού μεταλλικού στοιχείου. Το μαγνήσιο είναι απαραίτητο στη διατήρηση της ισορροπίας ασβέστιο/κάλιο. Έλλειψη μαγνησίου οδηγεί σε δυσρυθμίες, σε έμφραγμα του μυοκαρδίου και πιθανώς σε υπέρταση. Επίσης, είναι ζωτικό συστατικό στην ενζυμική λειτουργία, στην προστασία της αδαμαντίνης των δοντιών, στη χαλάρωση των μυών και στη νευρική μετάδοση σημάτων (Kris-Etherton et al., 1999).

Μία μετα-ανάλυση 38 κλινικών μελετών, έδειξε ότι η κατανάλωση πρωτεΐνης σόγιας (47 g) μείωσε τα επίπεδα ολικής και LDL χοληστερόλης κατά 10% (Anderson JW et al., 1995). Προτάθηκε ότι στην αργινίνη, το δεύτερο πιο κοινό αμινοξύ που βρίσκεται στις πρωτεΐνες των ξηρών καρπών, μπορεί να αποδοθεί η υποχοληστερολαιμική επίδραση που παρατηρείται (Kurowski EM et al., 1994). Επιπλέον, υπάρχουν στοιχεία ότι τα φυτοοιστρογόνα στην πρωτεΐνη σόγιας ασκούν καρδιοπροστατευτική επίδραση (Anthony MS et al., 1995). Εντούτοις, λίγα είναι γνωστά για τα φυτοοιστρογόνα στους ξηρούς καρπούς.

Οι φυτικές στερόλες αναστέλλουν την απορρόφηση της χοληστερόλης (Kris-Etherton et al., 1999). Η σιτοστερόλη, η πιο συχνά απαντώμενη στερόλη στα φυτικά έλαια, φαίνεται ότι παρουσιάζει υποχοληστερολαιμική δράση (Jones PJ et al., 1997). Λίγα είναι γνωστά για τη σύσταση των ξηρών καρπών σε φυτικές στερόλες και για την επίδρασή τους στην απορρόφηση και τη συγκέντρωση χοληστερόλης (Kris-Etherton et al., 1999). Επιδημιολογικές και εμπειρικές μελέτες υποστηρίζουν ότι οι διαιτητικές φυτοστερόλες μπορεί να προσφέρουν προστασία έναντι των πιο κοινών καρκίνων της Δυτικής κοινωνίας, όπως είναι ο καρκίνος του μαστού, του προστάτη και του παχέος εντέρου. Οι φυτοστερόλες επιδρούν στη δομή των μεμβρανών και στη λειτουργία των καρκινικών ιστών, επηρεάζοντας έτσι τη ανάπτυξη και την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων, την ανοσοποιητική διαδικασία και το μεταβολισμό της χοληστερόλης (Awad BA & Fink CS, 2000).

Είναι ξεκάθαρο ότι οι ξηροί καρποί περιέχουν πολλά συστατικά και διατροφικούς παράγοντες που μπορεί να έχουν ευεργετικές επιπτώσεις στην

ανθρώπινη υγεία (Πίνακας 2.13). απαιτείται όμως περαιτέρω έρευνα ώστε να διαπιστωθεί ότι αυτά τα συστατικά που ανευρίσκονται στους ξηρούς καρπούς προστατεύουν όντως από τον κίνδυνο για στεφανιαία νόσο και άλλα χρόνια νοσήματα (Kris-Etherton et al., 1999).

Πίνακας 2.13: Συστατικά στους ξηρούς καρπούς με ευεργετικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία

n-6 and n-3 Monounsaturated and polyunsaturated fatty acids
Fiber
Micronutrients
Vitamin E
Folic acid
Copper
Magnesium
Plant protein (arginine)
Phytochemicals
Plant sterols

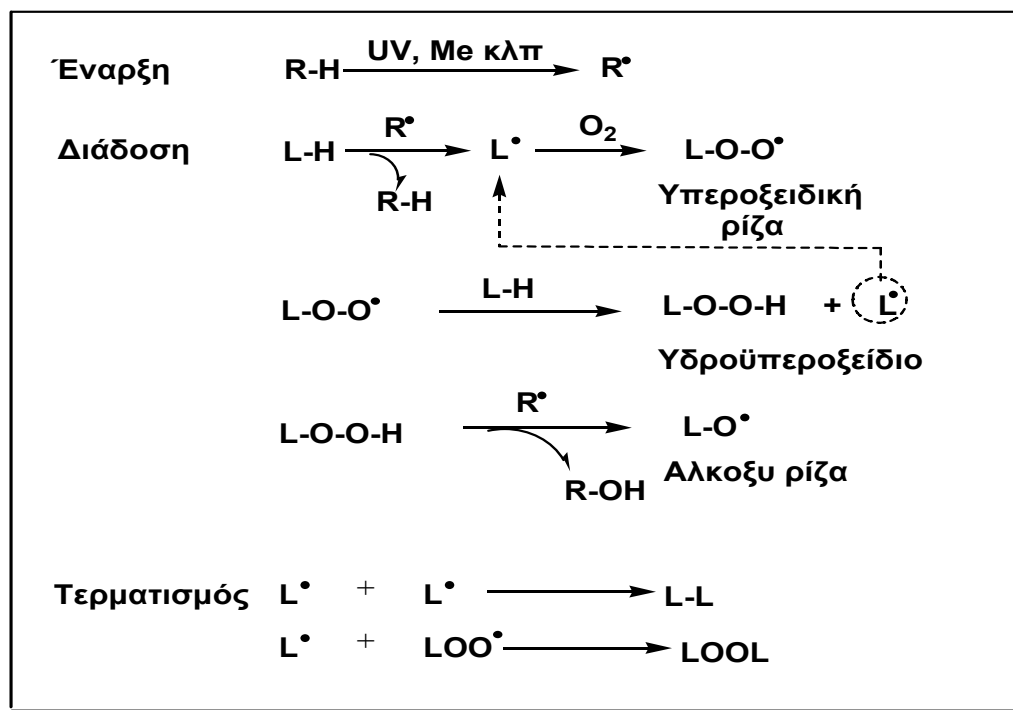
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

Αντιοξειδωτικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση ξηρών καρπών

3.1 Αντιοξειδωτικά και μηχανισμός ελευθέρων ριζών

Ως αντιοξειδωτικά ορίζονται οι ουσίες οι οποίες μπορούν να παρεμποδίσουν τις αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών, όπως των δραστικών μορφών του οξυγόνου, προστατεύοντας έτσι τον οργανισμό από την επιβλαβή δράση τους (Krause's, 11th edition). Οι ελεύθερες ρίζες είναι ασταθείς και ιδιαίτερα δραστικές ενώσεις.

Οι ελεύθερες ρίζες είναι υπεύθυνες για την οξείδωση συστατικών των τροφίμων, κάτι που έχει ως αποτέλεσμα μεταβολές των βασικών παραμέτρων ελέγχου ποιότητας, όπως είναι το χρώμα, το άρωμα, η γεύση και η διατροφική αξία του τροφίμου (Donelli & Robinson, 1995 / για παραπομπή βλ. Μεταπτυχιακή Διατριβή Γρηγοράκης Δ., 2004). Αρχικά δημιουργείται με κάποιο τρόπο μία ελεύθερη ρίζα (έναρξη). Τα κυριότερα από τα αρχικά προϊόντα της αυτοοξείδωσης είναι τα υδροϋπεροξειδία. Αυτά στη συνέχεια δίνουν νέες ρίζες υπεροξειδίων, άλλα υδροϋπεροξειδία και νέες ρίζες από το υδρογονανθρακικό τμήμα του μορίου (διάδοση). Με τον τρόπο αυτό οι αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών τείνουν να είναι αλυσιδωτές αναγεννώντας συνέχεια νέα άτομα ή ενώσεις με ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Η αντίδραση θα σταματήσει όταν όλες οι ελεύθερες ρίζες αντιδράσουν προς προϊόντα που δεν παρέχουν πλέον νέες ελεύθερες ρίζες (Μπόσκου Δ., 1997). Η αλληλουχία των αντιδράσεων φαίνεται σχηματικά στο Σχήμα 3.1.



3.2 Αντιοξειδωτικά στα τρόφιμα: ταξινόμηση και μηχανισμός δράσης

Ένα αντιοξειδωτικό πρέπει να συνδυάζει τις εξής ιδιότητες (Μπόσκου Δ., 1997):

- Να είναι όσο γίνεται σταθερό στα διάφορα στάδια επεξεργασίας του τροφίμου.

Τα αντιοξειδωτικά ή παρεμποδιστές οξείδωσης λιπιδίων χωρίζονται σε δύο κατηγορίες:

A) Πρωτοταγή αντιοξειδωτικά

Αυτά διακόπτουν τις αντιδράσεις διάδοσης παρέχοντας άτομα υδρογόνου στις ελεύθερες ρίζες. Σ'αυτά ανήκουν οι φαινολικές ενώσεις, όπως τα BHT (βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο), BHA (βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη), TBHQ (τρι-βούτυλο-υδροκινίνη), PG (προπυλικός εστέρας γαλλικού οξέος), οι φαινόλες, οι τοκοφερόλες, το καφεϊκό οξύ, η καρνοσόλη, το ροσμαρινικό οξύ κ.ά. Οι τοκοφερόλες ανήκουν στα φυσικά αντιοξειδωτικά. Είναι τέσσερα ομόλογα γνωστά, η α , β , γ και δ -τοκοφερόλη που η αντιοξειδωτική τους ικανότητα αυξάνεται από το α -ομόλογο προς το δ , αντίθετα με τη βιταμινική τους δράση, η οποία ελαττώνεται κατά την ίδια σειρά. Οι τοκοφερόλες δρουν ως βιολογικά αντιοξειδωτικά στα φυτά και τους ζωϊκούς ιστούς, δηλαδή προστατεύουν τα συστήματα αυτά από την οξείδωση. Στα διάφορα στάδια επεξεργασίας των ελαίων χάνεται ένα σημαντικό μέρος των τοκοφερολών. Αυτό που μένει όμως συμβάλλει στην αύξηση του ορίου συντήρησης του εξευγενισμένου ελαίου. Τα δε φαινολικά αντιοξειδωτικά δρουν μέσω του μηχανισμού ελευθέρων ριζών. Αντιδρούν με αυτές και σχηματίζουν ενώσεις που δεν έχουν την τάση να δίνουν νέες ελεύθερες ρίζες. Η δράση των φαινολικών αντιοξειδωτικών αυξάνεται όταν χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό. Το φαινόμενο αυτό λέγεται συνέργεια ή συνεργισμός ή συνεργιστική δράση.

B) Δευτεροταγή αντιοξειδωτικά

Σ'αυτή την κατηγορία ανήκουν κάποιες ομάδες αντιοξειδωτικών με διαφορετικές ιδιότητες:

1. Οι δεσμευτές μετάλλων δεσμεύουν μέταλλα τα οποία με μεταφορά ηλεκτρονίου δημιουργούν ελεύθερες ρίζες. Τέτοιες ενώσεις είναι τα οξέα ή τα παράγωγά τους που σχηματίζουν χηλικές ενώσεις, όπως το EDTA, το κιτρικό και το φωσφορικό οξύ, άλατα κ.ά.
2. Οι δεσμευτές οξυγόνου αντιδρούν με το οξυγόνο και ελαττώνουν τη συγκέντρωσή του σ'ένα κλειστό σύστημα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα το ασκορβικό οξύ και οι εστέρες του.

3. Επίσης, στην κατηγορία των δευτεροταγών αντιοξειδωτικών εντάσσονται τα αναγωγικά, τα οποία αναγεννούν φαινόλες και εμφανίζουν το φαινόμενο του συνεργισμού. Το ασκορβικό οξύ, με τη μορφή εστέρων με λιπαρά οξέα (για να είναι λιποδιαλυτό) πιστεύεται ότι αναγεννά τα φαινολικά αντιοξειδωτικά, παρέχοντας υδρογόνο στις φαινόξυ-ρίζες και έτσι έχει μία έμμεση δράση ως αντιοξειδωτικό. Ως αναγωγικό, το ασκορβικό οξύ μεταφέρει άτομα υδρογόνου στις κινόνες, που σχηματίζονται στην ενζυμική αμάυρωση των φαινολικών ουσιών και αυτό παρέχει μία προστασία στις πρόσφατα κομμένες επιφάνειες των φρούτων και λαχανικών.
4. Ένας άλλος μηχανισμός δράσης των δευτερογενών αντιοξειδωτικών είναι ως αποσβέστες διηγεμένου (singlet) οξυγόνου, οι οποίοι απενεργοποιούν το μονήρες οξυγόνο. Εδώ ανήκουν οι τοκοφερόλες και το β-καροτένιο.
5. Κάποια ένζυμα λειτουργούν ως αντιοξειδωτικά, απομακρύνοντας ενεργά είδη οξυγόνου. Τέτοια ένζυμα είναι η δισμουτάση σουπεροξειδίου, η υπεροξειδάση γλουταθειόνης, η οξειδάση της γλυκόζης και η καταλάση.
6. Η μεθυλοσιλικόνη και οι στερόλες με αιθυλιδενική πλευρική αλυσίδα, όπως το πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο, εμποδίζουν τον οξειδωτικό πολυμερισμό σε θερμαινόμενα έλαια.
7. Τέλος, σ' αυτή την κατηγορία ανήκουν τα αντιοξειδωτικά με πολλαπλή ή μη πλήρως γνωστή δράση. Τέτοια είναι τα φωσφολιπίδια και τα προϊόντα των αντιδράσεων Maillard (Μπόσκου Δ., 1997).

3.3 Αντιοξειδωτικά και ανθρώπινος οργανισμός

Οι ελεύθερες ρίζες είναι ιδιαίτερα καταστρεπτικές για το μιτοχονδριακό DNA. Σύμφωνα με τη θεωρία των ελευθέρων ριζών, οι αλλαγές που σχετίζονται με την ηλικία, προκαλούνται ως αποτέλεσμα της αδυναμίας του οργανισμού να αντισταθεί στο οξειδωτικό στρες, που δημιουργείται με την αύξηση της ηλικίας των ανθρώπων. Οξειδωτικό στρες καλείται η ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών ουσιών σε βάρος των δεύτερων (Prior et al., 1999). Η διαδικασία της οξείδωσης στο ανθρώπινο σώμα προκαλεί καταστροφή των κυτταρικών μεμβρανών και άλλων δομών, συμπεριλαμβανομένων των κυτταρικών πρωτεϊνών, λιπιδίων και γενετικού υλικού (DNA). Όπως είναι γνωστό, η ενέργεια που χρησιμοποιεί το σώμα προέρχεται από την πέψη και τον μεταβολισμό των υδατανθράκων, των πρωτεϊνών και των λιπών. Οι υδατάνθρακες καταβολίζονται σε γλυκόζη, οι πρωτεΐνες σε αμινοξέα και τα λίπη σε γλυκερόλη και λιπαρά οξέα. Οι ουσίες αυτές διασπώνται μέσω ειδικών βιοχημικών διαδικασιών μέσα στο κύτταρο για να παραχθεί ενέργεια. Η ενέργεια αυτή αποθηκεύεται στο μόριο της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP). Όταν το οξυγόνο μεταβολίζεται, σχηματίζονται ελεύθερες ρίζες οι οποίες παίρνουν ηλεκτρόνια από άλλα μόρια προκαλώντας βλάβες (Better Health Channel, 2005).

Τα μιτοχόνδρια είναι κυτταρικά συστατικά στα οποία παράγεται ενέργεια από τα συστατικά της τροφής και αποθηκεύεται με την μορφή της ATP. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται οξειδωτική φωσφορυλίωση. Το εκπληκτικό είναι ότι τα μιτοχόνδρια, στην διαδικασία αυτή υφίστανται βλάβη τα ίδια μέσω της παραγωγής ελευθέρων ριζών οξυγόνου. Έτσι τα ίδια τα μιτοχόνδρια είναι πηγή παραγωγής ελευθέρων ριζών. Καθώς το υδρογόνο διατρέχει την αναπνευστική αλυσίδα για να ενωθεί με το οξυγόνο, υπάρχει μια συνακόλουθη μεταφορά ενεργοποιημένων ηλεκτρονίων τα οποία επιτρέπουν την παραγωγή ATP, σε συγκεκριμένα σημεία αυτής της αλυσίδας. Εν τούτοις, η αναπνευστική μεταφορά των ηλεκτρονίων είναι αποτελεσματική μόνο κατά 95-98 % και η απώλεια ενός μονήρους ηλεκτρονίου από το μόριο του οξυγόνου σχηματίζει την ελεύθερη ρίζα ανιόν του υπεροξειδίου με αποτέλεσμα βλάβες των μιτοχονδρίων και εν συνεχεία των κυττάρων (Better Health Channel, 2005).

Σήμερα πιστεύεται ότι η πτώση της λειτουργικής ικανότητας των κυττάρων που σχετίζεται με την ηλικία, έχει περισσότερο σχέση με την βλάβη του μιτοχονδριακού DNA. Βλάβες στο μιτοχονδριακό DNA δεν προκύπτουν μόνο από το ανιόν του

υπεροξειδίου αλλά και από άλλες ελεύθερες ρίζες, όπως αυτές του υδροξυλίου, του υπεροξειδίου του υδρογόνου, και του μονήρους οξυγόνου. Ελεύθερες ρίζες παράγονται επίσης εξωγενώς από ένζυμα κατά την καταλυτική τους λειτουργία, από βαρέα μέταλλα (μόλυβδος, υδράργυρος, κάδμιο), από ξένες χημικές ουσίες που υφίστανται αποτοξίνωση στο ήπαρ, στους πνεύμονες και στους νεφρούς, από ιονίζουσα και υπεριώδη ακτινοβολία και από τοξικότητα του οξυγόνου (Better Health Channel, 2005).

Το σώμα μπορεί να ανταπεξέλθει στην παρουσία μερικών ελεύθερων ριζών, η δράση των οποίων μάλιστα απαιτείται για την αποτελεσματική λειτουργία του οργανισμού. Ωστόσο, μία υπερφόρτωση του οργανισμού με ελεύθερες ρίζες έχει συσχετισθεί με συγκεκριμένες ασθένειες, όπως καρδιαγγειακά νοσήματα, ηπατική νόσο και κάποια είδη καρκίνου (Better Health Channel, 2005). Στα μόρια των ελεύθερων ριζών ο οργανισμός αντιδρά με το αντιοξειδωτικό σύστημα. Το αρχικό στάδιο δημιουργίας ελευθέρων ριζών εξελίσσεται σε μία αυτοκαταλυόμενη αλυσιδωτή αντίδραση που μπορεί να προκαλέσει βλάβη στο κύτταρο. Εδώ ακριβώς πιστεύουν οι επιστήμονες ότι βρίσκεται ο ρόλος των αντιοξειδωτικών, όπως της βιταμίνης E, τα οποία δρουν ως αποσβέστες (quenchers) ριζών. Για παράδειγμα, η υπεροξειδάση απομακρύνει μεν τα υπεροξείδια, αλλά δεν μπορεί να αποτρέψει τον σχηματισμό νέων αλυσίδων υπεροξειδωσης (Μπόσκου Δ, 1997). Για το λόγο αυτό ο υπερβολικός σχηματισμός ελευθέρων ριζών, ο οποίος συμβάλλει στην εμφάνιση κάποιων παθολογικών καταστάσεων, μπορεί να απαιτεί υψηλή διαιτητική πρόσληψη φρούτων πλούσιων σε αντιοξειδωτικές βιταμίνες και φαινολικές ενώσεις (Owen, Giacosa, Hull, Haubner, Spiegelalder&Bartsch, 2000).

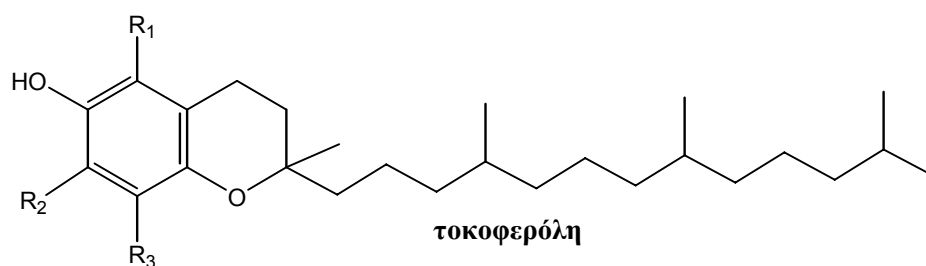
Τα αντιοξειδωτικά σε υψηλές συγκεντρώσεις χαρακτηρίζονται από προοξειδωτική δράση κατά την οποία επιταχύνεται η καταστροφή σημαντικών βιολογικών μορίων, όπως το DNA, οι υδρογονάνθρακες και οι πρωτεΐνες. Η *in vivo* προοξειδωτική δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών διαφέρει από την *in vitro*. Για παράδειγμα, η προοξειδωτική δράση *in vivo* της α-τοκοφερόλης αναιρείται από το ασκορβικό οξύ που υπάρχει στον οργανισμό. Έτσι, ενώ στις *in vitro* διαδικασίες έχει αποδειχθεί η προοξειδωτική δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών, στις *in vivo* διαδικασίες η προοξειδωτική δράση είναι σχεδόν αμελητέα (Noguchi N, Niki E, 1999 / για παραπομπή βλ. Μεταπτυχιακή Διατριβή Γρηγοράκης Δ., 2004). Η αντιοξειδωτική και η προοξειδωτική δραστηριότητα πολλών από τις πολυφαινόλες που μελετώνται σε αυτή την εργασία έχει αποδειχθεί *in vitro* (Papadopoulos, G. and

Boskou, D. 1991). Η *in vivo* όμως προοξειδωτική δράση των πολυφαινολών δεν έχει αποδειχθεί.

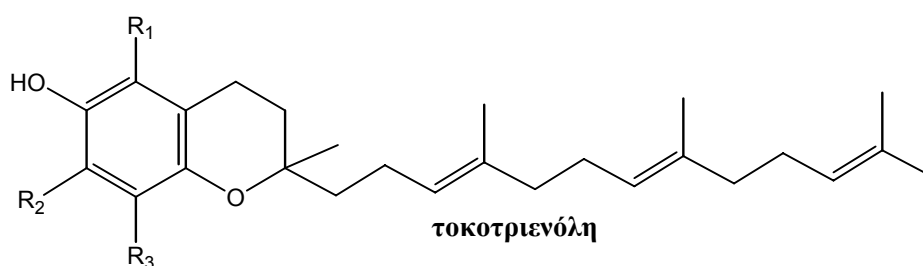
3.4 Βιταμίνη Ε

Η βιταμίνη αυτή ανακαλύφθηκε το 1922. Οι επιστήμονες πιστεύουν ότι σχετίζεται στενά με την αναπαραγωγή, εξού και το όνομα τοκοφερόλες, το οποίο προέρχεται από την ελληνική λέξη τοκετός (The Acne Resource Center, 2004). Η βιταμίνη Ε έχει ζωτικό ρόλο στην προστασία του οργανισμού ενάντια στη δράση των δραστικών μορφών οξυγόνου που σχηματίζονται μεταβολικά ή που συναντώνται στο περιβάλλον. Πρόκειται για σύμπλεγμα βιταμινών, το οποίο αποτελείται από τέσσερις τοκοφερόλες και τέσσερις συγγενείς δομικά τοκοτριενόλες (Krause's, 11th edition). Διαφέροντας η μία από την άλλη κατά τον αριθμό και τη θέση των ομάδων μεθυλίου (CH₃) γύρω από το δακτύλιο, στη σειρά αυτές είναι: η α-, η β-, η γ- και η δ- τοκοφερόλη, καθώς και η α-, η β-, η γ- και η δ- τοκοτριενόλη. Στο σχήμα που ακολουθεί φαίνεται η δομή και η δραστηριότητα των τοκοφερολών και των τοκοτριενολών. Οι τοκοφερόλες και οι τοκοτριενόλες διαφέρουν ως προς την παρουσία διπλών δεσμών στην πλευρική αλυσίδα. Οι α, β, γ, δ τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες διαφέρουν μεταξύ τους ως προς την υποκατάσταση του χρωμανικού δακτυλίου (Χίου Α., 2003).

Η α-τοκοφερόλη εμφανίζει τη μεγαλύτερη δραστηριότητα ως βιταμίνη Ε, ενώ οι άλλες τοκοφερόλες εμφανίζουν βιολογική δραστηριότητα που κυμαίνεται από το 1% μέχρι το 50%, σε σύγκριση μ' εκείνη της α-τοκοφερόλης (Παπανικολάου Γ., Σύγχρονη Διατροφή & Διαιτολογία, 1997). Η αντιοξειδωτική τους ικανότητα είναι αντίστροφη προς τη βιταμινική, δηλαδή η τοκοφερόλη δ είναι ισχυρότερο αντιοξειδωτικό από την α.



Ένωση	R ₁	R ₂	R ₃	Σχετική δραστικότητα
α-τοκοφερόλη	CH ₃	CH ₃	CH ₃	1
β-τοκοφερόλη	CH ₃	H	CH ₃	0,4
γ-τοκοφερόλη	H	CH ₃	CH ₃	0,1-0,3
δ-τοκοφερόλη	H	H	CH ₃	0,01



Ένωση	R ₁	R ₂	R ₃	Σχετική δραστικότητα
α-τοκοτριενόλη	CH ₃	CH ₃	CH ₃	0,3
β-τοκοτριενόλη	CH ₃	H	CH ₃	
γ-τοκοτριενόλη	H	CH ₃	CH ₃	
δ-τοκοτριενόλη	H	H	CH ₃	

Σχήμα 3.2: Δομή και σχετική δραστηριότητα τοκοφαιρών και τοκοτριενολών.

3.4.1 Η σημασία των τοκοφερολών στην ανθρώπινη υγεία

Η βιταμίνη Ε είναι το πιο σημαντικό λιποδιαλυτό αντιοξειδωτικό που βρίσκεται στο κύτταρο. Βρίσκεται στη λιπιδική στοιβάδα των κυτταρικών μεμβρανών, όπου και προστατεύει τα ακόρεστα φωσφολιπίδια των μεμβρανών από την οξειδωτική προσβολή, η οποία προκαλείται από τις δραστικές μορφές οξυγόνου και άλλες ελεύθερες ρίζες. Η λειτουργία αυτή της βιταμίνης Ε οφείλεται στην ιδιότητα που έχει να μειώνει τη δραστικότητα αυτών των ριζών μετατρέποντας τις σε αβλαβείς μεταβολίτες, δίνοντας τους ένα ηλεκτρόνιο. Αυτή η διαδικασία ονομάζεται συλλογή ελευθέρων ριζών (Krause's, 11th edition). Με τον τρόπο αυτό προστατεύει τα κύτταρα από τοξικές ενώσεις που σχηματίζονται από την οξείδωση των πολυακόρεστων λιπών. Επιπλέον, δρώντας αντιοξειδωτικά, επιβραδύνει το τάγγισμα των λιπών (Παπανικολάου Γ., 1997). Ο μηχανισμός της οξείδωσης (ή τάγγισμα) ενεργοποιείται όταν κάποιο οξειδωτικό μέσο, όπως η θέρμανση και το φώς, προσβάλλει ένα έλαιο. Τότε οξειδώνεται πρώτα η πλευρική αλυσίδα ατόμων C των τοκοφερολών (Ανδρικόπουλος Ν., 1998).

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχει μικρότερη συχνότητα πολλών χρόνιων νοσημάτων σε περιοχές και πληθυσμούς που καταναλώνουν φρούτα, λαχανικά, κόκκινο κρασί και τσάι σε κανονικές ποσότητες (Block et al., 1992, Frankel et al., 1993, Goldberg, 1995, Renaud and de Lorgeril, 1992, Steinmetz and Potter, 1991 / βλ. Μεταπτυχιακή Διατριβή Γρηγοράκης Δ., 2004), κάτι που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι, ειδικά τα φρούτα και τα λαχανικά, είναι πηγές βιταμινών με αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Weisburger J.H., 1999). Νοσήματα στα οποία πιστεύεται ότι έχει ευεργετική δράση η βιταμίνη Ε είναι τα καρδιαγγειακά και η στεφανιαία νόσος, τα οποία προκαλούνται από οξειδωτικές βλάβες. Συγκεκριμένα, οι Carmena et al. (1996 / βλ. Μεταπτυχιακή Διατριβή Γρηγοράκης Δ., 2004) εξέτασαν την επίδραση του ελαιολάδου, ως πλούσια πηγή τοκοφερολών, στη λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (LDL), της οποίας οι αυξημένες συγκεντρώσεις σχετίζονται με την αθηρωμάτωση. Παρατηρήθηκε ότι η βιταμίνη Ε παρουσιάζει σημαντική αντιοξειδωτική δράση, γεγονός που επιβεβαιώθηκε και από δύο μελέτες των Choudhury et al. το 1995 και το 1997 (βλ. Μεταπτυχιακή Διατριβή Γρηγοράκης Δ., 2004)

Μέχρι προσφάτως, οι επιστήμονες πίστευαν ότι η οξείδωση της LDL-χοληστερόλης και οι βιολογικές της συνέπειες μπορούσαν να παρεμποδιστούν με τη

χρήση αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων. Εντούτοις, πρόσφατες μελέτες έχουν αποτύχει να αποδείξουν την ευεργετική επίδραση τέτοιων συμπληρωμάτων, ειδικά όταν χορηγούνταν βραχυπρόθεσμα (λιγότερο από 2 χρόνια) σε χαμηλές δόσεις (<67mg/d), (Stampfer MJ et al., 1995). Ένας από τους λόγους για τους οποίους αυτές οι μελέτες δεν έχουν παρουσιάσει προστατευτικά αποτελέσματα της βιταμίνης E, ακόμα και μετά από συμπληρωματική χορήγηση υψηλών δόσεων, είναι ότι η αθηρογένεση είναι μία διαδικασία μακράς διάρκειας και η οξειδωτική τροποποίηση των λιποπρωτεϊνών είναι πιθανά μία αρχική διαδικασία του σχηματισμού αρτηριοσκληρυντικών βλαβών. Επομένως, πρέπει να προσδιοριστεί η αντιοξειδωτική δράση της βιταμίνης E σε μακροχρόνιες μελέτες πρόληψης (Steinberg D et al., 1995). Προς το παρόν, τα επιστημονικά δεδομένα προτείνουν μία διατροφή πλούσια σε τροφές με αντιοξειδωτικά για μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων (American Health Association, 2004).

Επιπλέον, πιστεύεται ότι η βιταμίνη E ασκεί προστατευτική δράση κατά του καρκίνου. Προστατεύει τις κυτταρικές μεμβράνες από την οξειδωτική επίδραση των ελεύθερων ριζών, η οποία μπορεί να προκαλέσει καρκίνο. Επίσης, μπορεί να εμποδίσει το σχηματισμό των νιτροζαμινών, που είναι καρκινογόνες ουσίες που σχηματίζονται στο στομάχι από νιτρικές ενώσεις που περιέχονται σε τρόφιμα που καταναλώνονται (National Institutes of Health, Office of dietary supplements, 2004). Θεωρείται ότι μπορεί να προστατεύσει από καρκίνους που προσβάλλουν τον ανθρώπινο οργανισμό από υπολειπουμένη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος (American Health Association, 2004), καθώς και να μειώσει τους θανάτους από καρκίνο της ουρήθρας, όταν προσλαμβάνεται σε κανονικές ποσότητες σε μορφή συμπληρωμάτων για πάνω από 10 χρόνια (American Cancer Society, 1998).

Ένας μεγάλος αριθμός μελετών σε ζώα και σε ανθρώπους, έχουν δείξει ότι η βιταμίνη E προστατεύει αποτελεσματικά από την ανάπτυξη καρκίνων, όπως του στόματος, του παχέος εντέρου, του δέρματος, του πνεύμονος και του μαστού. Αν και ο ακριβής μηχανισμός της δράσης της βιταμίνης E στην καρκινογένεση δεν είναι ακόμα σαφής, έχει διατυπωθεί η θεωρία ότι η αντικαρκινογόνος δράση της βιταμίνης E οφείλεται σε ένα αριθμό από διαφορετικούς βιοχημικούς μηχανισμούς. Για παράδειγμα, η προφύλαξη κατά του καρκίνου του δέρματος που επιτυγχάνεται από τη βιταμίνη E, πιστεύεται ότι προέρχεται από την ικανότητά της να προλαμβάνει τις τοξικές επιδράσεις που προκαλούνται από τις ελεύθερες ρίζες κατά την

καρκινογένεση από ακτινοβολία. Η προστασία κατά του καρκίνου του παχέος εντέρου που παρέχεται από τη βιταμίνη E, θεωρείται ότι προέρχεται από αντιοξειδωτικές δράσεις της βιταμίνης E. Οι παράγοντες που ενοχοποιούνται για τη δημιουργία τοξικών ελευθέρων ριζών οξυγόνου στο παχύ έντερο περιλαμβάνουν την εντερική χλωρίδα, βακτήρια των κοπράνων, διαιτητικούς παράγοντες όπως πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και ενδογενείς μεταβολίτες. Επιπροσθέτως, ελεύθερες ρίζες οξυγόνου όπως διοξείδιο του αζώτου (NO₂) παράγονται από φλεγμονώδη κύτταρα που βρίσκονται στο παχύ έντερο. Όπως φαίνεται από *in vitro* μελέτες και από μελέτες σε ζώα, η παραγωγή των καρκινογόνων νιτροζαμινών αναστέλλεται αποτελεσματικά από τη βιταμίνη E. Υπάρχουν αρκετά στοιχεία που δείχνουν ότι ο κίνδυνος καρκίνου του παχέος εντέρου αυξάνεται από τις μεταλλάξεις που προκαλούνται από ελεύθερες ρίζες. Η βιταμίνη E ίσως είναι η αποτελεσματικότερη αντιοξειδωτική ουσία που δεσμεύει τις ελεύθερες ρίζες που γνωρίζουμε σήμερα και φαίνεται να μειώνει τη δημιουργία των ελευθέρων ριζών στο παχύ έντερο και να προστατεύει κατά της ανάπτυξης του καρκίνου του παχέος εντέρου, (www.nutrition.med.uoc.gr/drastiriotes/oil_gr/rolos.htm).

Η βιταμίνη E έχει βρεθεί ότι αναστέλλει τις βλάβες που προκαλούνται στο DNA στα πλαίσια της καρκινογένεσης και της αύξησης των όγκων. Επίσης η βιταμίνη E ίσως επιβραδύνει την καρκινογένεση μέσω της διέγερσης του ανοσοποιητικού συστήματος προκειμένου αυτό να καταστρέψει τα καρκινικά κύτταρα. Αυτό επιτυγχάνεται ενισχύοντας την έκφραση των κατασταλτικών γονιδίων, όπως του P 53 και των πρωτεϊνών heat-shock, καθώς και μέσω της μείωσης των πρωτεϊνικών παραγώγων του παράγοντα μετάφρασης και της ανταπόκρισης σε αυξητικούς παράγοντες και αναστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Ωστόσο, οι αντικαρκινικές δράσεις της βιταμίνης E δεν υποστηρίζονται από όλες τις μελέτες, ίσως λόγω των δυσχερειών στον προσδιορισμό της διαιτητικής πρόσληψης στις επιδημιολογικές μελέτες και άλλων σχετικών προβλημάτων. Συνεπώς, πολλοί ερευνητές συμπεραίνουν ότι δεν είναι δυνατόν να εξαχθούν οριστικά συμπεράσματα όσον αφορά στη σχέση μεταξύ της βιταμίνης E και του καρκίνου μέχρις ότου δημοσιευτούν τα τελικά συμπεράσματα των συνεχιζόμενων μελετών παρέμβασης μεγάλης κλίμακας, (www.nutrition.med.uoc.gr).

Πιθανολογείται η ευεργετική δράση των τοκοφερολών ενάντια στον καταρράκτη, μίας πάθησης των ματιών που προκαλεί θολή όραση και μερικές φορές

τύφλωση στους ηλικιωμένους. Παρόλα αυτά, περαιτέρω έρευνες πρέπει να γίνουν για να αποδειχτεί η παραπάνω υπόθεση (American Health Association, 2004). Λειτουργώντας ως ένας φυσικός αναστολέας της καταστροφής των κυττάρων και προστατεύοντας τους ιστούς από την διάσπαση που υφίστανται, η βιταμίνη E, πιθανόν να έχει κάποιο προστατευτικό ρόλο σε ολόκληρη σειρά από εκφυλιστικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένου και του γήρατος (Παπανικολάου Γ., 1997). Άλλες δράσεις της που αναφέρονται στη βιβλιογραφία είναι η θεραπεία της ακμής, μέσω της ρύθμισης της ρετινόλης στα φυσιολογικά επίπεδα στον οργανισμό (The Acne Resource Center, 2004) καθώς και ο πιθανός ρόλος της στην αντιμετώπιση του άσθματος και των αλλεργιών, μέσω της παρεμπόδισης της λιποξυγένεσης του αραχιδονικού οξέος (Centanni S, Santus P, Di Marco F, Fumagalli F, Zarini S, Sala A., 2001).

3.5 Πολυφαινολικές Ενώσεις

Οι πολυφαινόλες (PP) αποτελούν μία μεγάλη ομάδα ενώσεων με ένα ή περισσότερα υδροξύλια απ'ευθείας συνδεδεμένα σε έναν ή περισσότερους αρωματικούς ή και ετεροκυκλικούς δακτυλίους. Σήμερα είναι γνωστές 8000 PP. Η δομή των πολυφαινολών ποικίλει από απλή (π.χ στα φαινολικά οξέα) έως εξαιρετικά πολύπλοκη, πολυμερής δομή όπως αυτή των ταννινών. Οι πολυφαινολικές ενώσεις κατατάσσονται βάσει Harborne σε 15 κύριες τάξεις: απλές φαινόλες (τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη), βενζοκινόνες, φαινολικά οξέα (γαλλικό, συριγγικό, βανιλικό), ακετοφαινόλες και φαινυλοξικά οξέα, τα οποία είναι λιγότερο συχνά στα φυτά, φαινυλοπροπανοειδή, υδροξυκιναμμωμικά οξέα (φερουλικό, καφεϊκό, σιναιπικό, κουμαρικό), κουμαρίνες και ισοκουμαρίνες, χρωμόνες, ναφθοκινόνες, ξανθόνες, στιλβένια, ανθρακινόνες, φλαβονοειδή και τέλος λιγνάνες, νεολιγνάνες και λιγνίνες.

Από τις παραπάνω κατηγορίες η σημαντικότερη είναι αυτή των φλαβονοειδών, η οποία διακρίνεται περαιτέρω σε 13 υποκατηγορίες διαθέτοντας συνολικά περισσότερα από 5000 μέλη. Αυτές είναι οι χαλκόνες, οι διϋδροχαλκόνες, οι χρυσόνες, οι φλαβόνες, οι φλαβονόλες, οι διϋδροφλαβονόλες, οι φλαβονόνες, οι φλαβανόλες, οι φλαβανοδιόλες, οι ανθοκυανιδίνες, τα ισοφλαβονοειδή και τέλος τα διφλαβονοειδή, οι προανθοκυανιδίνες ή συμπυκνωμένες ταννίνες (Χίου Α., 2003).

Οι πολυφαινόλες είναι αρκετά διαδεδομένες στα φυτικά τρόφιμα (λαχανικά, φρούτα, φυτικά λάδια κ.ά) και στα ποτά (κρασί, μπύρα, τσάι, κακάο κ.ά) και εν μέρει υπεύθυνες για τις διατροφικές τους ιδιότητες. Η στιφή και πικρή γεύση των τροφίμων και των ποτών εξαρτάται από την περιεκτικότητά τους σε πολυφαινόλες (Χίου Α., 2003).

3.5.1 Η σημασία των φαινολικών ενώσεων στην ανθρώπινη υγεία

Τα στοιχεία για την απορρόφηση και διάθεση των πολυφαινολών στον ανθρώπινο οργανισμό δείχνουν ότι ορισμένες ενώσεις απορροφούνται άθικτες από τον οργανισμό και άλλες μεταβολίζονται από την εντερική χλωρίδα (Visioli F et al., 1998, Visioli F, Galli C, 1998). Παρόλα αυτά, οι φαινολικές ενώσεις βρίσκονται στο επίκεντρο του ερευνητικού ενδιαφέροντος λόγω των πολλαπλών φυσιολογικών δράσεων που παρουσιάζουν.

Η προστατευτική δράση των πολυφαινολών, κυρίως όσων έχουν ορθο-διφαινολική, κατεχολική σύνταξη στο μόριό τους, αποδίδεται στην αντιοξειδωτική τους δράση ως «δεσμευτές» (scavengers) ελευθέρων ριζών ή ως αποδομητές αλυσιδωτών οξειδωτικών αντιδράσεων. Η αντιοξειδωτική τους δράση εκδηλώνεται με προστασία της LDL από οξείδωση και κατά συνέπεια μείωση της αποτιθέμενης χοληστερόλης στους ιστούς, αλλά και με δράση έναντι των οξειδωτικών παραγόντων του επιθηλιακού ιστού, με αποτέλεσμα να μειώνονται οι πιθανότητες σχηματισμού αθηρωματικής πλάκας (Χίου Α. 2003). Γι'αυτό και η κατανάλωση ελαιολάδου, το οποίο περιέχει πολυφαινόλες, σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο στεφανιαίων καρδιακών παθήσεων (Mattson FH et al. 1985, Mensink RP et al. 1992, Ruiz-Gutierrez V et al. 1996 / βλ. Μεταπτυχιακή Διατριβή Γρηγοράκης Δ., 2004).

Η μείωση των επιπέδων της χοληστερόλης λόγω της παρουσίας πολυφαινολών έχει μελετηθεί *in vivo* (Fernantez-Moyano A et al, 1997 / βλ. Μεταπτυχιακή Διατριβή Γρηγοράκης Δ., 2004). Είναι γνωστό ότι η μείωση της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας LDL και η αύξηση της λιποπρωτεΐνης υψηλής πυκνότητας HDL εμποδίζουν μια σειρά από ασθένειες, όπως η θρόμβωση, η αρτηριοσκλήρωση, το έμφραγμα και το ήπιο εγκεφαλικό επεισόδιο. Το ελάχιστο των τριγλυκεριδίων ως εκατοστιαίο ποσοστό απαντά στην HDL, η οποία μεταφέρει και τοποθετεί την χοληστερόλη στο ήπαρ για την αποικοδόμηση της και έτσι αποτρέπει τη συσσώρευση

χοληστερόλης στον οργανισμό. Η μέγιστη ποσοστιαία αναλογία φωσφολιπιδίων και χοληστερόλης απαντά στην LDL, η οποία είναι υπεύθυνη για την διακίνηση του 60-70% του συνόλου της χοληστερόλης. Όταν η ποσότητα της χοληστερόλης έχει φτάσει σε υψηλά επίπεδα, σταματά η παραγωγή LDL και έτσι τα επίπεδα μη δεσμευμένης χοληστερόλης στο αίμα αυξάνονται επικίνδυνα. Σε *in vivo* μελέτες έχει βρεθεί ότι οι πολυφαινόλες που προέρχονται από το παρθένο ελαιόλαδο εμποδίζουν αποτελεσματικά την οξείδωση της LDL και αυξάνουν την παραγωγή του αγγειοδιασταλτικού παράγοντα NO (μονοξείδιο του αζώτου), το οποίο επίσης εμποδίζει την οξείδωση της LDL. Τα πειραματικά αυτά δεδομένα στηρίζουν την υπόθεση ότι τα αντιοξειδωτικά τα οποία προέρχονται από το λάδι ωφελούν το καρδιαγγειακό σύστημα του ανθρώπου (Visioli F, Galli C, 1998). Επίσης έχει βρεθεί ότι τροφές πλούσιες σε πολυφαινόλες, όπως το παρθένο ελαιόλαδο, μειώνουν την επιδεκτικότητα οξείδωσης της LDL (Wiseman SA et al, 1996), διαδικασία η οποία σχετίζεται με την αρτηριοσκλήρωση (Aviram M, 1996). Μέσω αυτής της αντιοξειδωτικής τους δράσης οι πολυφαινόλες ασκούν προστατευτική δράση έναντι των καρδιαγγειακών παθήσεων. Επιπλέον τα φλαβονοειδή έχουν αντιθρομβωτικό και αγγειοπροστατευτικό ρόλο και υπολιπιδαιμική δράση (Χίου Α, 2003).

Οι πολυφαινόλες παρεμβαίνουν και διακόπτουν/αναστέλλουν την οξείδωση μέσω ελευθέρων ριζών με τους εξής τρόπους:

- Αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες που παράγονται στον οργανισμό και τις εξουδετερώνουν. Μέσω αυτής της πορείας καθίστανται οι ίδιες ελεύθερες ρίζες, οι οποίες όμως είναι πολύ σταθερές ακριβώς λόγω της πολυφαινολικής δομής, η οποία μέσω συντονισμού σταθεροποιείται σημαντικά.
- Δρουν ως δεσμευτές μεταλλικών ιόντων, τα οποία πολύ συχνά είναι οι απαρχητές μίας οξείδωσης. Αυτό γίνεται μέσω της δημιουργίας ενός χηλικού συμπλόκου με το μεταλλικό ιόν.
- Αναγεννούν ένα σημαντικό αντιοξειδωτικό του οργανισμού, τη βιταμίνη E, (Χίου Α. 2003).

Περίπου το 35% των καρκίνων στο δυτικό κόσμο και πιθανώς ένα ψηλότερο ποσοστό στην Αφρική και χαμηλότερο στην Ασία, σχετίζεται με το κάπνισμα. Συγκεκριμένα στην Ινδία, το μάσημα καπνού και η εισπνοή σκόνης ταμπάκο έχουν

ενοχοποιηθεί για την εμφάνιση καρκίνου στη στοματική κοιλότητα και στον οισοφάγο, ιδιαίτερα σε πληθυσμούς με μειωμένη πρόσληψη φρούτων και λαχανικών. Μία καλή αιτιολογία στο γιατί κάποιοι καπνιστές φαίνεται να έχουν χαμηλότερο ρίσκο στο να εμφανίσουν καρκίνο που σχετίζεται με το κάπνισμα είναι η κατανάλωση τροφών και ποτών που ασκούν προστατευτική δράση. Για παράδειγμα, στις περιοχές της Μεσογείου, και ιδιαίτερα στη νότια Ιταλία και στην Ελλάδα, οι ασθένειες που σχετίζονται με το κάπνισμα έχουν μικρότερο αριθμό περιστατικών, λόγω του ότι οι διατροφικές παραδόσεις υποδεικνύουν ικανοποιητική πρόσληψη λαχανικών και φρούτων. Σε μελέτες που έγιναν στην Ιαπωνία, φάνηκε ότι η χαμηλότερη πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα μπορεί εν μέρει να αποδοθεί στην αυξημένη κατανάλωση στιγμιαίου πράσινου τσαγιού, με αποδεδειγμένη παρεμποδιστική δράση στην εμφάνιση καρκίνου του πνεύμονα. Πολλά είναι γνωστά για το μηχανισμό με τον οποίο κάποια λαχανικά, καθώς και το τσάι, ασκούν παρεμποδιστική δράση στην εμφάνιση και ανάπτυξη του καρκίνου. Η επικρατέστερη θεωρία υποστηρίζει ότι αυτά τα τρόφιμα περιέχουν ενεργά συστατικά, τα οποία παρουσιάζουν προστατευτική δράση έναντι της οξειδωσης του DNA. Στα λαχανικά το κυριότερο συστατικό που παρέχει προστασία κατά του καρκίνου έχει πολυφαινολική δομή (π.χ κερκετίνη). Το τσάι περιέχει συγκεκριμένες πολυφαινόλες, όπως γαλλικό εστέρα επιγαλλοκατεχίνης (EGCG), θεαφλαβίνες και θεαρουμπιγίνες, (Weisburger J.H, 1998). Παρά τις μικρές διαφορές στη χημική δομή, όλα αυτά τα φαινολικά ανάλογα είναι εξαιρετικά αντιοξειδωτικά (Weisburger J.H, 1998).

Οι κατεχίνες του τσαγιού έχουν δείξει σημαντική αντικαρκινική δράση. Λόγω της κατεχολικής δομής τους δεσμεύουν τα μεταλλικά ιόντα και έτσι μειώνονται τα επίπεδα των ελεύθερων κυτταρικών Fe^{+3} , τα οποία απαιτούνται για τη δημιουργία ελευθέρων ριζών. Επίσης, είναι δεσμευτές των υπεροξειδικών και υδροξυλικών ριζών οι οποίες μπορούν να προκαλέσουν βλάβες στο DNA και σε άλλα μόρια και παγιδεύουν τις υπεροξειδικές ρίζες, με αποτέλεσμα να εμποδίζουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών (Χίου Α, 2003).

Καρκίνοι που σχετίζονται με δυσλειτουργία του ενδοκρινικού συστήματος, όπως ο καρκίνος του μαστού, του προστάτη, του παγκρέατος και του παχέος εντέρου (στο κόλον συγκεκριμένα), προκαλούνται από μία ομάδα χημικών καρκινογενών ενώσεων, τις ετεροκυκλικές αρωματικές αμίνες (HAAs). Αυτές οι ενώσεις σχηματίζονται κατά τη διάρκεια του μαγειρέματος του κρέατος και παρουσιάζουν

ισχυρή μεταλλαξιογόνο δράση. Τα επιδημιολογικά δεδομένα δείχνουν ότι τα άτομα που καταναλώνουν συχνά βαρυψημένα κρέατα έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του στήθους και του παχέος εντέρου. Πειραματικές μελέτες που έγιναν σε ζώα δείχνουν ότι το πάγκρεας και ο προστάτης μπορεί να αποτελούν επιπρόσθετα όργανα-στόχους. Ο τρόπος δράσης των HAAs δείχνει ότι απαιτούν μεταβολική δραστηριοποίηση μέσω του κυτοχρώματος P450 και ιδιαίτερα της οικογένειας των 1A2 ενζύμων. Φαίνεται ωστόσο ότι τα επίπεδα αυτών των ενζύμων, καθώς και της τρανσφεράσης του γλυκουρονιδίου, μεταβάλλονται αισθητά μέσω της πρόσληψης λαχανικών, ντομάτας και πράσινου/μαύρου τσαγιού, μέσω μεγαλύτερης αποτοξίνωσης από τις HAAs (Weisburger J.H, 1998).

Κατά τη διάρκεια του σχηματισμού και της ανάπτυξης πολλών μορφών καρκίνου γίνονται διάφορες οξειδωτικές αντιδράσεις που έχουν καθοριστικό ρόλο στη καρκινογένεση. Αυτές οι αντιδράσεις συμπεριλαμβάνουν τη δημιουργία ενεργών ριζών οξυγόνου, όπως υδροξυλίου και υπεροξειδίου του υδρογόνου, οι οποίες ελέγχουν το διπλασιασμό των κυττάρων και μπορεί να επηρεάζουν μηχανισμούς απόπτωσης αυτών. Τα αντιοξειδωτικά, όπως οι πολυφαινόλες, ανταγωνίζονται δυναμικά τους καθοριστικούς παράγοντες της καρκινογένεσης. Κατ'ακρίβεια, τα νέα δεδομένα δείχνουν ότι αυτή η δράση των αντιοξειδωτικών μπορεί να μειώσει τα κακοήγη, αλλά και τα καλοήγη καρκινικά κύτταρα που έχουν ήδη δημιουργηθεί (Herose et al, 1997, Katiyar et al. 1997, Lin et al. 1996, Lu et al.1997, Zhao et al.1997 / βλ. Μεταπτυχιακή Διατριβή Γρηγοράκης Δ., 2004). Επιπλέον, η μεταστατική διάδοση των καρκινικών κυττάρων μπορεί να επηρεαστεί από τα αντιοξειδωτικά, αλλά γι'αυτή την υπόθεση απαιτείται περαιτέρω έρευνα (Chang et al., 1998 / βλ. Μεταπτυχιακή Διατριβή Γρηγοράκης Δ., 2004).

Εκτός από τα αντιοξειδωτικά τους αποτελέσματα, οι φαινολικές ενώσεις ασκούν σημαντική αντιφλεγμονώδη δράση. Η αντιφλεγμονώδης δράση των φαινολών και ιδιαίτερα της υδροξυτυροσόλης και της ολεωρωπαΐνης αναφέρεται σε πειράματα *in vitro* των Visioli et al. (1998). Οι πρώτες ενδείξεις έδειξαν ότι η υδροξυτυροσόλη σε μικρομοριακές συγκεντρώσεις μπορεί να δράσει σημαντικά κατά των μεταβολικών προϊόντων ενεργού οξυγόνου που προέρχονται από οξειδωτική βλάβη. Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι το ελαιόλαδο, εξαιτίας της υδροξυτυροσόλης, θα μπορούσε να έχει προστατευτική επίδραση κατά εκείνων των εντερικών παθολογικών καταστάσεων, που η αιτιολογία τους σχετίζεται με βλάβες των διάμεσων

μεταβολικών προϊόντων του ενεργού οξυγόνου και ιδιαίτερα εκείνων των ασθενειών που χαρακτηρίζονται από μεταβολές της διαπερατότητας του επιθηλίου, όπως είναι οι φλεγμονώδεις γαστρεντερικές ασθένειες (Manna et al., 1996 / βλ. Μεταπτυχιακή Διατριβή Γρηγοράκης Δ., 2004).

Επιπλέον, φαίνεται ότι οι πολυφαινόλες έχουν και αντιαλλεργικές ιδιότητες, μέσω της παρεμπόδισης της συσσώρευσης αιμοπεταλίων. Αναφέρεται ότι η υδροξυτυροσόλη εμποδίζει το σχηματισμό του λευκοτριενίου B4 και τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων, ανάλογα με τη δόση που χορηγείται (Petroni A et al. 1997). Εκτός από την υδροξυτυροσόλη και η τυροσόλη, η ολεωρωπαΐνη και το καφεϊκό οξύ εμποδίζουν το σχηματισμό του λευκοτριενίου B4, μέσω της μείωσης της δραστηριότητας του καταλυτικού ενζύμου 5-λιποξυγενάση (de la Puerta R et al. 1999). Πιθανώς μέσω της ανασταλτικής επίδρασης της 3,4-διϋδροξυφαινυλαιθανόλης (DHPE) και σε μικρότερη έκταση της ολεωρωπαΐνης, της λουτεολίνης, της απιγενίνης και της κερκετίνης στην 5-λιποξυγενάση, εμποδίζεται η συσσώρευση των αιμοπεταλίων, ο σχηματισμός της θρομβοξανής B2 (TXB2) από διηγερμένα αιμοπετάλια και η συσσώρευση της TXB2 και του 12-υδροξυ-εικοσατετρανοϊκού οξέος στο πλάσμα (Petroni A et al. 1995).

3.5.2 Βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών

Οι βιολογική δράση των πολυφαινολών εξαρτάται από τη βιοδιαθεσιμότητα τους. Το κατά πόσον θα απορροφηθεί και θα μεταβολιστεί μία πολυφαινόλη από τον οργανισμό εξαρτάται από παράγοντες όπως η χημική δομή (επηρεάζεται από το βαθμό γλυκοζυλίωσης / ακυλίωσης), η βασική δομή (βενζολικός ή φλαβονοειδικός πυρήνας), η σύζευξη με άλλες πολυφαινόλες, σάκχαρα και οξέα, το μοριακό βάρος, ο βαθμός πολυμερισμού και η διαλυτότητα των πολυφαινολών (Χίου Α, 2003).

Η χημική δομή των πολυφαινολών προσδιορίζει το βαθμό της εντερικής απορρόφησης και τη φύση των μεταβολιτών που ανακυκλώνονται στο πλάσμα. Ο βαθμός απορρόφησης είναι χαμηλός για την κερκετίνη και τη ρουτίνη και υψηλός για την κατεχίνη στο πράσινο τσάι, για τις ισοφλαβόνες της σόγιας, για τις φλαβόνες των εσπεριοειδών και για τις ανθοκυανίνες του κόκκινου κρασιού. Για τα περισσότερα φλαβονοειδή που απορροφώνται στο λεπτό έντερο, η συγκέντρωσή τους στο πλάσμα μειώνεται απότομα (χρόνος ημίσειας ζωής 1-2 ώρες). Ο χρόνος ημίσειας ζωής της κερκετίνης είναι πολύ μεγαλύτερος (24 ώρες), πιθανώς λόγω της συγγένειας με την

αλβουμίνη του πλάσματος (Dangles O et al. 2001, Manach C et al. 1995, Hollman PCH et al. 1997). Οι φλαβονόλες, οι ισοφλαβόνες, οι φλαβόνες και οι ανθοκυανίνες συχνά είναι γλυκοζυλιωμένες. Το προσδεδεμένο σάκχαρο είναι συνήθως γλυκόζη ή ραμνόζη, αλλά μπορεί να είναι και γαλακτόζη, αραβινόζη, ξυλόζη, γλυκουρονικό οξύ ή άλλα σάκχαρα. Ο αριθμός των σακχάρων είναι συνήθως ένα, δύο ή τρία και υπάρχουν διάφορες θέσεις πιθανής υποκατάστασης στις πολυφαινόλες. Η γλυκοζυλίωση επηρεάζει τις χημικές, φυσικές και βιολογικές ιδιότητες των πολυφαινολών. Για τα γλυκοζυλιωμένα φλαβονοειδή, η απομάκρυνση ενός σακχάρου από ένζυμα (γλυκοζιδάσες) είναι συνήθως απαραίτητη για να γίνει η παθητική μεταφορά διαμέσου των ψηκτροειδών παρυφών του λεπτού εντέρου (Tapiero H et al. 2002).

Φλαβονοειδή, όπως η επικατεχίνη είναι συχνά ακυλιωμένα, κυρίως με γαλλικό οξύ. Βέβαια, η ακυλίωση δεν επηρεάζει τη βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών σε τόσο μεγάλο βαθμό όπως η γλυκοζυλίωση. Τα φλαβονοειδή φαίνεται ότι διαπερνούν τις βιολογικές μεμβράνες και απορροφώνται χωρίς να προηγηθεί υδρόλυση ή διάσπαση του μορίου τους (Nakagawa K, Okuda S, Miyazawa T. 1997). Υδροξυκιναμμοϊικά οξέα, όπως το καφεϊκό οξύ, είναι κοινώς εστεροποιημένα σε σάκχαρα, οργανικά οξέα και λιπίδια. Το χλωρογενικό οξύ είναι εστέρας του καφεϊκού οξέος ενωμένος με κινικό οξύ και αυτή η ένωση βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα στον καφέ (Clifford MN, 1999 / βλ. Μεταπτυχιακή Διατριβή Γρηγοράκης Δ., 2004). Αφού δεν υπάρχουν καθόλου εστεράσες στους ιστούς του ανθρώπινου οργανισμού ικανές να απελευθερώσουν καφεϊκό οξύ από το χλωρογενικό (Plumb GW et al. 1999), η μόνη οδός μεταβολισμού του χλωρογενικού οξέος είναι η μικροχλωρίδα του εντέρου (Kroon PA et al. 1996).

Οι πολυφαινόλες που απορροφώνται, μεταβολίζονται στο συκώτι και εκκρίνονται στη χολή και φτάνουν στο κόλον με διαφορετική χημική μορφή, όπως γλυκορουϊκά, ενώ οι πολυφαινόλες που δεν απορροφώνται στο στομάχι ή στο λεπτό έντερο και μεταφέρονται στο κόλον, δεν αλλάζουν χημική δομή. Το κόλον, έχει σημαντική μικροχλωρίδα, η οποία έχει πιθανές καταλυτικές και υδρολυτικές ιδιότητες για διάσπαση των πολυφαινολών σε απλούστερες ενώσεις, όπως φαινολικά οξέα (Tapiero H et al. 2002).

3.6 Αντιοξειδωτικό περιεχόμενο ξηρών καρπών

3.6.1 Βιταμίνη E, Καροτενοειδή και Σκουαλένιο

Ο πίνακας 3.1 δείχνει το περιεχόμενο δέκα εδώδιμων ξηρών καρπών σε τοκοφερόλες και καροτενοειδή. Τα ισοδύναμα α-τοκοφερόλης (α-TEs) κυμαίνονται από μη ανιχνεύσιμα (macadamias) ως 33.1 mg/100 g εκχυλιζόμενου ελαίου (φουντούκια). Ο μέσος όρος α-TEs σε φθίνουσα σειρά είναι φουντούκια > αμύγαλα > φιστίκια > φιστίκια Αιγίνης > κουκουνάρι > καρύδια > Brazil nuts > καρύδια τύπου πεκάν > cashews > macadamias. Το περιεχόμενο σε α-τοκοφερόλη είναι υψηλότερο στα φουντούκια (MO = 31.4 mg/100 g ελαίου) και στα αμύγδαλα (MO = 24.2 mg/100 g ελαίου), (M Kornsteiner et al, 2006). Οι Maguire et al (2004) αναφέρουν ότι η α-τοκοφερόλη είναι η κυρίαρχος τοκοφερόλη στα αμύγδαλα, στα φιστίκια, στα φουντούκια και στα macadamias. Εκτός από την α-τοκοφερόλη, και οι β-, γ-, δ-τοκοφερόλες θεωρούνται βιολογικής σημασίας (Wagner, Kamal-Eldin, & Elmadfa, 2004). Τόσο η β-, όσο και η γ-τοκοφερόλη, είναι επικρατούσα τοκοφερόλη σε επτά είδη ξηρών καρπών και τα μέσα ποσοστά σε φθίνουσα σειρά είναι φιστίκια Αιγίνης > καρύδια > πεκάν > Brazil nuts > κουκουνάρια $\geq$ φιστίκια > cashews. Ίχνη δ-τοκοφερόλης (<4 mg/100 g εκχυλιζόμενου ελαίου) βρέθηκαν στα: cashews, φουντούκια, φιστίκια, πεκάν, κουκουνάρια, φιστίκια Αιγίνης και καρύδια. Δε βρέθηκαν καθόλου τοκοφερόλες στα macadamias, αλλά οι συγκεκριμένοι ξηροί καρποί έχουν επίπεδα τοκοτριενολών που κυμαίνονται από 12.5 ως 48.4 $\mu\text{g/g}$ λίπους (Kaijser et al. 2000).

Πίνακας 3.1: Περιεχόμενο εκχυλιζόμενου από ξηρούς καρπούς ελαίου σε τοκοφερόλες και καροτενοειδή

	α -Tocopherol		β - and γ -Tocopherol		δ -Tocopherol		α -TE		β -Carotene		Lutein	
	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range
Almonds ^{+,a}	24.2	nd to 34.9	3.1	0.5–10.4	nd	nd	25.0	2.6–35.2	nd	nd	nd	nd
Brazil nuts ^b	1.0	nd to 2.2	13.2	8.2–17.9	nd	nd	4.3	2.1–6.7	nd	nd	nd	nd
Cashews ^b	nd	nd	5.1	4.8–5.3	0.3	0.3–0.4	1.3	1.2–1.3	nd	nd	nd	nd
Hazelnuts ^b	31.4	15.7–42.1	6.9	4.3–9.4	0.1	nd to 0.3	33.1	16.8–44.4	nd	nd	nd	nd
Macadamias ^b	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Peanuts ^{+,b}	6.1	1.7–10.4	8.1	5.4–10.0	1.8	1.4–2.4	8.1	3.1–12.9	nd	nd	nd	nd
Pecans ^b	nd	nd	14.8	2.1–23.8	0.2	nd to 0.7	3.7	0.5–6.0	nd	nd	nd	nd
Pines ^b	4.1	2.2–6.0	8.1	6.4–9.8	0.3	nd to 0.7	6.1	3.8–8.5	nd	nd	nd	nd
Pistachios ^a	nd	nd	29.3	10.0–43.4	0.5	nd to 2.3	7.3	2.5–10.8	0.4	nd to 1.0	4.4	1.5–9.6
Walnuts ^b	nd	nd	21.9	12.4–32.8	3.8	2.3–5.4	5.5	3.1–8.2	nd	nd	nd	nd

Data are expressed as mg/100 g extracted oil.

nd, not detectable. Vitamin E activity in food is represented as α -tocopherol equivalents (α -TE). α -TEs were defined as α -tocopherol, mg $\times$ 1.0; β - and γ -tocopherol, mg $\times$ 0.25 (lower conversion factor); and δ -tocopherol, mg $\times$ 0.01.

^a Data are expressed as means and range ($n = 6$).

^b Data are expressed as means and range ($n = 3$).

– Without skin.

+ With skin.

(Από: M Kornsteiner et al, 2006)

Μία από τις πιο συζητημένες θεωρίες για την καρδιοπροστατευτική επίδραση φαίνεται να αφορά την προκαλούμενη από τις τοκοφερόλες αναστολή της οξειδωσης της LDL, που φαίνεται να έχει σημαντικό ρόλο στην αθηρογένεση. Από την άλλη πλευρά, φαίνεται ότι υψηλή δόση βιταμίνης E (>400 IU/d) που προσλαμβάνεται μέσω συμπληρωμάτων μπορεί να αυξήσει την πολυπαραγοντική θνησιμότητα (Miller et al, 2005). Παρ' όλα αυτά, χαμηλές ποσότητες βιταμίνης E, που μπορούν να προσληφθούν από τη μέτρια κατανάλωση ξηρών καρπών φαίνεται ότι είναι ευεργετικές για την προστασία από καρδιαγγειακά νοσήματα (Bramley et al, 2000). Επιπλέον, η α -τοκοφερόλη, θεωρείται η πιο δραστική μορφή τοκοφερόλης στον άνθρωπο. Εντούτοις, η γ -τοκοφερόλη είναι η πιο κοινή μορφή βιταμίνης E στους φυτικούς σπόρους, ειδικά στους ξηρούς καρπούς (Wagner et al, 2004). Έτσι, οι ξηροί καρποί είναι καλές διαιτητικές πηγές α -, β - και γ -τοκοφερόλης και μπορούν να συμβάλουν σε μία ισορροπημένη πρόσληψη βιταμίνης E. Οι συστάσεις για κατανάλωση ξηρών καρπών είναι 30 g/ημέρα (M Kornsteiner et al, 2006).

Τα δείγματα εξετάστηκαν επίσης ως προς το περιεχόμενό τους στα καροτενοειδή α - και β -καροτένιο, ζεαξανθίνη, λουτεΐνη, κρυπτοξανθίνη και λυκοπένιο. Μόνο ίχνη β -καροτένιου και λουτεΐνης (<5 mg/100 g ελαίου) βρέθηκαν

στα φιστίκια Αιγίνης (Πίνακας 3.1). Πάντως υπάρχει μία στασιμότητα πληροφοριών στη διεθνή βιβλιογραφία όσον αφορά στο περιεχόμενο των ξηρών καρπών σε καροτενοειδή.

Στη μελέτη των Maguire et al (2004) εξετάσθηκαν πέντε ξηροί καρποί ως προς το περιεχόμενό τους σε τοκοφερόλες και σκουαλένιο. Αυτοί οι ξηροί καρποί φαίνονται στον πίνακα 3.2.

Πίνακας 3.2: Σύσταση των ελαίων των ξηρών καρπών σε σκουαλένιο και τοκοφερόλες (μg/100 g ελαίου)

<i>Oil sample</i>	<i>Squalene</i>	<i>α-Tocopherol</i>	<i>γ-Tocopherol</i>
Hazelnut	186.4±11.6	310.1±31.1	61.2±29.8
Macadamia	185.0±27.2	122.3±24.5	Trace
Peanut	98.3±13.4	87.9±6.7	60.3±6.7
Walnut	9.4±1.8	20.6±8.2	300.5±31.0
Almond	95.0±8.5	439.5±4.8	12.5±2.1
Results are the mean value±standard error of the mean from three independent experiments.			

Και σ' αυτή τη μελέτη η α-τοκοφερόλη είναι το κύριο ισομερές τοκοφερόλης στους ξηρούς καρπούς που αναλύθηκαν, με εξαίρεση τα καρύδια. Το περιεχόμενο σε α-τοκοφερόλη κυμαίνεται από 20.6 μg/g ελαίου στα καρύδια έως 439.5 μg/g ελαίου στα αμύγδαλα. Αυτά τα επίπεδα τοκοφερολών αναφέρονται και σε άλλες μελέτες (Savage et al, 1997, 1999, Parcerisa et al, 1998). Το περιεχόμενο των ξηρών καρπών σε γ-τοκοφερόλη κυμάνθηκε από ίχνη στα macadamias μέχρι 300.5 μg/g ελαίου στα καρύδια. Τα καρύδια είναι ο μόνος ξηρός καρπός που περιέχει γ-τοκοφερόλη σε υψηλότερο ποσοστό από την α-τοκοφερόλη (Maguire et al, 2004, Savage et al, 1999, Lavendrine et al, 1997). Κάποιες αναφορές υποστηρίζουν ότι η γ-τοκοφερόλη έχει υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από την α-τοκοφερόλη (Wolf, 1997, Saldeen et al, 1999).

Γενικά δεν υπάρχουν πολλές πληροφορίες στη βιβλιογραφία όσον αφορά στο περιεχόμενο των ξηρών καρπών σε σκουαλένιο. Το σκουαλένιο είναι πρόδρομη ένωση της χοληστερόλης και άλλων στεροειδών. Οι Owen et al (2000) ανέφεραν μέση σύσταση σκουαλενίου 2900 μg/g στο ελαιόλαδο και 240 μg/g στα σπορέλαια.

Το σογιέλαιο αναφέρεται ότι περιέχει περίπου 220 $\mu\text{g/g}$ ελαίου σκουαλένιο (Mendes et al, 2002). Στη μελέτη των Maguire et al (2004) τα επίπεδα του σκουαλενίου εξαρτώνται από το είδος του ξηρού καρπού και κυμαίνονται από 9.4 $\mu\text{g/g}$ ελαίου στα καρύδια και 186.4 $\mu\text{g/g}$ ελαίου στα φουντούκια. Τα επίπεδα σκουαλενίου στα φουντούκια είναι συγκρίσιμα με τα επίπεδα του στο σογιέλαιο. Η μέση πρόσληψη σκουαλενίου στις Ηνωμένες Πολιτείες είναι 30 mg/ημέρα . Εντούτοις, όταν η κατανάλωση ελαιολάδου είναι υψηλή, η πρόσληψη σκουαλενίου μπορεί να φτάσει τα 200-400 mg/ημέρα , όπως ακριβώς συμβαίνει στις Μεσογειακές χώρες.

Υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για το σκουαλένιο ως πιθανού χημειοπροστατευτικού παράγοντα (Smith, 2000). Το σκουαλένιο κατανέμεται σε όλο το ανθρώπινο σώμα, αλλά έχει μέγιστη συγκέντρωση στο δέρμα, όπου αποτελεί ένα από τα κυριότερα συστατικά των λιπιδίων της επιφάνειας του δέρματος. Το σκουαλένιο προστατεύει το ανθρώπινο δέρμα από την υπεροξειδωση των λιπιδίων που προκαλείται από διάφορες πηγές ιονίζουσας ακτινοβολίας, όπως η υπεριώδης ακτινοβολία. Η κυριότερη θεραπευτική χρήση του σκουαλενίου είναι ως συμπληρωματική αγωγή σε ένα μεγάλο αριθμό καρκίνων και ως αντιλιπιδαιμική αγωγή. Ωστόσο, δεν έχουν γίνει ακόμα πειραματικές μελέτες σε ανθρώπους για να ελεγχθεί η αντικαρκινογόνος δράση του σκουαλενίου που φαίνεται να υπάρχει από επιδημιολογικές μελέτες και μελέτες σε ζώα. Μελέτη σε ζώα έδειξε ότι το σκουαλένιο ενίσχυσε τη δράση μιας αντινεοπλασματικής ουσίας και αύξησε το χρόνο ζωής ή τα ποσοστά επιβίωσης στη λεμφοκυτταρική λευχαιμία. Επίσης, έχει αποδειχθεί ότι το σκουαλένιο ενισχύει την κυτταροτοξικότητα ή την ικανότητα καταστροφής καρκινικών κυττάρων διαφόρων αντικαρκινικών ουσιών. Μία άλλη *in vitro* μελέτη σε ζώα έδειξε ότι η φαγοκυτταρική δραστηριότητα των μακροφάγων ή η καταστροφή των καρκινικών κυττάρων από κύτταρα του ανοσοποιητικού ενισχύθηκε από το σκουαλένιο. Τέλος, μια μελέτη σε ζώα έδειξε ότι και το ελαιολάδο και το σκουαλένιο παρείχαν προστασία κατά του χημικώς προκληθέντος καρκίνου των πνευμόνων. Έχει προταθεί ότι η προστατευτική δράση του σκουαλενίου κατά του καρκίνου γίνεται μέσω μιας αλλαγής στα ογκογονίδια, το γενετικό υλικό που προδιαθέτει για καρκίνο (www.nutrition.med.uoc.gr/drastiriotites/oil_gr/rolos.htm).

Το φρέσκο φιστίκι Αιγίνης περιέχει περίπου 60% λίπος. Τα μονοακόρεστα και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα αποτελούν το 85% των συνολικών λιπαρών οξέων. Οι Gentile et al. (2007) προσδιόρισαν τα επίπεδα τοκοφερολών και βιταμίνης C στο

φιστίκι Αιγίνης (Πίνακας 3.3). Το συνολικό ποσοστό βιταμίνης E είναι παρόμοιο με αυτό που αναφέρεται για το φουντούκι και περίπου το μισό αυτού που αναφέρεται για το αμύγδαλο και το καρύδι (Delgado-Zamarreno MM et al., 2004). Όπως και στα καρύδια, το κύριο ισομερές βιταμίνης E στα φιστίκια Αιγίνης είναι η γ-τοκοφερόλη. Οντως, διατροφικές μελέτες έδειξαν ότι η γ-τοκοφερόλη απορροφάται τόσο αποτελεσματικά όσο και η α-τοκοφερόλη (Jiang Q et al., 2001) και ότι μπορεί να δρά ως αποτελεσματικό ενδογενές αντιοξειδωτικό (Wagner KH et al., 2004), προωθώντας την κυτταρική πρόσληψη της α-τοκοφερόλης (Reiter RJ et al., 2005). Από την άλλη πλευρά, τα επίπεδα βιταμίνης C που βρέθηκαν στο φιστίκι Αιγίνης είναι μέτρια. Επίσης, οι μελετητές αναφέρουν ότι τα κύρια διαιτητικά καροτενοειδή, όπως το α- και β- καροτένιο και το *trans*-λυκοπένιο, βρέθηκαν σε πολύ χαμηλά επίπεδα σε σχέση με τα επίπεδα των τοκοφερολών στο φιστίκι Αιγίνης (Gentile et al, 2007).

Πίνακας 3.3: Σύσταση σε αντιοξειδωτικές βιταμίνες ανά 100 g εδάδιμου ξηρού καρπού *P. Vera L.*

	Amount ^a (mg)
Vitamin E	
<i>α-tocopherol</i>	0.51 ± 0.04
<i>γ-tocopherol</i>	10.54 ± 1.03
Vitamin C	3.48 ± 0.23

^a Each value is the mean ± SD of four determinations performed in duplicate

3.6.2 Πολυφαινόλες

Στον πίνακα 3.4 φαίνεται το περιεχόμενο κάποιων ξηρών καρπών σε πολυφαινόλες. Η μέση τιμή των ολικών φαινολικών ενώσεων κυμάνθηκε από 32 mg GAE (gallic acid equivalents, ισοδύναμα γαλλικού οξέος)/100 g νωπού δείγματος (fw) στα κουκουνάρια έως 1625 mg GAE/100 g fw στα καρύδια. Η περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες στους ξηρούς καρπούς κατά αύξουσα σειρά έχει ως εξής: κουκουνάρια < macadamias < αμύγδαλα χωρίς φλούδα < Brazil nuts < cashews < αμύγδαλα με φλούδα < φουντούκια < φιστίκια με φλούδα < φιστίκια Αιγίνης < πεκάνς < καρύδια (M. Kornsteiner et al, 2006). Αυτά τα αποτελέσματα είναι σε συμφωνία με άλλα δημοσιευμένα δεδομένα (Anderson et al, 2001, Wu et al, 2004). Στη μελέτη των Wu et al (2004) η μέση σύσταση σε πολυφαινόλες κυμαίνεται από 68 mg GAE/100 g στα κουκουνάρια μέχρι 2016 mg GAE/100 g στα πεκάνς. Επίσης, βρήκαν υψηλή συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα στα πεκάνς (179 $\mu\text{mol TAC/g}$), στα φιστίκια Αιγίνης (80 $\mu\text{mol TAC/g}$) και στα καρύδια (135 $\mu\text{mol TAC/g}$). Τα κουκουνάρια έδειξαν τα χαμηλότερα επίπεδα συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (7 $\mu\text{mol TAC/g}$).

Πίνακας 3.4: Ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο στους ξηρούς καρπούς εκφρασμένο σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE)

	mg of GAE/100 g fresh weight	
	Mean	Range
Almonds ^{-a}	47	45–49
Almonds ^{+a}	239	130–456
Brazil nuts ^a	112	100–133
Cashews ^a	137	131–142
Hazelnuts ^a	291	101–433
Macadamias ^a	46	45–46
Peanuts ^{+a}	420	326–552
Pecans ^a	1284	1022–1444
Pines ^a	32	30–34
Pistachios ^b	867	492–1442
Walnuts ^a	1625	1020–2052

^a Data are expressed as means and range ($n = 3$).

^b Data are expressed as means range ($n = 6$).

– Without skin.

+ With skin.

Όπως προκύπτει από τον πίνακα 3.4, τα αμύγδαλα με φλούδα έχουν υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο απ' ό,τι τα αμύγδαλα χωρίς φλούδα (239 vs. 47). Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν προηγούμενες παρατηρήσεις ότι τα αμύγδαλα με φλούδα περιέχουν περισσότερες πολυφαινόλες. Όσον αφορά στις επιμέρους πολυφαινολικές ενώσεις, έχουν αναγνωριστεί ραμνετίνη, κερκετίνη, αγλυκόνες της

καμπεφρόλης, χλωρογενικό οξύ, κρυπτοχλωρογενικό οξύ, νεοχλωρογενικό οξύ, 3-πρενυλ-4-O-β-γλυκοπυρανοζυλ-οξυ-4-υδροξυλβενζοϊκό οξύ, κατεχίνη, πρωτοκατεχικό οξύ, βετουλινικό οξύ, ολεανολικό οξύ και ουρσολικό οξύ (Pinelo, Rubilar, Sineiro & Nunez, 2004, Sang et al, 2002, Sang, Lapsley, Rosen & Ho, 2002, Takeoka & Dao, 2003, Takeoka et al, 2000). Οι Sang et al. (2002) προσδιόρισαν εννέα φαινολικές ενώσεις στη φλούδα του αμυγδάλου (*Punus amygdalus Batsch*). Συγκεκριμένα απομόνωσαν: 3'-O-μεθυλο-3-O-β-D-γλυκοπυρανόζυλο κερκετίνη, 3'-O-μεθυλο-3-O-β-D-γαλακτοπυρανόζυλο κερκετίνη, 3'-O-μεθυλο-3-O-α-L-ραμνοπυρανοζυλ-(1-6)-β-D-γλυκοπυρανόζυλο κερκετίνη, 3-O-α-L-ραμνοπυρανοζυλ-(1-6)-β-D-γλυκοπυρανόζυλο καμπεφρόλη, 7-O-β-D-γλυκοπυρανόζυλο ναριγγενίνη, κατεχίνη, πρωτοκατεχικό οξύ, βανιλλικό οξύ, π-υδροξυβενζοϊκό οξύ.

Οι M. Kornsteiner et al (2006) ανέλυσαν το αράπικο φιστίκι με τη φλούδα του, η οποία είναι πλούσια σε φαινολικές και άλλες ενώσεις που δρουν προστατευτικά για την ανθρώπινη υγεία. Οι Yu, Ahmedna & Goktepe (2005) ανέφεραν ότι τρεις τάξεις φαινολικών ενώσεων είναι παρούσες στη φλούδα του φιστικιού: α) Φαινολικά οξέα, συμπεριλαμβανομένων του χλωρογενικού, καφεϊκού και κουμαρικού οξέος. β) Φλαβονοειδή, συμπεριλαμβανομένων της επιγαλλοκατεχίνης, της επικατεχίνης και του γαλλικού εστέρα της κατεχίνης και της επικατεχίνης. γ) στυλβένια (ρεσβερατρόλη). Στα φιστίκια έχει επίσης ταυτοποιηθεί π-κουμαρικό οξύ (Talcott et al, 2005).

Στον πίνακα 3.5 φαίνεται το περιεχόμενο του φιστικιού Αιγίνης σε πολυφαινόλες (Gentile et al, 2007). Τα φλαβονοειδή προανθοκυανιδίνες, γνωστά και ως συμπυκνωμένες ταννίνες, ανευρίσκονται σε ένα ευρύ φάσμα τροφίμων, όπως σοκολάτα, μήλο, κόκκινο κρασί και ξηροί καρποί. Πάντως, και σε άλλες μελέτες (Venkatachalam M, Sathe SK, 2006) έχουν αναφερθεί σημαντικά ποσά προανθοκυανιδινών σε όλους τους ξηρούς καρπούς (Πίνακας 3.6). Οι ισοφλαβόνες και η *trans*-ρεσβερατρόλη είναι σημαντικές βιοδραστικές πολυφαινόλες, γνωστές ως φυτοοιστρογόνα λόγω του ότι είναι ικανές να αντιδρούν με οιστρογονικούς υποδοχείς. Οι ισοφλαβόνες συναντώνται κυρίως στη σόγια αλλά βρίσκονται σε ικανοποιητικά ποσοστά σε μία ποικιλία οσπρίων, ξηρών καρπών και στα λαχανάκια Βρυξελλών, ενώ η ρεσβερατρόλη βρίσκεται σε υψηλά ποσοστά στα σταφύλια (*Vitis vinifera* L.) και το κρασί, ενώ πρόσφατα βρέθηκε στα εδώδιμα φιστίκια (*Arachys hypogaea* L.) και στα φιστίκια Αιγίνης (*Pistachia vera* L.) που ευδοκιμούν στην Τουρκία. Η μελέτη των Gentile et al. (2007) δείχνει ότι τα φιστίκια Αιγίνης είναι

πλούσια πηγή γενιστεΐνης και δαϊσδεΐνης και το ποσοστό τους είναι λίγο χαμηλότερο από το αναφερόμενο για τη σόγια. Αντίθετα από τη σόγια, όπου οι ισοφλαβόνες βρίσκονται κυρίως υπό τη μορφή γλυκοζυλιωμένων παραγώγων, γλυκοζυλιωμένες ισοφλαβόνες δεν ανευρέθησαν στα φιστίκια Αιγίνης (Gentile et al, 2007). Υψηλές ποσότητες *trans*-ρεσβερατρόλης βρέθηκαν στο φιστίκι Αιγίνης, εντούτοις έχουν αναφερθεί και υψηλότερες στη μελέτη των Tokusoglu O και συν. (2005), και συγκεκριμένα 1.15 μg/g ξηρού καρπού. Διαφορές στο γονότυπο, στις περιβαλλοντικές συνθήκες, συμπεριλαμβανομένης και της έκθεσης σε μύκητες, βακτήρια και υπεριώδη ακτινοβολία, στην επεξεργασία και στην αποθήκευση, μπορεί να επηρεάζουν το διατροφικό περιεχόμενο, καθώς και τη σύσταση σε μεταλλικά στοιχεία και φλαβονοειδή (Gentile et al, 2007).

Πίνακας 3.5: Πολυφαινολικό περιεχόμενο ανα 100 g φιστικιού Αιγίνης

	Amount ^a (mg)
proanthocyanidins ^b	268.12 ± 8.31
<i>trans</i> -resveratrol	12.0 X 10 ⁻³ ± 1.2 X 10 ⁻³
Isoflavones	
daidzein	3.68 ± 0.41
genistein	3.40 ± 0.37

^a Each value is the mean ± SD of four determinations performed in duplicate

^b mg of cyanidine chloride equivalents

Πίνακας 3.6: Περιεχόμενο σε ταννίνες ανά 100 g ξηρών καρπών ^a

nut ^b	tannins ^c
almond	0.07 ± 0.00
Brazil nut	0.01 ± 0.00
cashew nut	0.03 ± 0.00
hazelnut	0.04 ± 0.00
macadamia nut	0.01 ± 0.00
pecan	0.84 ± 0.03
pine nut	0.01 ± 0.00
pistachio	0.02 ± 0.00
walnut	0.34 ± 0.01
Virginia peanut	0.16 ± 0.02
LSD ($p = 0.05$)	0.04

^a All values are expressed on a grams per 100 g of edible portion basis (as-is basis), and data are reported as mean ± standard error of mean ($n = 3$).

^c Total tannins extracted in absolute MeOH.

3.7 Αντιοξειδωτική δράση ξηρών καρπών

Η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, καθώς και σιτηρών και ξηρών καρπών, έχει συσχετισθεί με χαμηλό κίνδυνο χρόνιων νοσημάτων. Ανάμεσα στα διατροφικά συστατικά με προστατευτική επίδραση έναντι των χρόνιων νοσημάτων είναι και τα φυτοχημικά, μία τάξη φυτικών ενώσεων προικισμένων με δυνατές αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Οι ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες τέτοιων βιοδραστικών μορίων που ανευρίσκονται στα φυτικά τρόφιμα οφείλονται στην προσθετική και συνεργιστική τους επίδραση. Η μέτρηση της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (Total Antioxidant Capacity, TAC), δηλαδή της ικανότητας κάποιας ένωσης να αναστέλλει ή να εμποδίζει την οξειδωτική υποβάθμιση, μπορεί να είναι η κατάλληλη προσέγγιση για αξιολόγηση της αθροιστικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των φυτικών τροφίμων. Μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχει μία αρνητική συσχέτιση μεταξύ της TAC και της συχνότητας εμφάνισης καρκίνου του στομάχου ή των επιπέδων της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (Pellegrini N et al., 2006).

3.7.1 Μεθόδοι προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης των φυτικών εκχυλισμάτων εξακολουθεί ακόμα και σήμερα να είναι ένα άλυτο πρόβλημα. Περίπου είκοσι αναλυτικές μέθοδοι, όπως η χρήση διαφορετικών αντιδραστηρίων, μιγμάτων, προτύπων, αναλυτικών αξιολογήσεων και άλλα αναφέρονται στη βιβλιογραφία (Stratil et al., 2006). Μερικές απ' αυτές φαίνονται στον πίνακα 3.7 (Huang et al., 2005). Η ακριβής σύγκριση των αποτελεσμάτων και της γενικής ερμηνείας των διαφόρων μεθόδων είναι πρακτικά αδύνατη λόγω της μεταβλητότητας των πειραματικών μεθόδων και των διαφορών στις φυσικοχημικές ιδιότητες των οξειδωμένων υποστρωμάτων. Επιπλέον, η αντιοξειδωτική δράση των υποστρωμάτων στα τρόφιμα και άλλα βιολογικά συστήματα εξαρτάται από τη μέθοδο που εφαρμόζεται και το υπόστρωμα που πρέπει να προστατευτεί από την αντιοξειδωτική ουσία (Stratil et al., 2006).

Πίνακας 3.7: Μεθόδοι προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης *in vitro*

assays involving hydrogen atom transfer reactions $\text{ROO}^\bullet + \text{AH} \rightarrow \text{ROOH} + \text{A}^\bullet$ $\text{ROO}^\bullet + \text{LH} \rightarrow \text{ROOH} + \text{L}^\bullet$	ORAC (oxygen radical absorbance capacity) TRAP (total radical trapping antioxidant parameter) Crocinn bleaching assay IOU (inhibited oxygen uptake) inhibition of linoleic acid oxidation inhibition of LDL oxidation
assays by electron-transfer reaction $\text{M}(n) + \text{e}^- (\text{from AH}) \rightarrow \text{AH}^{n+} + \text{M}(n-1)$	TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) FRAP (ferric ion reducing antioxidant parameter) DPPH (diphenyl-1-picrylhydrazyl) copper(II) reduction capacity total phenols assay by Folin–Ciocalteu reagent
other assays	TOSC (total oxidant scavenging capacity) (90) inhibition of Briggs–Rauscher oscillation reaction (91) chemiluminescence (92) electrochemiluminescence (93)

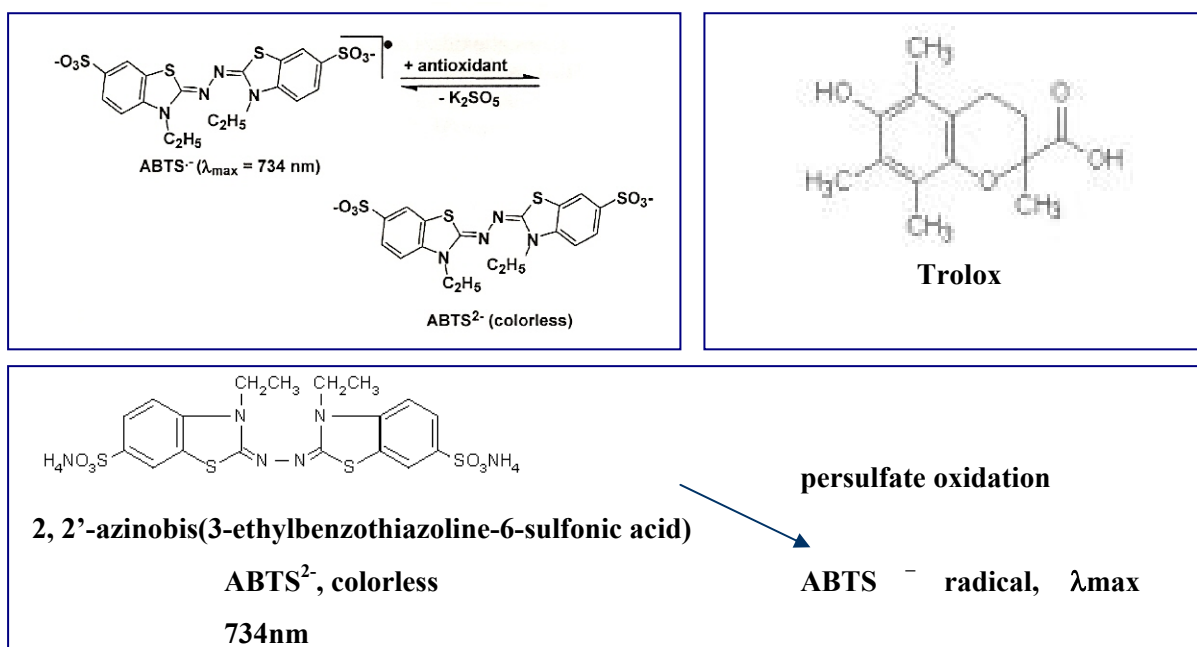
Ένας μεγάλος αριθμός παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των κολλοειδών ιδιοτήτων του υποστρώματος, των πειραματικών συνθηκών, του μέσου της αντίδρασης, του σταδίου οξειδωσης και του αντιοξειδωτικού εντοπισμού σε διαφορετικές φάσεις, μπορούν να επηρεάσουν την αντιοξειδωτική δράση. Η εφαρμοζόμενες μέθοδοι μπορούν να χωριστούν σε δύο βασικές ομάδες: (i) η δοκιμή με λιπόφιλα υποστρώματα και (ii) η δοκιμή με υδρόφιλα υποστρώματα. Επιπλέον, η σύσταση του συστήματος, ο τύπος του οξειδωμένου υποστρώματος, η μέθοδος που χρησιμοποιείται και ο τρόπος προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής δράσης, είναι μεγάλης σημασίας κατά τη διάρκεια των δοκιμασιών (Frankel et al., 2000). Επίσης οι εφαρμοζόμενες μέθοδοι διακρίνονται σε: α) Άμεσες, οι οποίες βασίζονται στην επίδραση του υπό μελέτη τροφίμου που περιέχει αντιοξειδωτικά στην οξειδωτική υποβάθμιση του εξεταζόμενου συστήματος. Το υπόστρωμα μπορεί να είναι λίπη, μίγματα λίπους, πρωτεΐνες, DNA, LDL κ.α.. β) Έμμεσες, οι οποίες βασίζονται στην ικανότητα των αντιοξειδωτικών να δεσμεύουν ελεύθερες ρίζες.

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης πρέπει να γίνεται χρησιμοποιώντας τουλάχιστον δύο ή περισσότερες μεθόδους και στο τέλος πρέπει να συγκρίνονται οι γενικές τάσεις των τιμών της αντιοξειδωτικής δράσης για το κάθε δείγμα (Frankel et al., 2000). Τα υδρολυμένα εκχυλίσματα περιέχουν περισσότερα δραστικά αντιοξειδωτικά αφού οι γλυκοζίτες των φαινολικών ενώσεων είναι λιγότερο ισχυρά αντιοξειδωτικά από τις αντίστοιχες αγλυκόνες (Vinson JA et al., 1995).

3.7.1.A. Έμμεσες μέθοδοι

A1. TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity)

Η TEAC αντιστοιχίζει σε συγκέντρωση Trolox, ενός υδατοδιαλυτού αναλόγου της βιταμίνης E, το ισοδύναμο αντιοξειδωτικό δυναμικό δεδομένης συγκέντρωσης του υπό μελέτη δείγματος. Η μέθοδος αυτή αντικατοπτρίζει την ικανότητα των αντιοξειδωτικών που έχουν τη δυνατότητα να δίνουν υδρογόνα, να δεσμεύουν τις ρίζες $ABTS^{\cdot-}$, απορροφώντας στην εγγύς IR περιοχή (734, 645, 815 nm) σε σχέση με την απορρόφηση του διαλύματος Trolox. Η προσθήκη των αντιοξειδωτικών στη ρίζα $ABTS^{\cdot-}$, την ανάγει σε $ABTS^{2-}$ και προκαλείται αποχρωματισμός (Pellegrini N et al., 2003), (Σχήμα 3.3).



Σχήμα 3.3: Το ισοδύναμο της βιταμίνης E, Trolox και η δέσμευση της ρίζας $ABTS^{\cdot-}$ από τα αντιοξειδωτικά

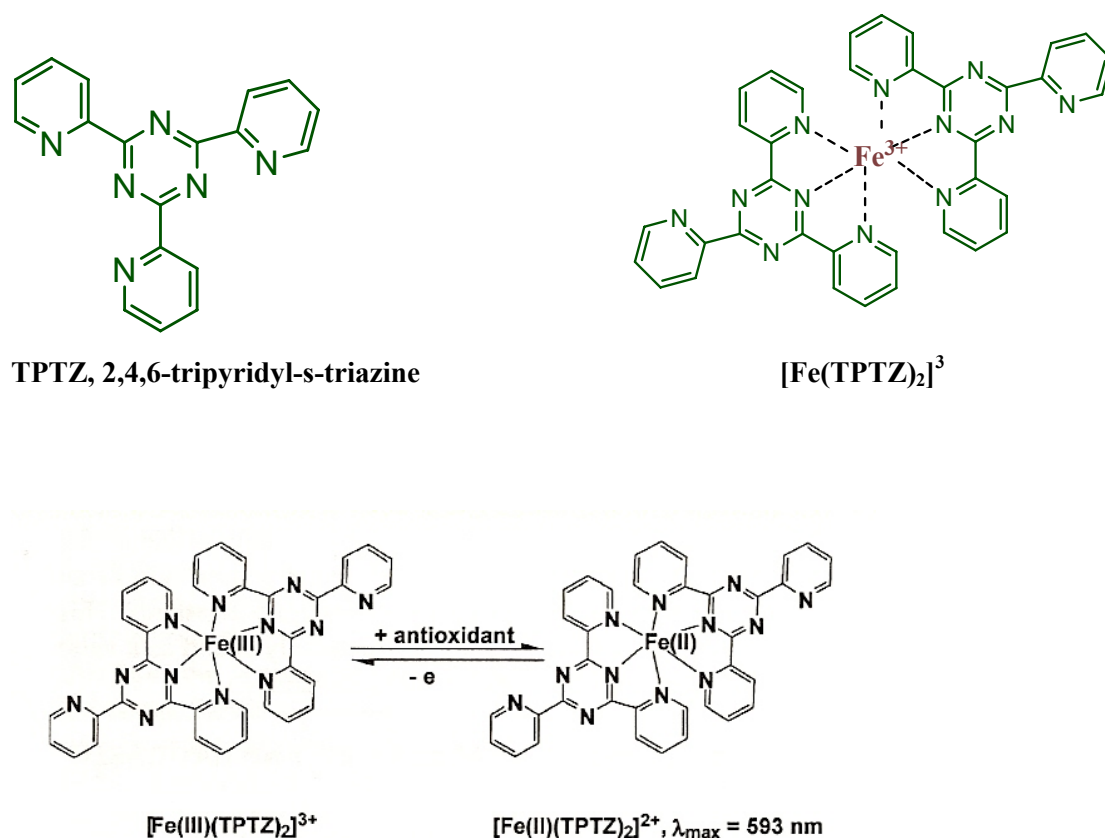
A2. TRAP assay (Total Radical Trapping Antioxidant Parameter)

Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο τα αντιοξειδωτικά παρέχουν προστασία στην R-phycoerythrin (R-PE, lag phase) κατά τη διάρκεια μίας ελεγχόμενης υπεροξειδικής αντίδρασης. Η αντίδραση παρακολουθείται φωτομετρικά. Οι τιμές της TRAP υπολογίζονται από το μήκος της lag phase (χρόνος υστέρησης) λόγω του δείγματος

που συγκρίνεται με αυτό του Trolox και εκφράζονται ως mmol Trolox/kg (Pellegrini N et al., 2003).

A3. FRAP assay (Ferric anion Reducing Antioxidant Power)

Ο τρισθενής σίδηρος (Fe^{+3}) ανάγεται προς δισθενή σίδηρο (Fe^{+2}) από τα αντιοξειδωτικά, ο οποίος σχηματίζει έγχρωμο σύμπλοκο με μία τριαζίνη (2,2' - dipyridyl - 5,6 - bis (4 - phenyl - sulfonic acid) - 1,2,4 - triazine ή 3 - (2 - pyridyl) - 5,6 - bis (4 - phenyl - sulfonic acid) - 1,2,4 - triazine) ή με άλλα ανάλογα (Σχήμα 3.4). Η μέθοδος TEAC δε διαφέρει σημαντικά από τη μέθοδο FRAP αφού τα οξειδοαναγωγικά δυναμικά του Fe(III) (0.70 V) και του ABTS (0.68 V) είναι συγκρίσιμα, μόνο που το TEAC εφαρμόζεται σε ουδέτερο pH, ενώ το FRAP σε όξινο. Η απορρόφηση του $[\text{Fe(TPTZ)}_2]^{2+}$ μετράται στα 620 nm. Τα αποτελέσματα συνήθως εκφράζονται ως ισοδύναμα βιταμίνης C (Huang D et al., 2005).



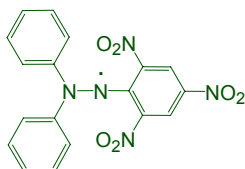
Σχήμα 3.4: Οι ενώσεις που εμπλέκονται στη μέθοδο FRAP

A4. DPPH assay (2, 2 – Diphenyl – 1 – picrylhydrazyl radical scavenging assay)

Είναι η πιο παλιά έμμεση μέθοδος προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής δράσης. Το DPPH είναι μία από τις λίγες σταθερές και εμπορικά διαθέσιμες οργανικές ρίζες αζώτου ($\lambda_{\max}$ 515 nm). Τα αντιοξειδωτικά δεσμεύουν αυτή τη σταθερή ρίζα, το διάλυμα αποχρωματίζεται και η ελάττωση της απορρόφησης μετράται στα 515 nm. Το ποσοστό του DPPH που απομένει υπολογίζεται ως

$$\% \text{ DPPH}_{\text{rem}} = 100 * [\text{DPPH}]_{\text{rem}} / [\text{DPPH}]_{T=0}$$

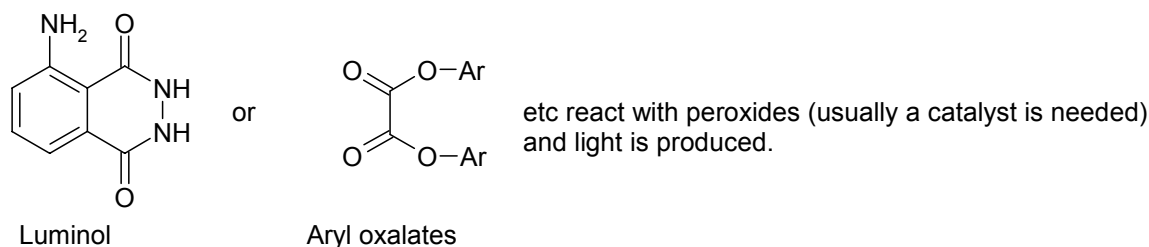
Το $\% \text{ DPPH}_{\text{rem}}$ είναι ανάλογο της συγκέντρωσης της αντιοξειδωτικής ουσίας. Η συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού που προκαλεί μείωση στην αρχική συγκέντρωση DPPH κατά 50% ορίζεται ως EC_{50} . Η αντιοξειδωτική ικανότητα ενός αντιοξειδωτικού (Antiradical Efficiency, AE) υπολογίζεται ως: $\text{AE} = 1/\text{EC}_{50}$, (Huang D et al., 2005).



Σχήμα 3.5: Η ελεύθερη ρίζα DPPH

A5. Chemiluminescence (Χημειοφωταύγεια)

Η μέθοδος βασίζεται στην ικανότητα της λουμινόλης και συγγενών ενώσεων να εκπέμπουν φως υπό τη ροή των ελευθέρων ριζών. Η ένταση του παραγόμενου φωτός κατά τη διάρκεια των αντιδράσεων της χημειοφωταύγειας είναι συνάρτηση της συγκέντρωσης υπεροξειδίου. Η παρουσία των αντιοξειδωτικών προκαλεί μία πτώση της έντασης (Huang D et al., 2005).



Σχήμα 3.6: Λουμινόλη και συγγενείς ενώσεις

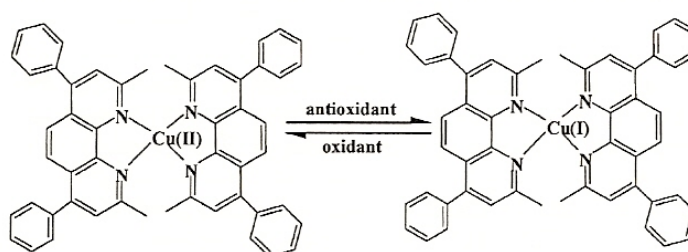
3.7.1.B. Άμεσες μέθοδοι

B1. ORAC assay (Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay)

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί μία «γεννήτρια» ελευθέρων ριζών, μέσω θερμικής αποσύνθεσης μίας αζωτοένωσης, ώστε να δώσει μία σταθερή ροή υπεροξυλο – ριζών σε ένα κορεσμένο διάλυμα αέρα. Τα αντιοξειδωτικά που προστίθενται συναγωνίζονται με το υπόστρωμα για τις ρίζες και εμποδίζουν ή επιβραδύνουν την οξείδωση του υποστρώματος. Σύμφωνα με την πρότυπη μορφή αυτής της μεθόδου, ο ρυθμός της υπεροξειδωσης που προκαλείται από την ένωση 2,2' - diazobis (2 – amidinopropane) dihydrochloride (AAPH ή ABAP) ρυθμίζεται μέσω της απώλειας του φθορισμού της πρωτεΐνης β-φυκοερυθρίνης (β-PE). Η εξασθένηση του φθορισμού της β-PE είναι μία ένδειξη φθοράς από την αντίδραση της με την υπεροξυλο – ρίζα. Συνήθως η χρονική υστέρηση που προκαλείται από το δείγμα συγκρίνεται με αυτή που προκαλείται από το διάλυμα Trolox. Η ένταση του φθορισμού (ex 485 nm/em 525 nm) μετρείται για 35 λεπτά, σε pH 7.4 και στους 37 °C (Huang D et al., 2005).

B2. Total Antioxidant Potential Assay using Cu(II) as an oxidant (Ολικό αντιοξειδωτικό δυναμικό με τη χρήση του Cu(II) ως οξειδωτικό)

Η μέθοδος βασίζεται στην αναγωγή του Cu(II) σε Cu(I) με τη δράση των αντιοξειδωτικών που βρίσκονται στο δείγμα (Σχήμα 3.7). Ένα έγχρωμο αντιδραστήριο, η 2,9-dimethyl-4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline, σχηματίζει ένα μίγμα 2:1 με το Cu(I), το οποίο έχει μέγιστη απορρόφηση στα 490 nm. Βρέθηκε ότι 1 mol α-τοκοφερόλης μπορεί να ανάγει 2 mol Cu(II) σε Cu(I).

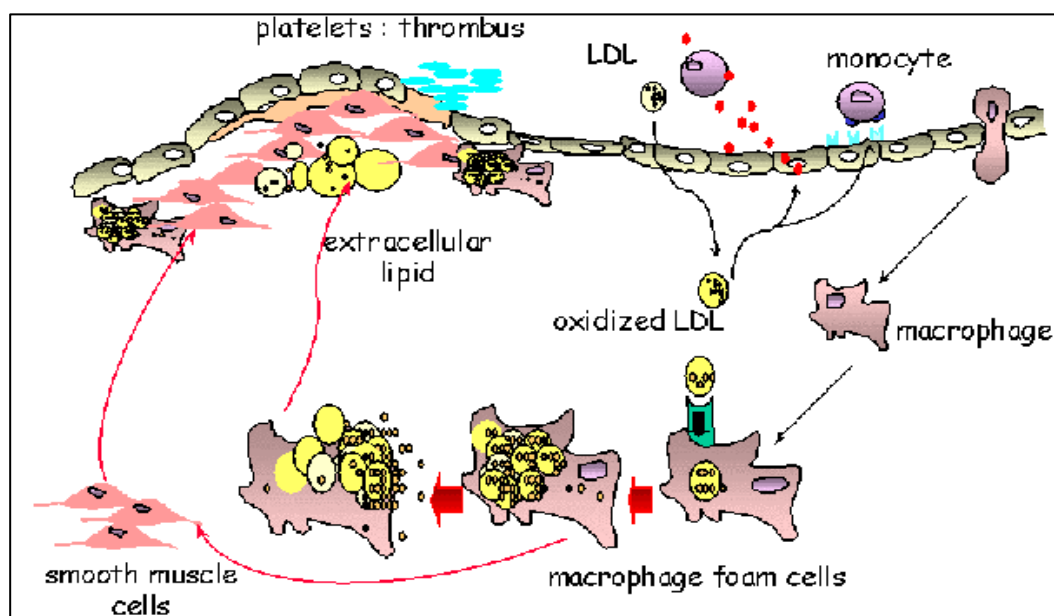


Σχήμα 3.7: Η αναγωγή του Cu(II) σε Cu(I) από τα αντιοξειδωτικά

Η οξείδωση της LDL αναφέρεται στην οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων της LDL χοληστερόλης, καθώς και στην τροποποίηση των πρωτεϊνών που περιέχονται στην LDL από τα προϊόντα της οξείδωσης των λιπιδίων. Οι κυριότερες μεταβολές που συμβαίνουν στην οξειδωμένη LDL είναι (Χιου Α, 2007):

- Ολική απώλεια των αντιοξειδωτικών
- Σχηματισμός συζυγών διενίων και λιπιδικών υπεροξειδίων
- Σχηματισμός αλδεϋδων χαμηλού μοριακού βάρους (malondialdehyde, 4-OH nonenal)
- Μείωση της ελεύθερης ομάδας $-NH_2$ της πρωτεΐνης και προοδευτική διάσπαση των πρωτεϊνών
- Αυξημένη υποβάθμιση από τα μακροφάγα
- Κυτοτοξικότητα.

Η αθηρογένεση περιλαμβάνει το σχηματισμό πλάκας στα αρτηριακά τοιχώματα, η οποία στενεύει το αρτηριακό πέρασμα, περιορίζοντας έτσι τη ροή του αίματος και αυξάνοντας τον κίνδυνο απόφραξης της αρτηρίας. Το σχήμα 3.8 απεικονίζει τη διαδικασία της αθηρογένεσης.



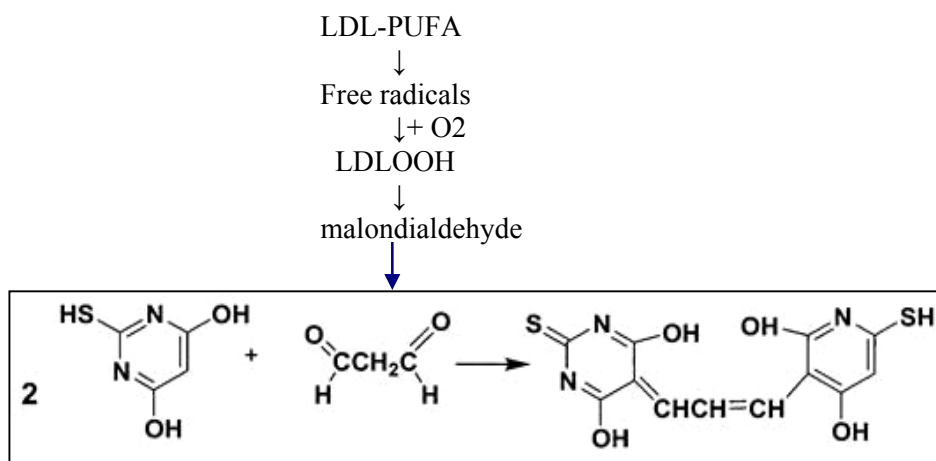
Σχήμα 3.8: Η διαδικασία της αθηρογένεσης.

Αρχικά, η LDL διαπερνά το αρτηριακό τοίχωμα και οξειδώνεται (oxLDL). Η oxLDL διεγείρει τη φλεγμονώδη αντίδραση στα γειτονικά ενδοθηλιακά κύτταρα, απελευθερώνοντας χημειοκίνες και κυτοκίνες (M-CSF, MCP-1) και επιστρατεύοντας

μονοκύτταρα στα αρτηριακά τοιχώματα. Τα μονοκύτταρα διαφοροποιούνται σε μακροφάγα και ενσωματώνουν την oxLDL. Τα μακροφάγα συνεχίζουν να ενσωματώνουν την LDL, με αποτέλεσμα να μεγεθύνονται και να γεμίζουν λιπίδια. Αυτά τα κύτταρα συσσωρεύονται στον ιστό και μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα, σχηματίζοντας μέρος της αθηρωματικής πλάκας (Χίου Α., 2007).

Οι πολυφαινόλες (κερκετίνη, λουτεολίνη, ρουτίνη) φαίνεται ότι έχουν προστατευτική επίδραση στην επιδεκτικότητα της LDL στην οξείδωση. Οι μηχανισμοί στους οποίους οφείλονται οι προστατευτικές επιδράσεις των πολυφαινολών είναι η μείωση του σχηματισμού ελευθέρων ριζών, η προστασία της α-τοκοφερόλης της LDL από την οξείδωση και η αναγέννηση της οξειδωμένης α-τοκοφερόλης, καθώς και ο σχηματισμός χηλικών συμπλόκων με τα μεταλλικά ιόντα.

Πειράματα που σχετίζονται με την παρακολούθηση της προστασίας της LDL από οξείδωση περιλαμβάνουν μελέτη της προστασίας της LDL από την οξείδωση που προκαλούν τα Cu^{+2} . Η LDL επώάζεται με το Cu(II) . Ο Cu(II) ανάγεται σε Cu(I) με τη δράση της α-τοκοφερόλης. Η απώλεια των αντιοξειδωτικών έχει ως αποτέλεσμα την οξείδωση των λιπιδίων και την παραγωγή αλδεϋδων χαμηλού μοριακού βάρους, κυρίως μηλονικής διαλδεϋδης. Αυτή η ένωση αντιδρά με το θειοβαρβιτουρικό οξύ και η προκύπτουσα ένωση μετρείται φασματοφωτομετρικά (Σχήμα 3.9), (Huang D et al., 2005).



Σχήμα 3.9: In vitro μελέτη της οξείδωσης της LDL χοληστερόλης

3.7.2. Αντιοξειδωτική δράση ξηρών καρπών που μελετήθηκαν σε προηγούμενες εργασίες

Στον πίνακα 3.8 φαίνονται οι τιμές FRAP, TRAP και TEAC των μεθανολικών εκχυλισμάτων των ξηρών καρπών, καθώς και των ίδιων δειγμάτων μετά από αλκαλική υδρόλυση. Και στις τρεις μεθόδους, το καρύδι εμφανίζει τις υψηλότερες τιμές ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας και ακολουθεί το φιστίκι Αιγίνης. Χαμηλότερα στην ιεραρχική σειρά βρίσκεται το κουκουνάρι στις μεθόδους FRAP και TRAP και το φιστίκι στη μέθοδο TEAC. Οι πολύ ψηλές τιμές ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας που παρουσιάζει το καρύδι δεν είναι παράξενες, δεδομένου του πολύ υψηλού πολυφαινολικού περιεχομένου του. Οι πολυφαινόλες του καρυδιού είναι κυρίως μη φλαβονοειδή (πχ. ελλαγιταννίνες) και βρίσκονται κυρίως στη λεπτή σκούρα καφέ επιδερμίδα που καλύπτει τη ψίχα του καρπού. Οι περισσότερες απ' αυτές τις ενώσεις φαίνεται ότι παρουσιάζουν υψηλή αντιοξειδωτική δράση. Η αντιοξειδωτική δράση του φιστικιού Αιγίνης μπορεί να οφείλεται στην παρουσία ανθοκυανινών (Pellegrini N et al., 2006).

Πίνακας 3.8: FRAP, TRAP και TEAC στα εκχυλίσματα ξηρών καρπών

Nut	FRAP (mmol Fe ²⁺ /kg)				TRAP (mmol Trolox/kg)				TEAC (mmol Trolox/kg)			
	Free ^{b)}	Bound ^{c)}	Total	Rank	Free ^{b)}	Bound ^{c)}	Total	Rank	Free ^{b)}	Bound ^{c)}	Total	Rank
Almonds	23.57	17.77	41.34	4	1.78	4.55	6.33	4	9.25	4.12	13.36	3
Hazelnuts	19.39	22.92	42.31	3	2.45	4.45	6.90	3	6.69	5.33	12.02	4
Peanuts	3.11	12.36	15.46	5	0.46	2.84	3.30	5	1.76	3.00	4.76	6
Pine nuts	8.32	5.10	13.42	6	0.95	0.60	1.54	6	2.10	3.15	5.25	5
Pistachios	102.72	89.95	192.67	2	9.13	16.78	25.92	2	37.39	24.07	61.46	2
Walnuts	412.29	41.65	453.94	1	27.58	4.27	31.85	1	119.91	17.11	137.01	1

a) Values are means, $n = 3$.

b) Values of methanolic extracts.

c) Values of extracts after hydrolysis.

Είναι αξιοσημείωτο, ότι ανεξάρτητα από τη μέθοδο που χρησιμοποιείται, η υψηλή αντιοξειδωτική δράση των καρυδιών εμφανίζεται στο μεθανολικό εκχύλισμα (προ υδρόλυσεως), το οποίο συμβάλλει περίπου στο 90% της αντιοξειδωτικής δράσης. Αντίθετα, στους άλλους ξηρούς καρπούς που μελετήθηκαν σ' αυτή τη μελέτη, η συνεισφορά των δεσμευμένων αντιοξειδωτικών ήταν υψηλή και κυμαινόταν από 31% στα αμύγδαλα (TEAC) έως 86% στα φιστίκια (TRAP). Επιπλέον, στη μέθοδο TRAP η συνεισφορά των δεσμευμένων αντιοξειδωτικών ήταν υψηλότερη απ' αυτή που παρατηρήθηκε στις μεθόδους FRAP και TEAC. Αυτή η

διαφορά στις μεθόδους προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής δράσης εξηγείται λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι η μέθοδος TRAP είναι λιγότερο ικανή στο να προσδιορίσει λιποδιαλυτά αντιοξειδωτικά, τα οποία συνήθως βρίσκονται σε ελεύθερη μορφή, όπως οι τοκοφερόλες (Kornsteiner M et al., 2006). Έτσι, με τη μέθοδο TRAP μπορούν να προσδιοριστούν καλύτερα τα υδατοδιαλυτά αντιοξειδωτικά, τα οποία κυρίως βρίσκονται δεσμευμένα (Pellegrini N et al., 2006).

Από τον πίνακα 3.8 φαίνεται ότι υπάρχει μεγάλο εύρος τιμών για την αντιοξειδωτική ικανότητα των ξηρών καρπών σε όλες τις μεθόδους. Οι τιμές της TEAC κυμαίνονται από 4.76 έως 137.01 mmol Trolox/kg, οι τιμές της FRAP από 13.42 έως 453.94 mmol Fe²⁺/kg και οι τιμές της TRAP από 1.54 έως 31.85 mmol Trolox/kg. Οι μεγάλες διαφορές στις τιμές ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας οφείλονται στις φαινολικές ενώσεις, οι οποίες είναι σε υψηλά επίπεδα στα καρύδια και τα φιστίκια Αιγίνης, όσο και στο περιεχόμενο σε τοκοφερόλες, το οποίο είναι υψηλό στα φιστίκια Αιγίνης και τα αμύγδαλα και χαμηλότερο στα αράπικα φιστίκια και στα κουκουνάρια (Kornsteiner M et al., 2006).

Η Pellegrini και συνεργάτες (2006) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η συνεισφορά των δεσμευμένων φυτοχημικών στη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα είναι ουσιώδης στους ξηρούς καρπούς. Η τύχη αυτών των φυτοχημικών είναι να φτάσουν στο κόλον σε αναφομοίωτη μορφή. Τα μη απορροφήσιμα φυτοχημικά μπορούν να τροποποιηθούν από τη μικροχλωρίδα, παράγοντας διαφορετικές ενώσεις που μπορούν να απορροφηθούν. Έχει φανεί ότι η μικροβιακή εστεράση, που βρίσκεται στο έντερο των θηλαστικών, μπορεί να απελευθερώσει υδροξυκιναμωμικά οξέα, που είναι δεσμευμένα στο κυτταρικό τοίχωμα των φυτών, στον εντερικό αυλό και ότι τα ελεύθερα οξέα και οι μεταβολίτες τους απορροφούνται από το κυκλοφορικό σύστημα (Andreasen MF et al., 2001). Επιπλέον, τα μη απορροφήσιμα φυτοχημικά μπορούν να δρουν και εξωκυτταρικά για την προστασία του γαστρεντερικού σωλήνα, προτείνοντας έτσι έναν πιθανό τους ρόλο στην πρόληψη του καρκίνου του παχέος εντέρου (Levi F et al., 1999, Larsson SC et al., 2005).

Στον πίνακα 3.9 φαίνεται η αντιοξειδωτική ικανότητα του λιποδιαλυτού (L-ORAC_{FL}) και του υδατοδιαλυτού (H-ORAC_{FL}) εκχυλίσματος, η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) και οι ολικές πολυφαινόλες (TP) κάποιων ξηρών καρπών, οι οποίοι είναι πολύ διαδεδομένοι στην αμερικανική αγορά. Παρουσιάζονται μεγάλες διακυμάνσεις στις τιμές της αντιοξειδωτικής ικανότητας του L-ORAC_{FL} των ξηρών καρπών. Τη χαμηλότερη τιμή έχει το κουκουνάρι (4.43 μmol TE/g) και την

υψηλότερη το πεκάν (175.2 $\mu\text{mol TE/g}$). Αυτή η διακύμανση είναι μεγαλύτερη στο υδατοδιαλυτό εκχύλισμα των ξηρών καρπών. Οι ξηροί καρποί είναι μία σημαντική πηγή διαιτητικού λίπους και έχουν προταθεί ως πιθανές πηγές διαιτητικών αντιοξειδωτικών. Οι ολικές πολυφαινόλες προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. Το πολυφαινολικό περιεχόμενο των ξηρών καρπών έχει ως εξής: πεκάν > φιστίκι Αιγίνης > καρύδι > φουντούκι > αμύγδαλα > αράπικο φιστίκι > Brazil nuts > cashews > macadamias > κουκουνάρι (Wu X et al., 2004).

Πίνακας 3.9: L-ORAC_{FL}, H- ORAC_{FL}, TAC και TP ξηρών καρπών από την αμερικανική αγορά.

nut	L-ORAC _{FL} ^b ($\mu\text{mol of TE/g}$)	range	H-ORAC _{FL} ($\mu\text{mol of TE/g}$)	range	TAC ^c ($\mu\text{mol of TE/g}$)	TP ^d (mg of GAE/g)	serving size ^e (g)	TAC/serving ($\mu\text{mol of TE}$)
almonds ($n = 8$)	1.72 $\pm$ 0.50	1.48	42.82 $\pm$ 8.71	25.62	44.54	4.18 $\pm$ 0.84	28.4 (1 oz)	1265
Brazil nuts ($n = 6$)	5.57 $\pm$ 2.17	5.42	8.62 $\pm$ 2.06	5.72	14.19	3.10 $\pm$ 0.96	28.4 (1 oz)	403
cashews ($n = 7$)	4.74 $\pm$ 1.38	3.94	15.23 $\pm$ 2.04	5.49	19.97	2.74 $\pm$ 0.39	28.4 (1 oz)	567
hazelnuts ($n = 8$)	3.70 $\pm$ 2.66	7.74	92.75 $\pm$ 17.78	61.60	96.45	8.35 $\pm$ 2.16	28.4 (1 oz)	2739
macadamias ($n = 8$)	2.52 $\pm$ 0.57	1.59	14.43 $\pm$ 2.31	7.59	16.95	1.56 $\pm$ 0.29	28.4 (1 oz)	481
peanuts ($n = 4$)	2.73 $\pm$ 1.04	2.25	28.93 $\pm$ 2.36	4.93	31.66	3.96 $\pm$ 0.54	28.4 (1 oz)	899
pecans ($n = 8$)	4.16 $\pm$ 0.98	3.22	175.24 $\pm$ 10.36	30.76	179.40	20.16 $\pm$ 1.03	28.4 (1 oz)	5095
pine nuts ($n = 8$)	2.76 $\pm$ 0.60	1.48	4.43 $\pm$ 1.11	3.58	7.19	0.68 $\pm$ 0.25	28.4 (1 oz)	204
pistachios ($n = 7$)	4.25 $\pm$ 1.46	4.18	75.57 $\pm$ 10.50	30.60	79.83	16.57 $\pm$ 1.21	28.4 (1 oz)	2267
walnuts ($n = 8$)	4.84 $\pm$ 1.25	3.21	130.57 $\pm$ 35.20	95.20	135.41	15.56 $\pm$ 4.06	28.4 (1 oz)	3846

^a Data expressed on the "as is" weight basis and presented as mean $\pm$ SD for sample numbers >2. ^b ORAC_{FL} data expressed as micromoles of Trolox equivalents per gram ($\mu\text{mol of TE/g}$). ^c TAC = L-ORAC_{FL} + H-ORAC_{FL}. ^d Total phenolics data expressed as milligrams of gallic acid equivalents per gram (mg of GAE/g). ^e Serving size from USDA National Nutrient Database for Standard Reference (www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp). ^f Sample number for each food.

Στον πίνακα 3.10 παρουσιάζεται μία γενική εικόνα του αντιοξειδωτικού δυναμικού των εκχυλισμάτων του *P. Vera* L. (φιστίκι Αιγίνης), όπως προέκυψε από τις μεθόδους Folin-Ciocalteu (ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο) και FRAP (Ferric anion Reducing Antioxidant Power), (Gentile et al., 2007). Σ' αυτή τη μελέτη τα δείγματα εκχυλίστηκαν με δύο διαφορετικά διαλύματα: α) Μεθανόλη/νερό, οπότε προέκυψε το υδατοδιαλυτό εκχύλισμα και β) Διχλωρομεθάνιο, οπότε προέκυψε το λιποδιαλυτό εκχύλισμα. Η αντιοξειδωτική δράση των λιποδιαλυτών εκχυλισμάτων είναι πολύ χαμηλότερη απ' αυτή των υδατοδιαλυτών εκχυλισμάτων, δείχνοντας ότι τα υδατοδιαλυτά συστατικά συνεισφέρουν σε ποσοστό > 90% στη συνολική αντιοξειδωτική δράση των πιο πολλών τροφίμων. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, μία μερίδα (28,4 g) ολόκληρου ξηρού καρπού περιέχει περίπου 50 mg GAE.

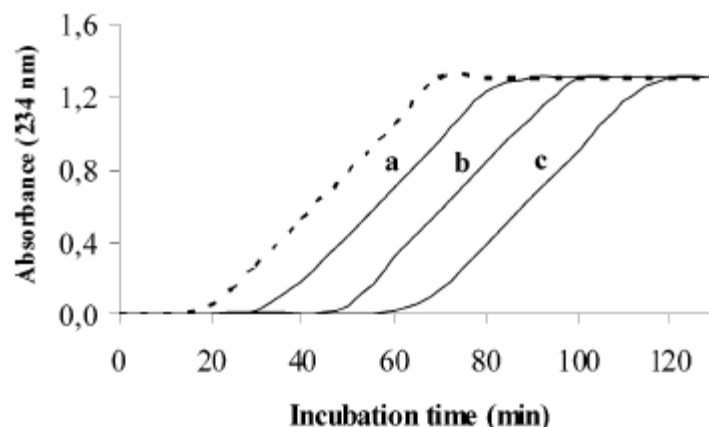
Πίνακας 3.10: Αντιοξειδωτικό δυναμικό του *P. Vera* L. (φιστίκι Αιγίνης).

	TAA ^b	TP ^c	n
water-soluble extract	27.55 ± 2.30	175.23 ± 5.62	4
lipid-soluble extract	0.51 ± 0.08	not determined	3

^a Each value is the mean ± SD of *n* determinations performed in duplicate.

^b μmol of Trolox equivalents/g of edible nut. ^c mg of GAE/100 g of edible nut.

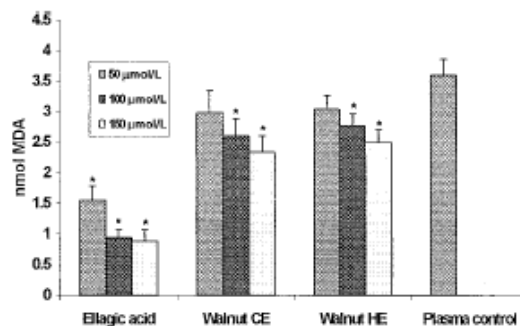
Η αντιοξειδωτική δράση του υδατοδιαλυτού εκχυλίσματος του *P. Vera* L διερευνήθηκε σε βιολογικά μοντέλα οξείδωσης λιπιδίων, όπως η ανθρώπινη LDL και φαίνεται ότι αύξησε την αντοχή της LDL στην προκαλούμενη από χαλκό οξείδωση. Ένα τυπικό πείραμα φαίνεται στο σχήμα 3.10. Εν αναφορά προς την επωαζόμενη χωρίς το εκχύλισμα του ξηρού καρπού LDL, μία δοσοεξαρτώμενη επιμήκυνση του χρόνου υστέρησης (lag phase) παρατηρήθηκε στην παρουσία εκχυλισμάτων από 30 έως 100 μg ξηρού καρπού. Αξίζει να σημειωθεί ότι, όταν ένα εκχύλισμα 500 μg ξηρού καρπού συμπεριλήφθηκε στο επωαζόμενο μίγμα, η οξείδωση της LDL αναστάλθηκε ολοκληρωτικά για έξι ώρες τουλάχιστον. Τα κινητικά πρότυπα που παρατηρήθηκαν κατά τη διάρκεια της οξείδωσης της LDL στην παρουσία των χαμηλότερων ποσοτήτων ξηρού καρπού υποστηρίζουν τη δράση των συστατικών που δεσμεύουν τις ρίζες ROO'. Εντούτοις, η πλήρης αναστολή της οξείδωσης της LDL από το εκχύλισμα των 500 μg ξηρού καρπού μάλλον αιτιολογείται από το σχηματισμό χηλικών συμπλόκων μεταξύ πολυφαινόλων και μετάλλων. Το περιεχόμενο του *P. Vera* L σε πολυφαινόλες υποστηρίζει ότι αυτά τα συστατικά, μέσω της διπλής ικανότητας τους να δρουν ως αντιοξειδωτικά που διακόπτουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών και να σχηματίζουν χηλικές ενώσεις με τα μεταλλικά ιόντα, πιθανώς να έχουν ένα σημαντικό ρόλο στην αναστολή της υπεροξείδωσης των λιπιδίων στην πειραματική διαδικασία αυτής της μελέτης (Gentile et al., 2007).



Σχήμα 3.10: Σχηματισμός λιπιδικών υδροϋπεροξειδίων συζυγών διενίων κατά τη διάρκεια της προκαλούμενης από Cu^{+2} οξείδωσης της LDL, είτε κατά την απουσία (διακεκομμένη γραμμή), είτε κατά την παρουσία (ευθείες a, b, c) υδρόφιλων εκχυλισμάτων από 30 (a), 60 (b) και 100 (c) μg ξηρού καρπού.

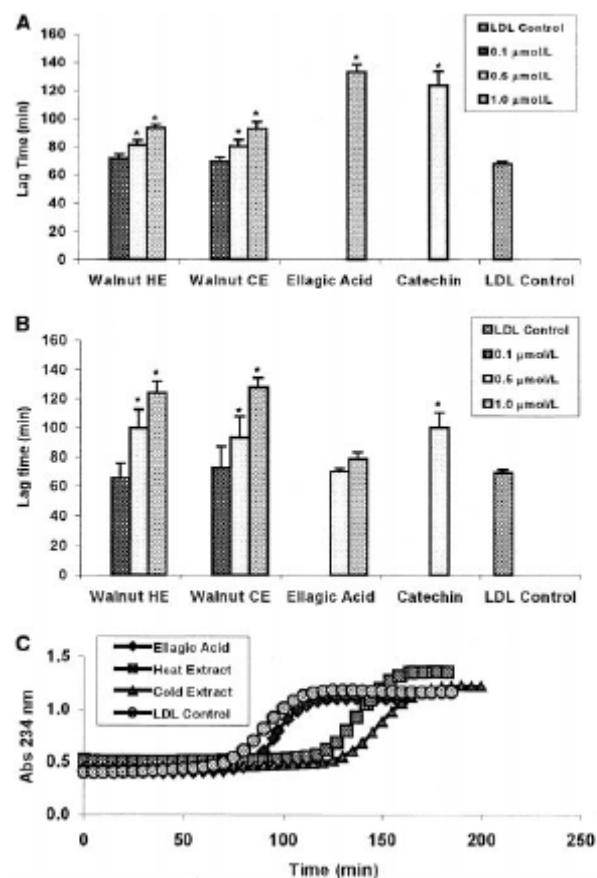
Το καρύδι είναι γνωστό ότι περιέχει υψηλές ποσότητες αντιοξειδωτικών. Οι Anderson και συνεργάτες (2001) αναφέρουν ότι σε 50 g καρυδιών περιέχονται 802 mg GAE, όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. Οι πολυφαινόλες του καρυδιού είναι κυρίως μη φλαβονοειδή και συγκεκριμένα ελλαγιταννίνες. Είναι πλούσιο σε ελλαγικό οξύ. Σ' αυτή τη μελέτη τα εκχυλίσματα καρυδιού είχαν συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα προσδιοριζόμενη με τη μέθοδο TEAC 1.46 ± 0.06 (εκχύλισμα παραληφθέν εν θερμώ) και 1.10 ± 0.14 (εκχύλισμα παραληφθέν εν ψυχρώ). Το καθαρό ελλαγικό οξύ έχει αντιοξειδωτική ικανότητα 3.12 ± 0.07 , το γαλλικό οξύ 2.61 ± 0.10 και η κατεχίνη 2.51 ± 0.05 (Anderson et al., 2001).

Και οι τρεις συγκεντρώσεις του ελλαγικού οξέος (50, 100, 150 $\mu\text{mol/L}$), (Σχήμα 3.11) ανέστειλαν σημαντικά την προκαλούμενη από AAPH [2,2' - azobis' (2 - amidino propane) hydrochloride] οξείδωση στο πλάσμα κατά 57, 74 και 75% αντίστοιχα. Οι δύο υψηλότερες συγκεντρώσεις (100 και 150 $\mu\text{mol/L}$ GAE) των εκχυλισμάτων του καρυδιού ανέστειλαν σημαντικά την οξείδωση κατά 23 και 31% (εκχύλισμα παραληφθέν εν θερμώ) και 28 και 35% (εκχύλισμα παραληφθέν εν ψυχρώ), αντίστοιχα.



Σχήμα 3.11: Ο σχηματισμός TBARS (Thiobarbituric acid reacting substance) στην προκαλούμενη από AAPH οξείδωση στο πλάσμα μειώνεται στην παρουσία των φαινολικών ενώσεων του καρυδιού και του ελλαγικού οξέος. (Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ισοδύναμα μηλονικής διαλδεύδης (MDA) $\pm$ SD, n=6. * Στατιστικά σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας $P < 0.001$).

Στην ίδια μελέτη, η οξείδωση της LDL ξεκίνησε από την ένωση AAPH ή τα ιόντα χαλκού και μετρήθηκε ο σχηματισμός συζυγών διενίων (CD). Τα εκχυλίσματα του καρυδιού σε συγκεντρώσεις 0.1, 0.5 και 1.0 $\mu\text{mol/L}$ GAE ανέστειλαν την προκαλούμενη από AAPH [2,2' - azobis' (2 - amidino propane) hydrochloride] οξείδωση της LDL με δόσοεξαρτώμενο τρόπο, αφού ο χρόνος υστέρησης (lag time) επιμηκύνθηκε κατά 4.5, 20 και 38% αντίστοιχα, σε σχέση με τυφλό προσδιορισμό LDL (Σχήμα 3.12A). Η επίδραση των πολυφαινολών ήταν σημαντικότερη στην περίπτωση της προκαλούμενης από Cu οξείδωσης της LDL, με το χρόνο υστέρησης να επιμηκύνεται κατά 0.39 και 82% κατά μέσο όρο (Σχήμα 3.12B). Τα πρότυπα ελλαγικού οξέος και η κατεχίνης χρησιμοποιήθηκαν ως φαινολικές ενώσεις ελέγχου και συγκρίθηκαν με τυφλό προσδιορισμό LDL. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις ελλαγικού οξέος οδήγησαν σε αύξηση του lag time κατά 87 και 14% στο σύστημα AAPH/οξείδωση LDL και Cu/ οξείδωση LDL, αντίστοιχα, ενώ η κατεχίνη κατά 82 και 43%, αντίστοιχα. Το σχήμα 3.12C απεικονίζει το σχηματισμό CD κατά την προκαλούμενη από Cu οξείδωση της LDL, χρησιμοποιώντας μία αντιπροσωπευτική συγκέντρωση ελλαγικού οξέος (1 $\mu\text{mol/L}$), τα εκχυλίσματα του ξηρού καρπού και τον τυφλό προσδιορισμό LDL (Anderson et al., 2001).



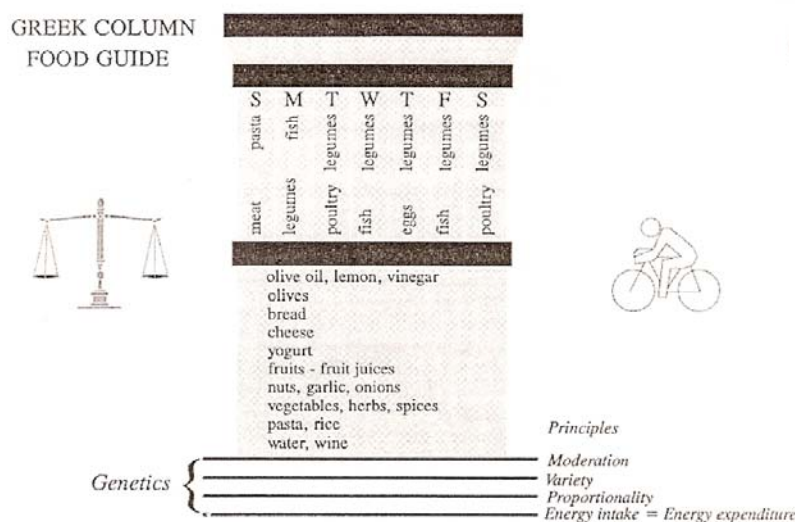
Σχήμα 3.12: Οι επιδράσεις των πλούσιων σε πολυφαινόλες εκχυλισμάτων του καρυδιού και των πρότυπων φαινολικών ενώσεων στο χρόνο υστέρησης της οξείδωσης της LDL. (* Στατιστικά σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας $P < 0.001$).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4ο

Αντιοξειδωτικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση οσπρίων

4.1 Γενική σύσταση οσπρίων

Όσπρια ονομάζονται οι αποξηραμένοι καρποί μιας ολόκληρης κατηγορίας φυτών, που ανήκουν στην τάξη των Λεγκουμινωδών. Τα όσπρια χρησιμοποιούνται άμεσα για τη διατροφή του ανθρώπου, ενώ πολλά από αυτά χρησιμοποιούνται για τη διατροφή των ζώων (en.wikipedia.org). Τα λεγκουμινώδη αντιπροσωπεύουν ένα σημαντικό στοιχείο της Μεσογειακής διατροφής. Είναι πολύ δημοφιλή στην Ελλάδα και παρόλο που η κατανάλωση τους στη χώρα μας έχει μειωθεί τις τελευταίες δεκαετίες, οι Έλληνες είναι κατά πολύ οι πρώτοι καταναλωτές οσπρίων ανάμεσα στους υπόλοιπους Ευρωπαίους, με μία μέση ημερήσια πρόσληψη των 14 g/άτομο (DafneSoftWeb, 2006). Στο σχήμα 4.1 φαίνονται οι διατροφικές οδηγίες που βασίζονται στη Κρητική Δίαιτα. Περιλαμβάνουν την ιδέα της διαφορετικότητας του γενετικού υπόβαθρου του κάθε ατόμου, καθώς και τις αρχές της κατανάλωσης τροφής με μέτρο, ποικιλία, αναλογικότητα και της ισορροπία μεταξύ ενεργειακής πρόσληψης και δαπάνης. Βασίζονται σε τρόφιμα, και όχι σε ομάδες τροφίμων, και σ' αυτά συμπεριλαμβάνονται και τα όσπρια (Simopoulos AP, 2001).



Σχήμα 4.1: Διατροφικές οδηγίες με βάση την Κρητική Διατροφή.

Ανάμεσα στα όσπρια, που καταναλώνει άμεσα ο άνθρωπος, ανήκουν τα φασόλια, οι φακές, τα ρεβίθια, τα μπιζέλια, τα αράπικα φιστίκια κλπ. Στην κατηγορία των οσπρίων, που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή διάφορων καταναλωτικών προϊόντων, την πρώτη και βασική θέση κατέχει η [σόγια](#). Από τη σόγια παρασκευάζονται σήμερα πάνω από 120 διαφορετικά καταναλώσιμα από τον άνθρωπο προϊόντα μεταξύ των οποίων κρέας, τυρί, γάλα, κακάο, βούτυρο κλπ. Στην τρίτη κατηγορία ανήκουν ο βίκος, τα λαθούρια, μερικά είδη λούπινων κλπ. Το βασικό χαρακτηριστικό των οσπρίων είναι ότι περιέχουν μεγάλο ποσοστό πρωτεϊνών, οι οποίες αποτελούν βασικό συστατικό της ανθρώπινης διατροφής. Η σόγια και τα φιστίκια έχουν υψηλό περιεχόμενο σε λίπος (en.wikipedia.org).

Τα όσπρια είναι γνωστή τροφή των ανθρώπων από τα πολύ παλιά χρόνια. Οι πρωτεΐνες που περιέχουν μερικά, όπως η σόγια, τα φασόλια κλπ. μπορούν να υποκαταστήσουν ως ένα βαθμό τις ζωικές πρωτεΐνες, που είναι απαραίτητες για τη διατροφή του ανθρώπου. Παράλληλα, περιέχουν μεγάλο ποσοστό κυτταρίνης που τα καθιστούν δύσπεπτα. Επίσης περιέχουν άμυλο και μεταλλικά στοιχεία (en.wikipedia.org).

4.1.1 Βασική Σύσταση

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν τα όσπρια που καταναλώνονται ευρέως στην Ελλάδα (Πίνακας 4.1). Η ανάλυση τους έγινε μετά από βράσιμο και λυοφιλοποίηση. Τα μακροσυστατικά και η ενέργεια των βρασμένων οσπρίων φαίνεται στον πίνακα 4.2. Το πρωτεϊνικό τους περιεχόμενο κυμαίνεται από 6.1% (Φακές χοντρές) έως 10.2% (Φάβα κίτρινη). Το χαμηλότερο ενεργειακό περιεχόμενο έχουν οι χοντρές φακές (108 kcal/100 g) και το υψηλότερο η κίτρινη φάβα (147 kcal/100 g). Όλα τα δείγματα είναι πλούσια σε διαιτητικές ίνες, με περιεχόμενο που κυμαίνεται από 5.73% στα κουκιά έως 15.5% στις ψιλές φακές. Οι διαιτητικές ίνες είναι κυρίως αδιάλυτες (82-96%). Τα επίπεδα των υδατανθράκων κυμαίνονται από 22.3% (Φασόλια μεσαία) έως 15.7% (Μπαρμπουνοφάσολα), (Kalogeropoulos N, Andrikopoulos NK, Hassapidou M, Karathanos VT, Πρακτικά, 3^{ος} τόμος, 5^ο Διεθνές Συνέδριο Τεχνολογίας Τροφίμων, 2007).

Οι ολιγοσακχαρίτες μπορεί να έχουν πρεβιοτική δράση. Ο όρος πρεβιοτικά περιλαμβάνει τις μη πέψιμες βιοδραστικές ουσίες των τροφίμων που ευνοούν τη

μεταβολική δραστηριοποίηση και ανάπτυξη της ωφέλιμης εντερικής μικροχλωρίδας του ξενιστή, με απώτερο στόχο την εξασφάλιση της υγείας του ξενιστή. Γνωστοί ολιγοσακχαρίτες με πρεβιοτική δράση είναι οι ολιγοσακχαρίτες της σόγιας. Το περιεχόμενο των νωπών και βρασμένων μεξικάνικων φασολιών σε ολιγοσακχαρίτες φαίνεται στον πίνακα 4.3 (Diaz-Batalla L et al., 2006). Τα επίπεδα της ραφινόζης στα μαγειρεμένα όσπρια κυμάνθηκαν από 3.2 έως 11.0 mg/g, της σταχυόζης από 37.9 έως 56.7 mg/g και της βερπασκόζης από 1.6 έως 4.4 mg/g.

Πίνακας 4.1: Όσπρια που καταναλώνονται ευρέως από τον ελληνικό πληθυσμό

Γένος – Είδος οσπρίου	Ποικιλία	Διεθνής ορολογία
Φασόλια (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	Μικρά	Small size white beans
	Μεσαία	Medium size white beans
	Μεγάλα	Large size white beans
	Γίγαντες	Giant beans
	Ελέφαντες	Elephant beans
	Μαυρομάτικα	Black eyed beans
	Μπαρμπουνοφάσολα	Red beans
Φάβα (<i>Lathyrus sativus</i>)	Κίτρινη	Yellow fava beans
	Πράσινη	Green fava beans
Φακές (<i>Lens culinaris</i>)	Ψιλές	Small lentils
	Χοντρές	Big lentils
Πεβίθια (<i>Cicer arietinum</i>)		Chick peas
Κουκιά (<i>Vicia fava</i>)		Broad beans

Πίνακας 4.2: Γενική σύσταση (% fw) και ενεργειακό περιεχόμενο (kcal/100 g fw) βρασμένων οσπρίων

Legume	Water content	Crude protein*	Carbohydrates**	Total lipids	Total dietary fiber	Ash	Energy
Broad beans	73.5	6.4	18.3	1.2	5.7	0.6	112
Chick peas	66.9	7.7	21.9	3.1	15.1	0.4	138
Yellow fava beans	67.8	10.2	20.3	1.3	10.8	0.4	147
Green fava beans	72.5	6.8	18.2	2.0	9.7	0.5	124
Big lentils	76.5	6.1	16.2	0.4	7.8	0.8	108
Small lentils	72.1	7.8	18.9	0.3	15.5	0.9	143
Giant beans	69.1	7.5	21.8	1.2	8.8	0.4	135
Elephant beans	74.2	7.0	17.2	0.9	5.8	0.7	123
Large white beans	71.4	6.9	20.3	0.5	12.2	0.9	118
Medium white beans	68.4	7.7	22.3	0.8	9.3	0.8	145
Small white beans	70.5	7.5	18.9	1.4	13.7	1.7	132
Black eyed beans	72.0	7.1	19.3	1.2	6.7	0.4	128
Red spotted beans	71.9	7.4	15.7	1.1	7.0	3.9	136

fw: fresh weight; *: calculated by Kjeldahl nitrogen N $\times$ 6.25; **: calculated by difference

Πίνακας 4.3: Επίπεδα γαλακτο-ολιγοσακχαριτών στα νωπά και βρασμένα φασόλια (mg/g ξηρού τροφίμου)

sample	raffinose		stachyose		verbascose	
	raw	cooked	raw	cooked	raw	cooked
FMM38	8.5 d	6.5 g	57.4 d	50.4 d	3.8 d	3.2 c
FJAna	6.1 h	4.6 j	50.9 e	37.9 g	2.8 gh	1.6 d
FJMar	7.5 f	7.4 f	56.5 d	54.3 b	2.3 j	2.2 d
N8025	10.7 c	10.6 b	63.8 a	56.3 ab	4.7 c	3.8 bc
Notom	11.2 b	11.0 a	59.6 c	56.1 ab	5.1 b	4.4 b
Apa 95	8.1 e	5.3 i	61.2 b	47.2 e	2.9 g	1.7 d
FJVic	8.0 e	7.7 e	56.2 d	50.9 cd	2.3 j	2.3 cd
FJAcu	11.4 b	10.7 b	59.5 c	54.9 b	3.3 e	2.9 c
FM94050	14.1 a	10.3 c	23.7 f	16.8 h	35.8 a	24.3 a
NQro	10.4 c	10.1 d	59.5 c	52.8 c	3.7 d	3.4 bc
G-12892	4.4 j	3.5 k	59.1 c	56.7 a	2.8 h	2.7 cd
G-12893	5.0 i	3.2 l	58.4 c	45.5 f	2.2 j	1.8 cd
G-12906	6.2 h	5.8 h	63.0 a	55.1 b	2.6 i	2.3 cd
G-11025B	7.0 g	4.8 j	59.4 c	52.0 c	3.1 f	1.8 cd
mean	8.5	7.2	56.3	49.0	5.5	4.2

^a Values for galactooligosaccharides are means of two determinations

Means in the same column with different letters are different ($P < 0.05$).

4.1.2 Σύσταση σε λιπαρά οξέα

Οι βασικές κατηγορίες λιπαρών οξέων των οσπρίων παρουσιάζονται στον πίνακα 4.4. Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα είναι η κύρια ομάδα λιπαρών οξέων σε όλα τα δείγματα. Κυμαίνονται από 62-81 % των ολικών λιπιδίων, ενώ τα ω-3 λιπαρά οξέα, τα οποία αποτελούνται κυρίως από α-λινολενικό οξύ, είναι κυρίαρχα σε όλες τις ποικιλίες φασολιών. Όλα τα όσπρια που εξετάστηκαν περιέχουν χαμηλά επίπεδα *trans* λιπαρών οξέων, χαμηλότερα από 1% των συνολικών λιπαρών οξέων. Το περιεχόμενο των βρασμένων οσπρίων σε α-λινολενικό οξύ κυμαίνεται από 30.2 mg/100 g στις ψιλές φακές έως 529 mg/100 g στα μικρά φασόλια. Υπάρχουν στοιχεία ότι το α-λινολενικό οξύ από μόνο του μειώνει τον κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα και επιπλέον είναι απαραίτητο για τη βιοσύνθεση ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων μεγαλύτερης ανθρακικής αλυσίδας. Έτσι, η παρουσία τους στα όσπρια σε σημαντικές ποσότητες μπορεί να είναι ευεργετική για την ανθρώπινη υγεία, (Πίνακας 4.4), (Kalogeropoulos N, Andrikopoulos NK, Hassapidou M, Karathanos VT, Πρακτικά, 3^{ος} τόμος, 5^ο Διεθνές Συνέδριο Τεχνολογίας Τροφίμων, 2007).

Πίνακας 4.4: Κατηγορίες λιπαρών οξέων (% ολικών λιπαρών οξέων) και περιεχόμενο σε α-λινολενικό οξύ στα βρασμένα όσπρια

Legume	SFA	MUFA	PUFA	<i>Trans</i>	ω3	ω6	ω6/ω3	ALA*
Broad beans	23.8	23.0	48.3	0.5	4.8	43.5	9.1	55.0
Chick peas	17.9	24.6	56.7	nd	2.5	54.1	21.3	75.3
Yellow fava beans	26.4	13.4	52.3	1.5	6.2	45.8	7.4	77.5
Green fava beans	19.1	21.6	54.3	nd	11.2	43.1	3.9	213.2
Big lentils	33.9	24.5	35.9	1.0	8.9	26.8	3.0	34.0
Small lentils	32.6	19.7	41.1	0.9	10.5	30.4	2.9	30.2
Giant beans	19.4	9.1	69.6	0.2	36.7	32.6	0.9	420.6
Elephant beans	17.8	8.8	72.5	0.3	36.9	35.5	1.0	317.8
Large white beans	24.9	7.8	63.5	nd	41.7	21.3	0.5	199.4
Medium white beans	24.5	10.1	60.1	0.2	38.3	20.9	0.5	292.8
Small white beans	23.0	14.0	60.7	0.3	39.5	20.7	0.5	529.0
Black eyed beans	29.9	5.9	62.4	nd	28.5	33.7	1.2	325.6
Red spotted beans	28.0	20.4	49.3	0.8	31.2	18.0	0.6	327.9

* α-linolenic acid, 18:3ω3, calculated from the % content of total fatty acids, by applying the 0.956 conversion factor

4.1.3 Αντιοξειδωτικό περιεχόμενο οσπρίων

A. Στερόλες

Το περιεχόμενο των οσπρίων σε φυτοστερόλες (Πίνακας 4.5) κυμαίνεται από 13.5 mg/100 g στα μαυρομάτικα φασόλια έως 48.9 mg/100 g στα ρεβίθια. Η β-σιτοστερόλη είναι η βασική φυτοστερόλη σε όλα τα όσπρια και σε υψηλότερη συγκέντρωση βρίσκεται στην κίτρινη φάβα (37.2 mg/100 g). Τα υψηλότερα επίπεδα καμπεστερόλης και Δ-5-αβεναστερόλης, 4.32 mg/100 g και 3.58 mg/100 g αντίστοιχα, βρέθηκαν στα ρεβίθια, ενώ το υψηλότερο περιεχόμενο σε σιγμαστερόλη (6.61 mg/100 g) βρέθηκε στα μικρά φασόλια. Τα επίπεδα χοληστερόλης είναι πολύ χαμηλά σε όλα τα εξεταζόμενα δείγματα (< 0.05 mg/100 g), (Kalogeropoulos N, Andrikopoulos NK, Hassapidou M, Karathanos VT, Πρακτικά, 3^{ος} τόμος, 5^ο Διεθνές Συνέδριο Τεχνολογίας Τροφίμων, 2007).

B. α-Τοκοφερόλη και Σκουαλένιο

Οι συγκεντρώσεις της α-τοκοφερόλης και του σκουαλενίου στα όσπρια είναι χαμηλές και κυμαίνονται από 0.21-0.61 mg/100 g και 0.12-0.94 mg/100 g αντίστοιχα (Πίνακας 4.5), (Kalogeropoulos N, Andrikopoulos NK, Hassapidou M, Karathanos VT, Πρακτικά, 3^{ος} τόμος, 5^ο Διεθνές Συνέδριο Τεχνολογίας Τροφίμων, 2007).

Πίνακας 4.5: Συγκεντρώσεις α-Τοκοφερόλης, σκουαλενίου και φυτοστερολών (mg/100 g fw) στα βρασμένα όσπρια

Legume	α-tocopherol	Squalene	Campesterol	Stigmasterol	β-sitosterol	Δ5-Avenasterol	Total sterols
Broad beans	0.35	0.32	2.92	1.13	28.60	3.44	36.08
Chick peas	0.43	0.24	4.32	2.45	38.52	3.58	48.87
Yellow fava beans	0.36	0.21	2.33	1.12	37.20	2.96	43.60
Green fava beans	0.28	0.22	2.40	1.51	27.93	1.88	33.73
Big lentils	0.26	0.14	2.18	2.63	24.23	2.52	31.56
Small lentils	0.31	0.16	2.58	2.60	15.36	2.33	22.88
Giant beans	0.30	0.75	0.83	4.92	21.68	2.31	29.74
Elephant beans	0.33	0.94	1.01	6.28	23.90	1.54	32.72
Large white beans	0.27	0.45	1.25	4.81	11.01	3.06	20.12
Medium white beans	0.32	0.51	1.17	7.97	20.71	3.03	32.89
Small white beans	0.33	0.53	1.01	6.61	14.36	2.66	24.64
Black eyed beans	0.61	0.12	1.19	3.84	6.70	1.78	13.50
Red spotted beans	0.31	0.23	1.75	4.82	12.47	2.44	21.48

Γ. Πολυφαινόλες

Προς το παρόν δε έχει μελετηθεί το πολυφαινολικό περιεχόμενο των οσπρίων ελληνικής προέλευσης. Έτσι, ένας από τους σκοπούς της παρούσας εργασίας είναι να καλύψει αυτό το κενό στη βιβλιογραφία. Υπάρχουν κάποια στοιχεία για το πολυφαινολικό περιεχόμενο των οσπρίων, κυρίως των φασολιών, στη διεθνή βιβλιογραφία. Αυτά όμως αφορούν κυρίως στα μεξικάνικα φασόλια και κάποιες άλλες ποικιλίες που καταναλώνονται ευρέως στις Ηνωμένες Πολιτείες.

Το 2001, τα χρόνια νοσήματα, όπως η παχυσαρκία, ο διαβήτης, οι καρδιοπάθειες και ο καρκίνος, ήταν οι κύριες αιτίες θανάτου στον παγκόσμιο πληθυσμό. Οι αναπτυσσόμενες χώρες υποφέρουν με αυξανόμενους ρυθμούς από δημόσια προβλήματα υγείας που σχετίζονται με χρόνια νοσήματα. Δεδομένης της ταχύτητας με την οποία οι παραδοσιακές δίαιτες και ο τρόπος ζωής αλλάζουν σε πολλές αναπτυσσόμενες χώρες, δεν είναι απροσδόκητο το γεγονός ότι τα χρόνια νοσήματα είναι πιο διαδεδομένα σε χώρες που η υποθρεψία και η τροφική ανασφάλεια είναι επιδημικά προβλήματα. Πέρα από την απαραίτητη ιατρική περίθαλψη των ατόμων που ήδη έχουν νοσήσει, η προσέγγιση της πρωτογενούς πρόληψης θεωρείται η πιο οικονομική και αποτελεσματική τακτική για την αντιμετώπιση της επιδημίας των χρόνιων νοσημάτων παγκοσμίως (World Health Organization, 2003).

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν αποδείξει την προστατευτική επίδραση των φυτικών τροφίμων και των φυτοχημικών στα χρόνια νοσήματα (Key TJ et al., 1999, Lampe JW et al., 1999). Αυτές οι ενώσεις έχουν διάφορες δράσεις, όπως ο έλεγχος των ενζύμων που προκαλούν αποτοξίκωση στον οργανισμό, η διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος, η μείωση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων, η ρύθμιση του μεταβολισμού των λιπιδίων και των ορμονών, καθώς και αντιοξειδωτικές, αντιβακτηριακές, αντικαρκινικές και αντιαθηρογόνες επιδράσεις. Επιπλέον, προκαλούν μείωση της έναρξης της καρκινογένεσης και επαγωγή της απόπτωσης των κυττάρων (Lampe JW et al., 1999).

Τα όσπρια έχουν σημαντικό ρόλο στις παραδοσιακές δίαιτες πολλών ανθρώπων σ' όλο τον κόσμο. Το κοινό φασόλι (*Phaseolus vulgaris* L.) είναι μία σημαντική πηγή πρωτεϊνών, σύνθετων υδατανθράκων, μεταλλικών στοιχείων και διαιτητικών ινών, κυρίως στις αναπτυσσόμενες χώρες. Όπως και άλλα όσπρια, έτσι και τα φασόλια, περιέχουν επίσης και ένα αριθμό βιοδραστικών συστατικών, όπως αναστολείς

ενζύμων, λεκτίνες, φυτίνες, ολιγοσακχαρίτες και φαινολικές ενώσεις, τα οποία έχουν μεταβολικό ρόλο στον ανθρώπινο οργανισμό (Diaz-Batalla L et al., 2006).

Οι Diaz-Batalla L και συνεργάτες (2006) μελέτησαν το πολυφαινολικό περιεχόμενο των μεξικάνικων φασολιών, διαφόρων ποικιλιών (μαύρα, καφέ, κόκκινα, γκρι, κιτρινωπά), πριν και μετά το βρασμό (Πίνακας 4.6). Οι φλαβονόλες κερκετίνη και καμπφερόλη ήταν τα κύρια φλαβονοειδή στα τρόφιμα. Η κατανάλωση αυτών των πολυφαινολών έχει δείχθει ότι παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με τον καρκίνο των πνευμόνων και τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Οι μηχανισμοί δράσης τους περιλαμβάνουν έλεγχο των ενζύμων που προκαλούν αποτοξίκωση στον οργανισμό και αναστολή κάποιων ενζύμων που σχετίζονται με τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, αλλά κυρίως υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα (4.7 mM και 1.4 mM αντίστοιχα με βάση τη μέθοδο TEAC). Το περιεχόμενο των νωπών και βρασμένων μεξικάνικων φασολιών σε κερκετίνη και καμπφερόλη φαίνεται στον πίνακα 4.7. Το περιεχόμενο σε κερκετίνη στα νωπά φασόλια (απόδοση σε ξηρό βάρος) κυμάνθηκε από 6.9 µg/g έως 23.5 µg/g και από 4.3 µg/g έως 12.0 µg/g στα βρασμένα φασόλια. Η μείωση μετά τη διαδικασία του βρασίματος ήταν από 12 έως 65%. Το περιεχόμενο σε καμπφερόλη κυμάνθηκε από 13.8 έως 209.4 µg/g ξηρού βάρους στα νωπά φασόλια και από 7.1 έως 123.12 µg/g βρασμένου οσπρίου. Η μείωση μετά το βράσιμο ήταν 5 έως 71%. Το υψηλότερο περιεχόμενο σε κερκετίνη είχαν τα μαύρα φασόλια, ενώ το υψηλότερο περιεχόμενο σε καμπφερόλη είχαν τα κιτρινωπά φασόλια, αλλά δεν υπήρχε απόλυτη συσχέτιση (Diaz-Batalla L et al., 2006).

Πίνακας 4.6: Χαρακτηριστικά των δειγμάτων που εξετάστηκαν (*Phaseolus vulgaris* L.) στη μελέτη των Diaz-Batalla L et al. (2006)

sample	status	wt of 100 seeds (g)	seed coat color
FMM38	cultivated	30.3	cream-red
FJAna	cultivated	32.7	cream-red
FJMar	cultivated	32.4	cream-red
N8025	cultivated	22.3	black
Notom	cultivated	32.1	black
Apa 95	cultivated	32.3	grey
FJVic	cultivated	32.2	cream-red
FJAcu	cultivated	23.2	cream-red
FM94050	cultivated	26.0	cream-red
NQro	cultivated	22.7	black
G-12892	wild	5.3	cream
G-12893	wild	9.3	brown
G-12906	wild	11.6	black-brown
G-11025B	wild	10.3	cream

Πίνακας 4.7: Περιεχόμενο σε κερκετίνη, καμπφερόλη και φαινολικά οξέα (μg/g ξηρού βάρους) στα νωπά και μαγειρεμένα μεξικάνικα φασόλια

sample	quercetin		kaempferol		HBA		VA		CMA		FA	
	raw	cooked	raw	cooked	raw	cooked	raw	cooked	raw	cooked	raw	cooked
FMM38	6.9 de	4.8 d	16.1 d	11.4 ef	13.1 ab	7.6 a	7.2 cd	4.5 cd	6.2 ab	2.1 c	20.8 cd	13.2 c
FJAna	7.0 de	4.3 d	13.8 d	7.1 f	9.7 bc	7.9 a	5.2 d	3.5 d	4.8 b	nd ^b	20.9 cd	17.6 bc
FJMar	8.2 de	6.7 c	209.4 a	123.2a	11.8 ab	7.9 a	7.4 cd	5.3 c	7.1 a	nd	24.3 bc	17.8 bc
N8025	9.7 cde	8.5 bc	19.2 d	15.7 de	9.6 bc	7.5 a	13.0 b	9.8 ab	6.8 ab	4.7 a	36.0 a	27.9 a
Notom	13.4 c	7.8 bc	20.3 d	19.1 d	5.7 cd	4.5 b	8.9 bc	6.7 c	5.4 b	3.8 a	24.5 bc	18.3 bc
Apa 95	7.9 de	4.7 d	20.8 d	13.5 de	7.1 cd	5.4 b	6.0 cd	4.3 cd	5.2 b	3.5 ab	18.2 cd	11.9 c
FJVic	9.4 cde	5.8 cd	204.6 a	65.3 b	8.8 bc	6.9 ab	8.6 c	5.4 c	4.9 b	nd	21.5 cd	15.9 bc
FJAcu	7.7 de	4.8 d	48.1 c	27.3 c	13.8 a	7.6 a	6.1 cd	4.1 d	5.3 b	3.2 b	20.4 cd	17.0 bc
FM94050	8.5 de	4.8 cd	19.1 d	9.7 ef	10.5 b	8.3 a	11.9 b	8.7 b	6.1 ab	3.6 ab	27.6 bc	20.8 b
NQro	23.5 a	12.0 a	19.2 d	12.8 ef	11.1 ab	7.2 a	14.1 ab	11.5ab	5.7 ab	3.8 a	26.8 bc	20.2 b
G-12892	11.3 cd	7.6 bc	23.1 d	14.3 de	9.6 bc	7.3 a	8.6 c	nd	5.6 ab	4.0 a	24.6 bc	19.8 b
G-12893	10.4 cde	7.0 bc	16.1 d	10.1 ef	8.3 bcd	6.5 ab	7.4 cd	6.5 c	3.2 c	2.2 c	25.2 bc	17.8 bc
G-12906	17.9 b	6.1 c	37.0 c	13.2 e	11.3 ab	8.6 a	16.6 a	12.1a	5.3 b	3.9 a	28.4 b	23.3 ab
G-11025B	11.5 cd	6.7 c	64.9 b	18.9 d	10.7 b	7.8 a	13.4 b	9.6 ab	3.9 bc	1.7 c	17.0 cd	13.0 c
mean	10.9	6.5	52.3	27.2	10.1	7.2	9.6	7.1	5.4	3.3	24.0	18.2

^a Values are means of three determinations. HBA, *p*-hydroxybenzoic acid; VA, vanillic acid; CMA, *p*-coumaric acid; FA, ferulic acid. Means in the same column with different letters are different ($P < 0.05$). ^b Not determined.

Τα ισοφλαβονοειδή γενιστεΐνη, δαΐσδεΐνη και εκουόλη (προϊόν μεταβολισμού της δαΐσδεΐνης από τα βακτήρια του εντέρου), μαζί με την κουμεστρόλη, είναι ενώσεις γνωστές ως φυτοοιστρογόνα. Έχουν συσχετισθεί με μειωμένο κίνδυνο καρδιαγγειακών νοσημάτων και καρκίνου του προστάτη και του στήθους (Setchell KD, 1998). Αυτές οι ενώσεις έχουν την ιδιότητα να δεσμεύουν οιστρογονικούς υποδοχείς και να ασκούν μία ασθενή μεταγραφική επίδραση (Murphy PA, Hendrich S, 2002). Έτσι, έχουν αντιοιστρογονική δράση και προστατεύουν από την εμφάνιση καρκίνου, μέσω ανταγωνιστικής αναστολής της οιστραδιόλης. Όταν η παραγωγή οιστρογόνου μειωθεί, αυτές οι ενώσεις μπορούν να αναπτύξουν ασθενή οιστρογονική δράση. Επιπλέον, τα φυτοοιστρογόνα παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση (Setchell KD, 1998). Οι τιμές για τη δαΐσδεΐνη κυμανθήκαν από 8.2 έως 129.1 μg/g, για τη γενιστεΐνη από 2.6 έως 9.7 μg/g και για την κουμεστρόλη από 2.4 έως 35.6 μg/g. Τα κοινά φασόλια δεν αναγνωρίζονται ως πηγή ισοφλαβονών. Η σόγια είναι το μόνο όσπριο με υψηλό περιεχόμενο σε ισοφλαβόνες, με τιμές 950 μg/g και 600 μg/g για τη γενιστεΐνη και τη δαΐσδεΐνη αντίστοιχα (Diaz-Batalla L et al., 2006).

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 4.7, δύο ομάδες φαινολικών οξέων έχουν προσδιοριστεί στη μελέτη των Diaz-Batalla L και συν. (2006): παράγωγα του βενζοϊκού οξέος (παρα-υδροξυβενζοϊκό, βανιλλικό και γαλλικό οξύ) και παράγωγα του κινναμωμικού οξέος (φερουλικό, παρα-κουμαρικό και καφεϊκό οξύ). Η αντιοξειδωτική ικανότητα αυτών των ενώσεων με βάση τη μέθοδο TEAC είναι 2.2 για το παρα-υδροξυβενζοϊκό οξύ, 1.8 για το βανιλλικό οξύ, 3.2 για το φερουλικό οξύ

και 2.3 για το παρα-κουμαρικό οξύ. Τα επίπεδα του π-υδροξυβενζοϊκού οξέος στα νωπά φασόλια κυμάνθηκαν από 5.7 έως 13.8 μg/g και από 4.5 έως 8.6 μg/g στα μαγειρεμένα φασόλια. Η μείωση μετά τη διαδικασία του βρασίματος ήταν 17.9 έως 44.5%. Το βανιλλικό οξύ στα νωπά φασόλια κυμάνθηκε από 5.2 έως 16.6 μg/g και από 3.5 έως 12.1 μg/g στα βρασμένα φασόλια. Το βράσιμο επέφερε 12.5 έως 36.9% μείωση στα επίπεδα βανιλλικού οξέος. Το περιεχόμενο των νωπών φασολιών σε π-κουμαρικό οξύ ήταν από 3.2 έως 6.8 μg/g και των βρασμένων φασολιών από 1.7 έως 4.7 μg/g. Η μείωση που προκάλεσε η διαδικασία του βρασίματος κυμάνθηκε από 26.3 έως 66.3%. Το φερουλικό οξύ στα νωπά φασόλια κυμάνθηκε από 17.0 έως 36.0 μg/g και από 11.9 έως 27.9 μg/g στα βρασμένα φασόλια. Το βράσιμο επέφερε 15.5 έως 36.5% μείωση στα επίπεδα φερουλικού οξέος. Η συγκέντρωση των φαινολικών οξέων στα φασόλια κατά φθίνουσα σειρά ήταν: φερουλικό οξύ > παρα-υδροξυβενζοϊκό οξύ > βανιλλικό οξύ > π-κουμαρικό οξύ (Diaz-Batalla L et al., 2006).

Το φυτικό οξύ (InsP₆) ανευρίσκεται στα δημητριακά, στα όσπρια, στους ξηρούς καρπούς και στους ελαιούχους σπόρους σε ποσότητες μεταξύ 1 και 5% του βάρους των σπόρων. Έχει θεωρηθεί ως αντι-διατροφικό λόγω του ότι είναι δύσπεπτο και προκαλεί μείωση της βιοδιαθεσιμότητας των δισθενών και τρισθενών κατιονικών μετάλλων, όπως ο σίδηρος και ο ψευδάργυρος, καθώς και γιατί δεσμεύει πρωτεΐνες και άμυλο, μειώνοντας έτσι την πέψη τους. Έτσι, οι δίαιτες που βασίζονται στα σιτηρά και τα όσπρια και άρα έχουν μεγάλο ποσοστό φυτικού οξέος, μπορεί να οδηγήσουν σε διατροφικές ανεπάρκειες (Phillippy BQ, 2003). Εντούτοις, οι μοναδικές μοριακές του αλληλεπιδράσεις σχετίζονται και με ευεργετικές συνέπειες για την ανθρώπινη υγεία. Η αλληλεπίδραση του με το άμυλο και τα δισθενή μέταλλα έχει ως αποτέλεσμα μειωμένο γλυκαιμικό δείκτη και μείωση της συμμετοχής του σιδήρου στις οξειδωτικές αντιδράσεις, με αποτέλεσμα τη μείωση του κινδύνου για χρόνια νοσήματα. Το περιεχόμενο των νωπών και βρασμένων οσπρίων σε φυτικό οξύ φαίνεται στον πίνακα 4.8. Στα νωπά φασόλια, το φυτικό οξύ κυμάνθηκε από 7.8 έως 17.6 mg/g και στα μαγειρεμένα από 5.7 έως 15.3 mg/g. Το μαγείρεμα επέφερε μείωση στο περιεχόμενο του φυτικού οξέος της τάξης των 2.3 με 35.2% (Diaz-Batalla L et al., 2006).

Πίνακας 4.8: Επίπεδα φυτικού οξέος στα νωπά και βρασμένα φασόλια (mg/g ξηρού τροφίμου)

sample	phytic acid	
	raw	cooked
FMM38	7.8 f	7.0 d
FJAna	8.4 ef	5.7 e
FJMar	13.1 c	8.8 c
N8025	12.7 c	8.4 c
Notom	10.9 d	7.1 d
Apa 95	8.5 ef	5.9 e
FJVic	8.2 ef	8.0 c
FJAcu	11.9 cd	8.5 c
FM94050	11.2 d	7.2 d
NQro	14.5 bc	11.0 b
G-12892	14.8 b	11.6 b
G-12893	12.2 cd	8.5 c
G-12906	9.3 e	8.6 c
G-11025B	17.6 a	15.3 a
mean	11.54	8.7

^a Values for phytic acid are means of three replicates.

Means in the same column with different letters are different ($P < 0.05$).

Στον πίνακα 4.9 παρουσιάζεται το περιεχόμενο κάποιων ισπανικών οσπρίων σε φλαβανόλες (mg/100 g νωπού δείγματος). Στη μελέτη αυτή, οι ενώσεις που προσδιορίστηκαν ήταν διμερή και τριμερή της κατεχίνης και των προανθοκυανιδινών, ενώσεις που συναντώνται κυρίως στα τρόφιμα και έτσι, είναι αντιπροσωπευτικά των φλαβονολών χαμηλού βαθμού πολυμερισμού που καταναλώνονται με τη διαίτα. Ανάμεσα στα δείγματα που αναλύθηκαν, το υψηλότερο περιεχόμενο σε φλαβανόλες είχαν τα κουκιά (154.5 mg/100 g νωπού δείγματος) και το χαμηλότερο τα άσπρα φασόλια. Τα κουκιά είχαν επίσης το υψηλότερο περιεχόμενο σε κατεχίνη και επικατεχίνη, ενώ το χαμηλότερο είχαν τα άσπρα φασόλια. Οι φακές είχαν ενδιάμεσο περιεχόμενο σε κατεχίνη, ενώ δεν περιείχαν καθόλου επικατεχίνη (de Pascual-Teresa S et al., 2000).

Οι φακές (*Lens culinaris* L.) είναι πολύ δημοφιλές τρόφιμο σε πολλές χώρες, αλλά πολύ λίγα είναι γνωστά για το φαινολικό τους περιεχόμενο. Οι Duenas M και συν. (2003) βρήκαν ότι το κύριο μονομερές της φλαβαν-3-όλης ήταν ο 3-γλυκοζίτης της κατεχίνης, με χαμηλότερα ποσά (+)-κατεχίνης και (-)-επικατεχίνης. Στο ολιγομερές κλάσμα αναγνωρίστηκαν διάφορα διμερή, τριμερή και τετραμερή των

προανθοκυανιδινών, αποτελούμενα από κατεχίνη, γαλλοκατεχίνη και γαλλικούς εστέρες της κατεχίνης. Στο πολυμερές κλάσμα αναγνωρίστηκαν διάφορες προκυανιδίνες και προδελφινιδίνες από τα πενταμερή και τα nonamers (Duenas M et al., 2003).

Πίνακας 4.9: Περιεχόμενο οσπρίων σε φλαβανόλες (mg/100 g νωπού δείγματος)

Προϊόν	GC	GC-C	B3	C	B1	EGC	B4	B2	EC	C1	total
Κουκιά	9.68 (15%)	23.5 (13%)	8.17 (13%)	16.23 (45%)	11.26 (7%)	17.38 (40%)	18.47 (14%)	12.08 (17%)	37.55 (27%)	0.13 (173%)	154.46 (17%)
Φακές	0.14 (104%)	0.45 (27%)	0.59 (55%)	0.35 (4%)							1.52 (39%)
Άσπρα φασόλια			0.03 (97%)	0.01 (111%)					0.09 (94%)		0.13 (96%)

Όπου: GC Γαλλοκατεχίνη, C Κατεχίνη, EGC Επιγαλλοκατεχίνη, EC Επικατεχίνη

Διμερή προακυανιδινών: B1 EC-(4, 8)-C, B2 EC-(4, 8)-EC, B3 C-(4, 8)-C, B4 C-(4, 8)-EC,

Τριμερές: C1 EC-(4, 8)-EC-(4, 8)-EC.

4.1.4 Αντιοξειδωτική δράση οσπρίων

Μέχρι σήμερα, η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα των οσπρίων δεν έχει μελετηθεί εκτενώς, όπως των υπόλοιπων τροφίμων με υψηλό αντιοξειδωτικό περιεχόμενο, όπως τα λαχανικά και τα φρούτα. Επιπλέον, οι πληροφορίες για τη φυτοχημική τους σύσταση είναι περιορισμένες. Η συνεισφορά των αδιάλυτων δεσμευμένων μορφών των φυτοχημικών στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των οσπρίων δεν έχει ακόμα μελετηθεί (Pellegrini et al., 2006).

Στον πίνακα 4.10 φαίνεται η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων κάποιων οσπρίων, όπως προσδιορίστηκε από τις μεθόδους FRAP (Ferric reducing antioxidant power), TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter) και TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity). Αυτές οι τιμές προσδιορίστηκαν σε μεθανολικά εκχυλίσματα (ελεύθερα φυτοχημικά) και στα ίδια εκχυλίσματα μετά από αλκαλική υδρόλυση (δεσμευμένα φυτοχημικά) (Pellegrini et al., 2006). Όπως προκύπτει από τον πίνακα 4.10 οι φακές και τα κουκιά είχαν την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Συγκεκριμένα, οι φακές ήταν οι πιο αποτελεσματικές στις μεθόδους TRAP και FRAP, ενώ τα κουκιά παρουσίασαν την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα όταν αναλύθηκαν με τη μέθοδο TEAC. Αντίθετα, τα ρεβίθια είχαν τις χαμηλότερες τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας, ανεξάρτητα από τη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε. Τα κουκιά είχαν τις υψηλότερες τιμές σε όλες τις μεθόδους στην περίπτωση που λήφθηκε υπόψη μόνο η αντιοξειδωτική δράση του μεθανολικού εκχυλίσματος (free phytochemicals). Τα κουκιά διαθέτουν πολύ υψηλό περιεχόμενο σε ελεύθερες φλαβονόλες (154.5 mg/100 g νωπού δείγματος), (Pascual – Teresa et al. 2000). Μεταξύ των οσπρίων που αναλύθηκαν, φάνηκε ότι η συνεισφορά των δεσμευμένων φυτοχημικών των κουκιών ήταν χαμηλότερη (ή με ανιχνεύσιμη) σε σχέση με αυτή των υπόλοιπων οσπρίων. Αντίθετα, σε όλα τα όσπρια, εκτός των κουκιών, η αντιοξειδωτική ικανότητα των δεσμευμένων φυτοχημικών ήταν σημαντικά υψηλότερη από αυτήν των ελεύθερων. Συγκεκριμένα, κυμάνθηκε από 46 % στα ρεβίθια έως 100 % στον αρακά (TRAP), (Pellegrini et al., 2006).

Πίνακας 4.10: Αντιοξειδωτική ικανότητα οσπρίων

Pulse	FRAP (mmol Fe ²⁺ /kg)				TRAP (mmol Trolox/kg)				TEAC (mmol Trolox/kg)			
	Free ^{b)}	Bound ^{c)}	Total	Rank	Free ^{b)}	Bound ^{c)}	Total	Rank	Free ^{b)}	Bound ^{c)}	Total	Rank
Bean	3.60	5.99	9.59	3	1.13	1.46	2.58	3	1.51	1.78	3.30	4
Broad bean	10.38	6.94	17.32	2	6.14	N.D. ^{d)}	6.14	2	7.70	5.56	13.26	1
Chickpeas	2.10	3.40	5.50	5	0.24	0.21	0.45	5	0.73	2.17	2.90	5
Lentil	8.58	33.07	41.65	1	1.32	9.36	10.68	1	3.68	5.62	9.30	2
Pea	3.56	5.04	8.59	4	N.D. ^{d)}	0.94	0.94	4	1.31	2.42	3.73	3

- a) Values are means, $n = 3$.
b) Values of methanolic extracts.
c) Values of extracts after hydrolysis.
d) N.D.; not detectable.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο

Πειραματικό μέρος

5.1 Υλικά και αντιδραστήρια

1. Νωπά δείγματα ξηρών καρπών (αμύγδαλο, καρύδι, φιστίκι Αιγίνης, φουντούκι) και ελαιούχων σπόρων (κολοκυθόσπορος, ηλιόσπορος).
2. Λυοφιλοποιημένα δείγματα βρασμένων οσπρίων: φασόλια μικρά, φασόλια μεσαία, φασόλια μεγάλα, φασόλια γίγαντες, φασόλια ελέφαντες, φασόλια μαυρομάτικα, μπαρμπουνοφάσολα, κίτρινη φάβα, πράσινη φάβα, ρεβίθια, κουκιά, φακές χοντρές, φακές ψιλές.
3. Αέριο άζωτο (N₂)
4. Διαλύτες:
 - Μεθανόλη, Ακετόνη, Ακετονιτρίλιο, Εξάνιο, Υδροχλωρικό οξύ, Οξικός Αιθυλεστέρας, Χλωριούχο νάτριο, Διαιθυλαιθέρας και Αιθανόλη αναλυτικής καθαρότητας
 - Χλωροφόρμιο και Μεθανόλη χρωματογραφικής καθαρότητας (HPLC, Merck).
5. Αντιδραστήρια:
 - Υδροξείδιο του Νατρίου και Υδροξείδιο του Καλίου
 - BHT - Butylated Hydroxytoluene, (Sigma)
 - α-τοκοφερόλη, γ-τοκοφερόλη, δ-τοκοφερόλη, (Sigma)
 - Σιλυλιωτικό BSTFA [Bis-(Trimerhysilyl)-trifluoroacetamide], 99% με 1% TMCS, (Macherey-Nagel).
 - 3-(4-υδροξυφαινυλο)-1-προπανόλη, (εσωτερικό πρότυπο IS), (Aldrich)
 - Ασκορβικό οξύ
 - β-γλυκοζιδάση (Sigma, Serva)
 - Ρουτίνη, Ολευρωπαΐνη, Κατεχίνη, Γαλλικός Εστέρας της Επιγαλλοκατεχίνης
 - Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu
 - Ελεύθερη ρίζα DPPH (2, 2 – Diphenyl – 1 – picrylhydrazyl radical)
 - Trolox
 - TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine)

- Τριχλωριούχος Σίδηρος (FeCl_3)
- Πυρογαλλόλη
- Αποστειωμένη λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (LDL), (Sigma)
- Ταμπλέτες ρυθμιστικού φωσφορικών (Phosphate buffered saline)
- Θειοβαρβιτουρικό οξύ (Thiobarbituric acid, TBA)
- Ένυδρος θειϊκός χαλκός ($\text{CuSO}_4 \times 5 \text{ H}_2\text{O}$)

5.2 Όργανα

1. HPLC Χρωματογράφος (HP 1050, ανιχνευτής UV-Vis και φθορισμομετρικός HP1046A)
2. GC Χρωματογράφος (6890N Agilent Technologies εφοδιασμένος με 5973 Mass Selective Detector & 7683 Series Injector).
3. Εξατμιστήρας Speed Vac
4. Ζυγός
5. Υδρόλουτρο
6. Φυγόκεντρος
7. Αναδευτήρας (Vortex)
8. Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης (Analytikjena SPECORD 200)
9. Ομογενοποιητής (Ultra Turax)
10. Περιστροφικός Εξατμιστήρας (Rotary Evaporator), BÜCHI, Vacuum Controller V-800
11. Λουτρό Υπερήχων (sonicator)

5.3 Γενικές Πορείες

5.3.1 Προσδιορισμός τοκοφερολών

5.3.1.A Παρασκευή μέσου εκχύλισης

Αρχικά παρασκευάστηκε πυκνό διάλυμα εξανίου/BHT. Το BHT είναι αντιοξειδωτικό, το οποίο προστατεύει τα φυσικά αντιοξειδωτικά των τροφίμων από την οξείδωση. Το πυκνό διάλυμα εξανίου/BHT είχε συγκέντρωση 2 mg/mL. Από το πυκνό αυτό διάλυμα παρασκευάστηκε το αραιό διάλυμα εργασίας με αρραίωση 1:200. Η συγκέντρωση του BHT (MW=220.4) στο διαλύτη εκχύλισης ήταν 10 µg/mL.

5.3.1.B Πειραματική διαδικασία παραλαβής βιταμίνης E από τα νωπά δείγματα ξηρών καρπών

Τα στάδια της πειραματικής διαδικασίας ήταν τα ακόλουθα:

1. Ζυγίστηκε το τρόφιμο (περίπου 0.5 g) σε ζυγό ακριβείας σε δοκιμαστικό σωλήνα με βιδωτό πώμα (Πίνακας 5.3.1).
2. Προστέθηκε διάλυμα εξανίου/BHT (5mL).
3. Έγινε ομογενοποίηση του μίγματος τροφίμου/διαλύτη στον ομογενοποιητή (Ultra Tuxax) για δύο λεπτά και το όργανο εκπλύθηκε με 5mL διαλύματος εξανίου/BHT, προς αποφυγή απωλειών δείγματος. Το υγρό έκπλυσης χρησιμοποιήθηκε για την επόμενη εκχύλιση. Η διαδικασία ομογενοποίησης πραγματοποιήθηκε μόνο μία φορά για κάθε δείγμα, αφού θεωρήθηκε ότι έγινε ικανοποιητική ομογενοποίηση του δείγματος.
4. Το μίγμα τοποθετήθηκε στη φυγόκεντρο (3000 rpm) για 10 λεπτά.
5. Έγινε παραλαβή της οργανικής φάσεως σε νέο σωληνάκι.
6. Προστέθηκε διάλυμα εξανίου/BHT (5mL) στο σωληνάκι με το τρόφιμο.
7. Το μίγμα αναδεύτηκε στο vortex για δύο λεπτά, κατόπιν τοποθετήθηκε στη φυγόκεντρο (3000 rpm) για δέκα λεπτά και έγινε παραλαβή της οργανικής φάσης.
8. Τα στάδια 6-7 επαναλήφθηκαν άλλες 3 φορές με προσθήκη στο δοκιμαστικό σωλήνα με το τρόφιμο, εκ νέου, διαλύτη για ποσοτική παραλαβή. Έγιναν δηλαδή επί συνόλου 5 εκχυλίσσεις.
9. Οι οργανικές φάσεις συλλέχθηκαν και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με εξάτμιση στο Speed Vac (μέχρι ξηρού).

- 10.** Το δείγμα μεταφέρθηκε ποσοτικά, με επαναλαμβανόμενες προσθήκες διαλύτη (χλωροφόρμιο/μεθανόλη 1:1), σε ογκομετρικές φιάλες των 2 mL και συμπληρώθηκε μέχρι όγκου με χλωροφόρμιο/ μεθανόλη 1:1.
- 11.** 500 μ L από το αναδιαλυμένο σε χλωροφόρμιο/μεθανόλη δείγμα τοποθετήθηκε σε vial για την ανάλυση HPLC και 1.5 mL φυλάχθηκε στην κατάψυξη ως απόθεμα.

Πίνακας 5.3.1: Βάρος δειγμάτων και όγκος αναδιάλυσης

Είδος ξηρού καρπού	Βάρος (g)	Όγκος αναδιάλυσης (mL)
Φυστίκι Αιγίνης	0.5057	2
Καρύδι	0.5040	2
Φουντούκι	0.5002	2
Αμύγδαλο	0.5030	2
Κολοκυθόσπορος	0.5044	2
Ηλιόσπορος	0.5012	2

5.3.1.Γ Ανάλυση HPLC

α) Καμπύλες αναφοράς για τις τοκοφερόλες

Ζυγίστηκαν 5 mg α-, γ- και δ- τοκοφερόλης σε ζυγό ακριβείας, τα οποία διαλύθηκαν σε 10 mL μεθανόλης. Ακολούθως παρασκευάστηκε πολυπρότυπο, το οποίο περιείχε τις τοκοφερόλες στις ακόλουθες συγκεντρώσεις: α-τοκοφερόλη 100 μg/mL, γ-τοκοφερόλη 50 μg/mL, δ-τοκοφερόλη 50 μg/mL. Από το διάλυμα πολυπροτύπου ελήφθησαν κατάλληλες ποσότητες, ώστε να παρασκευαστούν διαλύματα, τα οποία περιείχαν την α-, γ- και δ- τοκοφερόλη σε συγκεντρώσεις από 3.25, 1.25, 1.5 μg/mL έως 65, 25 και 30 μg/mL, αντίστοιχα.

Οι εξισώσεις των καμπυλών αναφοράς βάσει των οποίων έγινε ο προσδιορισμός της α-, β-, γ- και δ-τοκοφερόλης ήταν οι ακόλουθες:

α-τοκοφερόλη: $y = 89,469x + 2,4889$

γ-τοκοφερόλη: $y = 489,02x + 3,3128$

δ-τοκοφερόλη: $y = 319,55x + 1,2312$

όπου y = μg τοκοφερόλης και x = εμβαδό κορυφής

β) Μέθοδος χρωματογραφικής ανάλυσης

Χρωματογραφία HPLC αναστρόφου φάσεως με βαθμιδωτή έκλυση.

Στήλη: C18 Nucleosil 100 (4,6×125mm, 5 μm)

Ανιχνευτής: DAD (σειράς φωτοδιοδίων, 214, 254, 280, 295 nm), φθορισμομετρικός ανιχνευτής ($\lambda_{ex}=295$ nm, $\lambda_{em}=330$ nm)

Ροή διαλυτών: 1 mL/min

Πρόγραμμα Βαθμιδωτής Έκλυσης:

Time (min)	H ₂ O (%)	ACN (%)	MeOH (%)	IPA (%)
0	70	17,5	12,5	0
17,5	0	58,3	41,7	0
30	0	58,3	41,7	0
37,5	0	40,8	29,2	30
40	0	58,3	41,7	0
50	70	17,5	12,5	0

Όγκος δείγματος έγχυσης: 50 μL.

5.3.2.Α Πειραματική διαδικασία παραλαβής πολυφαινολών από τα δείγματα των ξηρών καρπών

Τα στάδια της πειραματικής διαδικασίας ήταν τα ακόλουθα:

1. Ζυγίστηκε το τρόφιμο (1 g) σε ζυγό ακριβείας σε δοκιμαστικό σωλήνα με βιδωτό πώμα (Πίνακας 5.3.2).
2. Προστέθηκε διάλυμα ακετόνης/νερού 8:2 (5mL), στα δείγματα των ξηρών καρπών.
3. Έγινε ομογενοποίηση του μίγματος τροφίμου/διαλύτη στον ομογενοποιητή (Ultra Turax) για δύο λεπτά και το όργανο εκπλύθηκε με 5mL διαλύματος ακετόνης/νερού, 8:2, προς αποφυγή απωλειών δείγματος. Το υγρό έκπλυσης χρησιμοποιήθηκε για την επόμενη εκχύλιση. Η διαδικασία ομογενοποίησης πραγματοποιήθηκε μόνο μία φορά για κάθε δείγμα, αφού θεωρήθηκε ότι έγινε ικανοποιητική ομογενοποίηση του δείγματος.
4. Το μίγμα τροφίμου/διαλύτη παρέμεινε όλο το βράδυ σε επαφή για αποτελεσματικότερη παραλαβή των πολυφαινολών.
5. Την επόμενη μέρα το μίγμα τροφίμου/διαλύτη τοποθετήθηκε στη φυγόκεντρο (3000 rpm) για 10 λεπτά.
6. Έγινε παραλαβή της οργανικής φάσεως σε σφαιρική φιάλη.
7. Προστέθηκε διάλυμα ακετόνης/νερού (5mL) στο σωληνάκι με το τρόφιμο.
8. Το μίγμα αναδεύτηκε στο vortex για δύο λεπτά, κατόπιν τοποθετήθηκε στη φυγόκεντρο (3000 rpm) για δέκα λεπτά και έγινε παραλαβή της οργανικής φάσης.
9. Τα στάδια 7-8 επαναλήφθηκαν άλλες 3 φορές με προσθήκη στο δοκιμαστικό σωλήνα με το τρόφιμο, εκ νέου, διαλύτη για ποσοτική παραλαβή. Έγιναν δηλαδή επί συνόλου 5 εκχυλίσεις.
10. Οι οργανικές φάσεις συλλέχθηκαν στη φιάλη και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με εξάτμιση στον περιστροφικό εξεστμιστήρα μέχρι μικρού όγκου. Τελικά το μίγμα μεταφέρθηκε σε δοκιμαστικό σωλήνα και η φιάλη ξεπλύθηκε με 3 mL διαλύματος ακετόνης/νερού και 2 mL μεθανόλη. Οι διαλύτες απομακρύνθηκαν με εξάτμιση στο Speed Vac. Επειδή το νερό ήταν δύσκολο να απομακρυνθεί, κατόπιν τα δείγματα τοποθετήθηκαν για 24 ώρες στο λυοφιλοποιητή (μέχρι ξηρού), μετά από παραμονή κάποιων ωρών στη βαθιά κατάψυξη.

11. Στα σωληνάκια με το ξηρό δείγμα προστέθηκαν 2 mL ακετονιτρίλιο και 3 mL εξάνιο. Η πάνω στιβάδα αποτελείται από το εξάνιο, στο οποίο κατανέμονται τα άπολα συστατικά. Στην κάτω στιβάδα βρίσκεται το ακετονιτρίλιο, στην οποία παραμένουν οι πολικές πολυφαινολικές ενώσεις.
12. Έγινε απόρριψη της στιβάδας του εξανίου.
13. Έγιναν επί συνόλου 2 εκχυλίσεις με εξάνιο.
14. Το μίγμα εξατμίστηκε μέχρι ξηρού στο Speed Vac, στους 45 °C.
15. Το δείγμα μεταφέρθηκε ποσοτικά, με επαναλαμβανόμενες προσθήκες διαλύτη (Μεθανόλη HPLC), σε ογκομετρικές φιάλες των 2 mL και συμπληρώθηκε μέχρι όγκου με μεθανόλη.
16. Έγινε διήθηση του μίγματος με φίλτρο διήθησης (PET 0,45 μm).

Πίνακας 5.3.2: Βάρος δειγμάτων και όγκος αναδιάλυσης

Είδος ξηρού καρπού	Αριθμός δείγματος	Βάρος (g)	Όγκος αναδιάλυσης (mL)
Φιστίκι Αιγίνης	1	0.999	2
	2	1.0008	2
	3	1.0063	2
Καρύδι	1	1.0166	2
	2	1.011	2
	3	1.0159	2
Φουντούκι	1	0.9973	2
	2	1.0082	2
	3	1.0124	2
Αμύγδαλο	1	1.0007	2
	2	1.0013	2
	3	0.9987	2
Κολοκυθόσπορος	1	0.9964	2
	2	0.9959	2
	3	1.008	2
Ηλιόσπορος	1	1.0046	2
	2	1.0085	2
	3	1.0056	2

5.3.2.B Πειραματική διαδικασία παραλαβής πολυφαινολών από τα δείγματα των οσπρίων

Τα στάδια της πειραματικής διαδικασίας ήταν τα ακόλουθα:

1. Ζυγίστηκε το ομογενοποιημένο τρόφιμο (0.5 g) σε ζυγό ακριβείας σε δοκιμαστικό σωλήνα με βιδωτό πώμα (Πίνακας 5.3.3).
2. Προστέθηκε μεθανόλη (5 mL) στα δείγματα των οσπρίων.
3. Το μίγμα αναδεύτηκε στο vortex για δύο λεπτά.
4. Το μίγμα τροφίμου/διαλύτη παρέμεινε όλο το βράδυ σε επαφή για αποτελεσματικότερη παραλαβή των πολυφαινολών.
5. Την επόμενη μέρα το μίγμα τροφίμου/διαλύτη τοποθετήθηκε στη φυγόκεντρο (3000 rpm) για 10 λεπτά.
6. Έγινε παραλαβή της οργανικής φάσεως σε νέο σωληνάκι.
7. Τα στάδια 2, 3 και 5 επαναλήφθηκαν άλλες 4 φορές με προσθήκη στο δοκιμαστικό σωλήνα με το τρόφιμο, εκ νέου, διαλύτη για ποσοτική παραλαβή. Έγιναν δηλαδή επί συνόλου 5 εκχυλίσσεις.
8. Οι οργανικές φάσεις συλλέχθηκαν και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με εξάτμιση στο Speed Vac (μέχρι ξηρού).
9. Το δείγμα αναδιαλύθηκε σε 1 mL Μεθανόλη HPLC, τοποθετήθηκε στο λουτρό υπερήχων για 15 λεπτά και διηθήθηκε με φίλτρο διήθησης (PET 0,45 μ m).

Πίνακας 5.3.3: Βάρος και Υγρασία δειγμάτων και όγκος αναδιάλυσης

Είδος οσπρίου	Ποικιλία οσπρίου	Υγρασία (% fw)	Βάρος (g)	Όγκος αναδιάλυσης (mL)
<u>Φασόλια</u>	Μικρά	70.5	0.5003	1
	Μεσαία	68.4	0.4975	1
	Μεγάλα	71.4	0.5029	1
	Γίγαντες	69.1	0.5051	1
	Ελέφαντες	74.2	0.5046	1
	Μαυρομάτικα	72.0	0.4996	1
	Μπαρπουνοφάσολα	72.0	0.5052	1
<u>Κουκιά</u>	-	73.5	0.4991	1
<u>Ρεβίθια</u>	-	66.9	0.4978	1
<u>Φάβα</u>	Πράσινη	72.5	0.5063	1
	Κίτρινη	67.8	0.4954	1
<u>Φακές</u>	Χοντρές	76.5	0.5004	1
	Ψιλές	72.0	0.5015	1

5.3.2.Γ Προετοιμασία δειγμάτων για την ανάλυση με αέρια χρωματογραφία. Αντίδραση σιλυλίωσης

Τα στάδια της προετοιμασίας του δείγματος ήταν τα ακόλουθα:

1. Από τα αναδιαλυμένα σε μεθανόλη δείγματα ξηρών καρπών και οσπρίων, 100 μL μεταφέρθηκαν στα vials για σιλυλίωση.
2. Στο κάθε vial προστέθηκαν 50 μL εσωτερικού προτύπου (Internal Standard) 2 $\mu\text{g/mL}$.
3. Το μίγμα στο vial τοποθετήθηκε σε ρεύμα αζώτου και έγινε εξάτμιση μέχρι ξηρού.
4. Αφού εξατμίστηκε ο διαλύτης, στο μίγμα πολυφαινολών προστέθηκαν 250 μL σιλυλιωτικού αντιδραστηρίου BSTFA.
5. Τα vials με το μίγμα πολυφαινολών και σιλυλιωτικού αντιδραστηρίου τοποθετήθηκαν σε υδρόλουτρο για 20 λεπτά στους 70 $^{\circ}\text{C}$.

5.3.2.Δ Προσδιορισμός πολυφαινολικών συστατικών και τερπενικών οξέων με αέρια χρωματογραφία

1 μL από το σιλυλιωμένο δείγμα εισάγεται στον αεριοχρωματογράφο για ανάλυση. Ο αέριος χρωματογράφος είναι ένα σύστημα της Agilent (Wallbronn, Germany) HP series 6890 N εφοδιασμένος με ανιχνευτή HP 5973 MS (EI, ηλεκτρονιακού ιονισμού 70 eV), εισαγωγή split - splitless και αυτόματο δειγματολήπτη HP 7683.

Για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό 28 πολυφαινολικών συστατικών και 2 τερπενικών οξέων των ξηρών καρπών και των οσπρίων, τα οποία επελέγησαν ως συστατικά – στόχοι στα μεθανολικά δείγματα, αναπτύχθηκε μια ευαίσθητη αεριοχρωματογραφική μέθοδος εκλεκτικής παρακολούθησης ιόντων (Single Ion Monitoring).

Η αεριοχρωματογραφική στήλη που χρησιμοποιήθηκε για το διαχωρισμό ήταν η HP-5MS (Agilent) 30 m x 0.2mm x 0.25 μm . Ο εισαγωγέας τέθηκε στους 250 $^{\circ}\text{C}$ και η γραμμή μεταφοράς του δείγματος από την αεριοχρωματογραφική στήλη στον ανιχνευτή MSD (MSD transfer line) στους 300 $^{\circ}\text{C}$. Η εισαγωγή 1 μL δείγματος έγινε με σχάση δείγματος 20:1 (split ratio 20:1). Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε He με ροή 0.6 mL/min. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα του φούρνου του αεριοχρωματογράφου που εφαρμόσθηκε για το διαχωρισμό ήταν: 70 $^{\circ}\text{C}$ για 5 λεπτά,

70-130 °C με ρυθμό ανόδου 15 °C / λεπτό, 130-160 °C με ρυθμό ανόδου 4 °C / λεπτό και παραμονή για 15 λεπτά και τέλος άνοδος από 160 – 300 °C με ρυθμό 10 °C / λεπτό και παραμονή στην τελική θερμοκρασία για 15 λεπτά.

Κατ’ αυτή τη μέθοδο, η ανίχνευση των συστατικών βασίζεται στην παρουσία στο δείγμα τριών χαρακτηριστικών για κάθε συστατικό ιόντων, σε χρόνο κατακράτησης (RT) $\pm$ 0.05 min του αναμενόμενου χρόνου κατακράτησης των συστατικών στα πρότυπα διαλύματα και ο ποσοτικός προσδιορισμός βασίζεται σε ένα από τα τρία ιόντα που ορίζεται ως ιόν στόχος (**target**), ενώ επιβεβαιώνεται από τους λόγους της έντασης απόκρισης των άλλων 2 ιόντων (**qualifiers**) προς την ένταση απόκρισης του ιόντος στόχου στο δείγμα. Στον Πίνακα 5.3.4 φαίνονται οι χρόνοι κατακράτησης και τα χαρακτηριστικά ιόντα που επελέγησαν για τον προσδιορισμό του κάθε συστατικού.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός έγινε με τη μέθοδο εσωτερικού προτύπου. Ως τέτοιο επελέγη η 3-(4- υδροξυ - φαινυλο) -1- προπανόλη. Μια σειρά προτύπων διαλυμάτων – μιγμάτων των συστατικών που προσδιορίζονται – οδήγησε στην κατασκευή μιας για κάθε συστατικό καμπύλης αναφοράς σε περιοχή συγκεντρώσεων από 3500 – 80 ng/mL. Οι καμπύλες αναφοράς ήταν γραμμικές με καλούς συντελεστές γραμμικής συσχέτισης ($R^2 > 0.996$) για όλες τις ουσίες που προσδιορίστηκαν.

Πίνακας 5.3.4: Χρόνοι κατακράτησης και χαρακτηριστικά ιόντα που επελέγησαν για τον προσδιορισμό του κάθε συστατικού.

A/A	ΟΝΟΜΑ	RT	Target Ion	Qualifiers
1	Βανιλίνη	17,30	194	209
2	Κινναμικό οξύ	17,47	205	220
3	Τυροσόλη	18,28	179	267, 282
4	p- Υδροξύ βενζοϊκό οξύ	20,02	267	223, 193
5	p- Υδροξύ φαινυλοξικό οξύ	20,48	252	296, 281
6	Φλωρετικό οξύ	26,21	192	310
7	Βαννιλικό οξύ	26,62	297	267, 312
8	Υδροξύ-τυροσόλη	26,89	267	370
9	Ομοβαννιλικό οξύ	27,18	326	267, 311
10	ο- Κουμαρικό οξύ	29,42	293	308, 147
11	Πρωτοκατεχικό οξύ	30,91	193	355, 370
12	3-4 διυδροξύ φαινυλοξικό οξύ	31,77	384	267, 179
13	Συριγγικό οξύ	34,83	327	342, 312
14	p- Κουμαρικό οξύ	35,74	308	293, 219
15	Γαλλικό οξύ	36,69	281	458, 443
16	Φερουλικό οξύ	38,78	338	323, 308
17	Καφεϊκό οξύ	39,49	396	219, 381
18	Σιναπικό οξύ	40,76	368	353, 338
19	Ρεσβερατρολή	45,06	444	445, 443
20	Χρυσίνη	45,28	383	384
21	Επικατεχίνη	46,26	368	355, 474
22	Ναριγκενίνη	46,30	473	296
23	Κατεχίνη	46,46	368	355, 474
24	Γενιστεΐνη	46,98	473	
25	Καμπερόλη	48,24	559	560
26	Χλωρογενικό οξύ	48,88	345	307, 324
27	Κερκετίνη	49,57	647	559, 575
28	Μυρισετίνη	50,30	735	647, 575
29	Ολεανολικό οξύ	56,28	203	320, 482
30	Ουρσολικό οξύ	57,40	203	320, 482
Εσ.Πρ.	3-(4- υδροξύ - φαινυλο) -1- προπανόλη (εσωτερικό πρότυπο)		206	191, 179

5.3.2.E Υδρολύσεις πολυφαινολών

A. Οξίνη Υδρόλυση

Η όξίνη υδρόλυση εφαρμόστηκε απ' ευθείας στο δείγμα του ξηρού καρπού (α) πριν (δείγμα ως έχει κονιοποιημένο) και (β) μετά από απολίπανση. Σε δείγμα ξηρού καρπού (φιστίκι Αιγίνης, 200 mg) προστέθηκαν 8 mL διαλύματος μεθανόλης/νερού, 65:35 που περιείχε 2 g/L BHT και ακολούθως 2 mL HCl 6 M. Το μίγμα θερμάνθηκε κατ' αντιρροή (reflux) στους 90 °C για δύο ώρες και κατόπιν αφέθηκε, υπό θερμοκρασία δωματίου, να λάβει τη θερμοκρασία περιβάλλοντος. Έγινε απομάκρυνση της μεθανόλης υπό ελαττωμένη πίεση και παραλαβή των πολυφαινολών με εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα (5 × 3 mL).

B. Ενζυμική Υδρόλυση

Η μέθοδος βασίστηκε στην εργασία των Takahashi R et al. (2005). Χρησιμοποιήθηκε β-γλυκοζιδάση δύο εταιρειών, Sigma και Serva. Για την παρασκευή του διαλύματος του ενζύμου ζυγίστηκαν 20 mg ενζύμου Serva ή 15 mg ενζύμου Sigma κατά περίπτωση, προστέθηκε ασκορβικό οξύ (75 mg) και 5 mL ρυθμιστικού διαλύματος οξικών 0.2 M. Η ενζυμική υδρόλυση έγινε τόσο σε εκχυλίσματα ξηρών καρπών, όσο και σε πρότυπα πολυφαινολών. Σε μία τυπική πειραματική πορεία στο ξηρό δείγμα προστέθηκε ρυθμιστικό διάλυμα οξικών (0.5 mL, 0.2 M, pH=4) και ακολούθως 0.3 mL διαλύματος ενζύμου. Το όλο παρέμεινε υπό 37 °C για μία νύχτα (24 ώρες). Το μίγμα εκχυλίστηκε με διαιθυλαιθέρα (3 × 3 mL) και κατόπιν με οξικό αιθυλεστέρα (2 × 3 mL). Έγιναν δοκιμαστικά πειράματα ενζυμικής υδρόλυσης στα εξής δείγματα:

1. Εκχύλισμα ξηρού καρπού (φιστίκι Αιγίνης, αμύγδαλο)
2. Απολιπασμένο εκχύλισμα ξηρού καρπού (φιστίκι Αιγίνης)
3. Δείγμα ξηρού καρπού κονιοποιημένο(φιστίκι Αιγίνης)
4. Πρότυπο ολεωρωπαΐνης
5. Πρότυπο ρουτίνης
6. Πρότυπο κατεχίνης

Επιπλέον για τη διερεύνηση της επίδρασης της συγκέντρωσης του ενζύμου, χρησιμοποιήθηκε διάλυμα που περιείχε 30 mg ενζύμου Sigma έναντι των 15 mg ενζύμου Sigma που χρησιμοποιήθηκαν αρχικά.

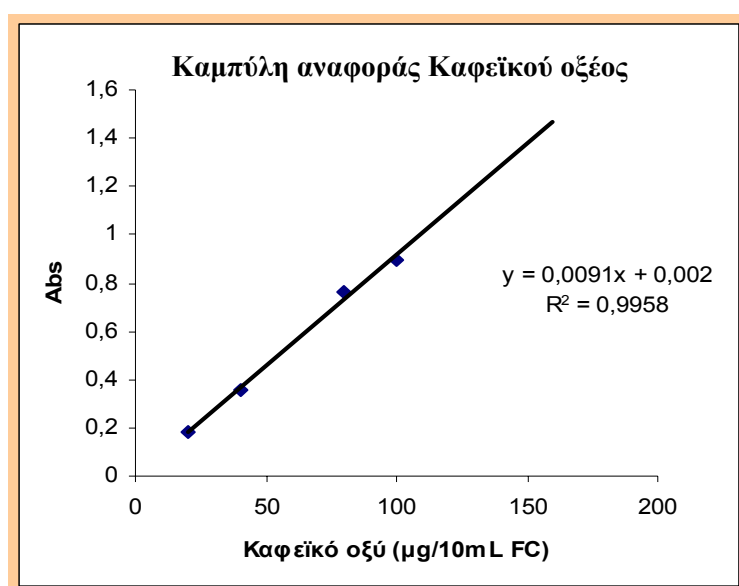
Γ. Αλκαλική Υδρόλυση

Στην περίπτωση αυτή έγιναν πειράματα σε πρότυπα πολυφαινολών (ολευρωπαΐνη, κατεχίνη, γαλλικό εστέρα της επιγαλλοκατεχίνης). Σε μία τυπική πειραματική πορεία, σε 2 mg προτύπου προστέθηκαν 2 mL NaOH 1M υπό N₂. Το δείγμα παρέμεινε για τέσσερις ώρες υπό θερμοκρασία δωματίου (με περιοδική ανάδευση). Ακολούθως έγινε εξουδετέρωση με 2 mL HCl 1M.

5.3.3 Φωτομετρικοί προσδιορισμοί

5.3.3.A Προσδιορισμός του συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

1. Τα δείγματα των ξηρών καρπών αραιώνονται 1:1 με μεθανόλη και τα δείγματα των οσπρίων χρησιμοποιούνται ως έχουν (§ 5.3.2.A, 5.3.2.B). Σε δοκιμαστικό σωλήνα των 10 mL τοποθετούνται 100 μL από τα προαναφερθέντα δείγματα. Ακολούθως προστίθεται απιονισμένο νερό (5 mL) και αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (0,5 mL). Ανακινούμε καλά και αναμένουμε 3 min.
2. Προστίθεται κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3 , 35% w/v, 1 mL) και το όλο συμπληρώνεται μέχρι τελικού όγκου 10 mL με απιονισμένο νερό (3,4 mL απιονισμένο νερό).
3. Τα δείγματα παραμένουν στο σκοτάδι για 1 ώρα.
4. Ακολουθεί ανάδευση των δειγμάτων, τοποθέτηση σε κυψελίδες και φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 725 nm.
5. Η συγκέντρωση των πολυφαινολών στο δείγμα υπολογίζεται με τη χρήση καμπύλης αναφοράς καφεϊκού οξέος και εκφράζεται ως ισοδύναμα καφεϊκού οξέος (Caffeic Acid Equivalent, CAE).



Σχήμα 5.3.1: Καμπύλη αναφοράς καφεϊκού οξέος

Σημείωση: Παράλληλα με τη παραπάνω επεξεργασία των δειγμάτων, πραγματοποιείται τυφλός προσδιορισμός, ακολουθώντας τα στάδια 1-5, με τη διαφορά ότι στο στάδιο 1 προστίθεται μεθανόλη (100 μ L) αντί του δείγματος. Πριν ξεκινήσουμε τη διαδικασία της φωτομέτρησης μηδενίζουμε το φωτόμετρο με δύο τυφλά στις δύο θέσεις. Αφού μηδενίσουμε, αφαιρούμε το μπροστινό τυφλό δείγμα και σε εκείνη τη θέση τοποθετούμε το δείγμα που θέλουμε να φωτομετρήσουμε.

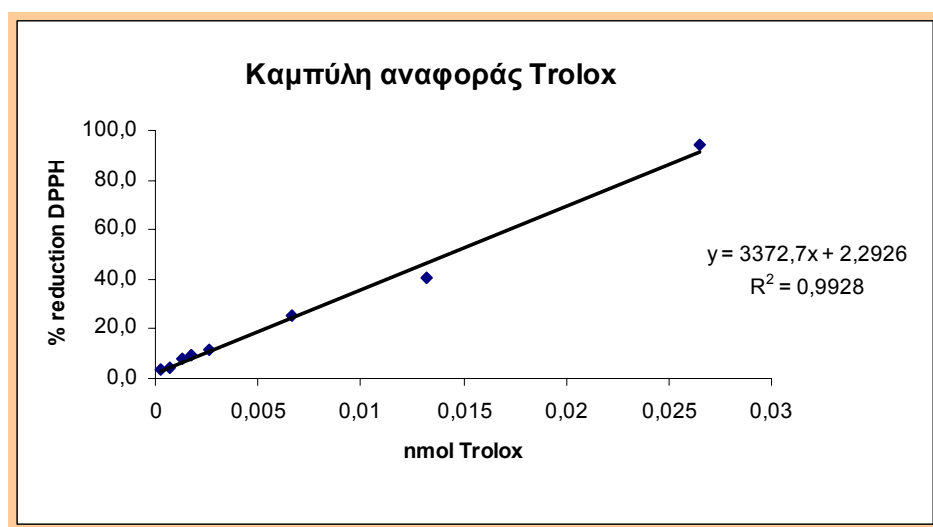
5.3.3.B Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1-διφαινόλο-2-πικρυλο-ϋδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH')

1. Τα δείγματα των οσπρίων και των ξηρών καρπών αραιώνονται με μεθανόλη. Έγιναν δοκιμές με διάφορες αραιώσεις, ώστε να καταλήξουμε στις συγκεντρώσεις που έδιναν απορροφήσεις εντός των ορίων γραμμικότητας της καμπύλης αναφοράς. Οι τελικές αραιώσεις των δειγμάτων φαίνονται στον πίνακα 5.3.5.
2. Ακολουθεί ανάδευση σε Vortex.
3. Σε νέο δοχείο Eppendorf τοποθετούνται με πιπέτα, 25 μ L από τα αραιωμένα δείγματα. Ακολουθεί προσθήκη 975 μ L DPPH 0,06 mM και ανάδευση στο Vortex.
4. Το δείγμα αφήνεται ν' αντιδράσει για 30 min στο σκοτάδι.
5. Τοποθετούμε τα δείγματα σε κυψελίδες και φωτομετρούμε στα 515 nm.
6. Παράλληλα κατασκευάζεται καμπύλη αναφοράς Trolox (ανάλογο της Βιταμίνης E με ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH) και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα Trolox (Σχήμα 5.3.2).

Σημείωση: Πριν προχωρήσουμε στη φωτομέτρηση μηδενίζουμε το φωτόμετρο με δύο τυφλά δείγματα. Στα τυφλά δείγματα τοποθετούμε μόνο μεθανόλη. Αφού μηδενίσουμε, αφαιρούμε το μπροστινό τυφλό δείγμα και σε εκείνη τη θέση τοποθετούμε το δείγμα που θέλουμε να φωτομετρήσουμε. Παράλληλα γίνεται φωτομέτρηση του διαλύματος DPPH' που χρησιμοποιείται ως αντιδραστήριο των πειραμάτων.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς Trolox

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης αναφοράς ζυγίστηκαν 5 mg Trolox (MW 250.32) και διαλύθηκαν σε 10 mL μεθανόλη. Αυτό ήταν το πυκνό διάλυμα εργασίας (2 mM). Με διαδοχικές αραιώσεις του πυκνού διαλύματος Trolox παρασκευάστηκαν διαλύματα με τις ακόλουθες συγκεντρώσεις: 1, 0.66, 0.5, 0.25, 0.1, 0.066, 0.05, 0.025 και 0.01 mM. Ακολούθως, πραγματοποιήθηκαν τα βήματα 3-5 και προέκυψε η καμπύλη που απεικονίζεται στο σχήμα 5.3.2.



Σχήμα 5.3.2: Καμπύλη αναφοράς Trolox

Πίνακας 5.3.5: Τελικές αραιώσεις δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη μέθοδο DPPH

	Δείγμα	Αραίωση (v/v)
<u>Όσπρια</u>	-	1:1
<u>Ξηροί καρποί</u>		
Φιστίκι Αιγίνης	1	1:40
	2	1:40
	3	1:40
Καρύδι	1	1:100
	2	1:100
	3	1:100
Φουντούκι	1	1:20
	2	1:20
	3	1:20
Αμύγδαλο	1	1:20
	2	1:1
	3	1:1
Ηλιόσπορος	1	1:50
	2	1:50
	3	1:50
Κολοκυθόσπορος	1	1:1
	2	1:1
	3	1:1

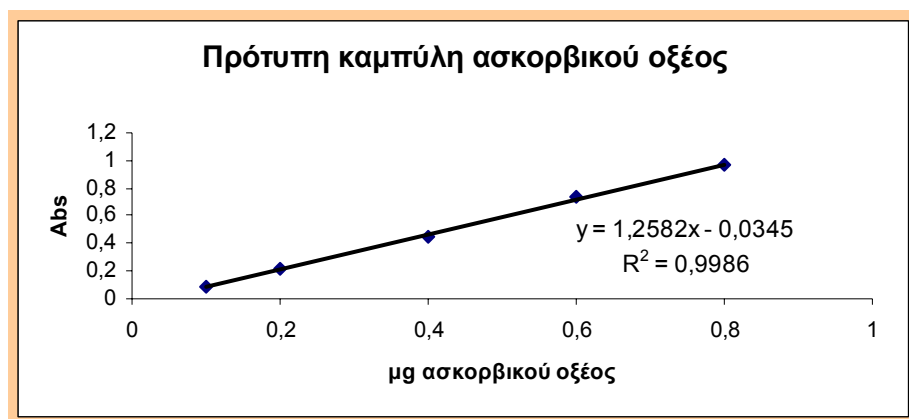
5.3.3.Γ Προσδιορισμός αναγωγικής δύναμης εκχυλισμάτων ξηρών καρπών και οσπρίων μέσω αναγωγής του Fe^{+3} σε Fe^{+2}

1. Σε ένα Eppendorf αναμιγνύονται 50 μ L αραιωμένου δείγματος (Πίνακας 5.3.5) με 50 μ L $FeCl_3$ (3 mM σε 5 mM κιτρικού οξέος).
2. Ακολουθεί καλή ανάδευση σε vortex.
3. Το μίγμα επωάζεται για 30 min σε υδρόλουτρο στους 37°C.
4. Στο επωασμένο δείγμα προστίθενται 900 μ L TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine, 1mM σε 0.05 M HCl). Ο Fe^{+2} που έχει προκύψει δημιουργεί έγχρωμο (μπλε) σύμπλοκο με το TPTZ.
5. Το δείγμα παραμένει για 10 min στο σκοτάδι και ακολουθεί μέτρηση της απορρόφησης στα 620 nm.
6. Παράλληλα κατασκευάζεται καμπύλη αναφοράς Βιταμίνης C (η Βιταμίνη C ανάγει το Fe^{3+} σε Fe^{2+}) και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα ασκορβικού οξέος.

Σημείωση: Παρασκευάζουμε ένα τυφλό για κάθε δείγμα. Συγκεκριμένα, σε ένα νέο Eppendorf αναμιγνύονται 100 μ L αραιωμένου δείγματος (Πίνακας 5.3.5) και αντί για $FeCl_3$ προσθέτουμε 100 μ L απεσταγμένο νερό. Επίσης, προσθέτουμε 1800 μ L TPTZ, αντί των 900 μ L (στάδιο 4). Πριν προχωρήσουμε στη φωτομέτρηση ενός δείγματος, μηδενίζουμε το φωτόμετρο με το αντίστοιχο τυφλό δείγμα στις δύο θέσεις του φωτομέτρου. Αφού μηδενίσουμε, αφαιρούμε το μπροστινό τυφλό δείγμα και σε εκείνη τη θέση τοποθετούμε το δείγμα που θα φωτομετρήσουμε.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς ασκορβικού οξέος

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης αναφοράς ζυγίστηκαν 5 mg ασκορβικού οξέος (MW 176.13) και διαλύθηκαν σε 10 mL μεθανόλη. Αυτό ήταν το πυκνό διάλυμα εργασίας (0.5 mg/mL, 2.8 mM). Με διαδοχικές αραιώσεις του πυκνού διαλύματος ασκορβικού οξέος παρασκευάστηκαν διαλύματα με τις ακόλουθες συγκεντρώσεις: 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 0.75 και 1 μ g/mL. Ακολούθως, πραγματοποιήθηκαν τα βήματα 3-5 και προέκυψε η καμπύλη που απεικονίζεται στο σχήμα 5.3.3.



Σχήμα 5.3.3: Πρότυπη καμπύλη ασκορβικού οξέος

5.3.3.Δ Οξείδωση της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας *in vitro*

Αντιδραστήρια

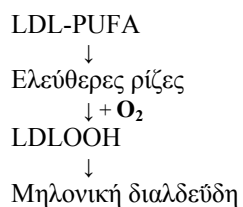
1. Αποστειρωμένη λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (LDL) και λυοφιλοποιημένη από 1 mL διάλυμα LDL απομονωμένης από άνθρωπο σε 0.15 M NaCl και 0.01% EDTA (pH=7.4). Σύμφωνα με την εταιρεία, οι περιεχόμενες πρωτεΐνες είναι 5 mg/400 mg.

Διαλύματα Εργασίας:

1. Πυκνό διάλυμα 10 mM $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$: 0.6225 g $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$ /250 mL. Από το πυκνό διάλυμα των 10 mM μεταφέρεται 0.5 mL σε ογκομετρική φιάλη των 250 mL και συμπληρώνεται ο όγκος με H_2O μέχρι τη χαραγή. Δηλαδή γίνεται αραίωση 1:500 και η συγκέντρωση του αραιωμένου διαλύματος εργασίας είναι 20 μM .
2. Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών σε ισότονο διάλυμα (PBS): Μία ταμπλέτα ρυθμιστικού φωσφορικών διαλύεται σε 200 mL υπερκαθαρού νερού. Το προϊόν είναι 0.01 M ρυθμιστικού φωσφορικών, 0.0027 M KCl και 0.137 M NaCl (pH 7.4).

Αρχή της μεθόδου

Σύντομη παραμονή της LDL πριν από την προσθήκη του οξειδωτικού παράγοντα οδηγεί στο σχηματισμό περιορισμένου αριθμού μορίων LDLOOH, η παρουσία των οποίων είναι αναγκαία συνθήκη για την έναρξη της οξειδωτικής διεργασίας. Η αναγωγή του Cu^{+2} σε Cu^{+1} πραγματοποιείται από την α -τοκοφερόλη στα φωσφολιπίδια της LDL, από τα οποία έλκεται ο Cu^{+2} . Η απώλεια του αντιοξειδωτικού οδηγεί σε αναγωγή των ιόντων και ταχύτατη οξείδωση των λιπιδίων σε LDLOOH και αλδεΐδες, με κυριότερη τη μηλονική διαλδεΐδη (Σχήμα 5.3.4).



Σχήμα 5.3.4: Οξείδωση της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL)

Αναλυτική πορεία

1. Σε δοκιμαστικό σωλήνα παρασκευάζεται εναιώρημα LDL σε PBS (1 mg LDL/mL PBS), το οποίο ανακινείται ισχυρά σε vortex για 10 λεπτά. Το εναιώρημα παραμένει σε ηρεμία για 5 λεπτά και ακολούθως φυγοκεντρείται στις 2000 στροφές για 5 λεπτά. Το υπερκείμενο μεταφέρεται σε άλλο δοκιμαστικό σωλήνα και φυλάσσεται στο ψυγείο, μέχρι να χρησιμοποιηθεί.
2. Παρασκευάζεται μίγμα από τα τρία δείγματα που αναλύθηκαν για κάθε ξηρό καρπό. Συγκεκριμένα, λαμβάνονται 50 μL από κάθε δείγμα (§ 5.3.2.A) και προκύπτει το μίγμα του κάθε ξηρού καρπού (150 μL). Από αυτό το διάλυμα, λαμβάνονται 50 μL , εξατμίζονται μέχρι ξηρού υπό ρεύμα αζώτου και αναδιαλύονται σε συγκεκριμένο όγκο αιθανόλης όπως φαίνεται στον πίνακα 5.3.6. Στη συνέχεια γίνεται ακόμα μία αραιώση σε αιθανόλη: 1/5 στα διαλύματα του αμυγδάλου και του φουντουκιού, 1/7 στο διάλυμα φιστικιού Αιγίνης και 1/14 στο διάλυμα καρυδιού.
3. 10 μL από το αραιωμένο διάλυμα προστίθενται σε δοκιμαστικό σωλήνα με 900 μL PBS. Ακολούθως, προστίθενται 100 μL LDL και 990 μL $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$ 20 μM .
4. Ταυτόχρονα, σε δεύτερο δοκιμαστικό σωλήνα παρασκευάζεται μίγμα LDL, χωρίς προσθήκη αντιοξειδωτικού, με 10 μL αιθανόλης, 900 μL PBS, 100 μL LDL και 990 μL $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$ 20 μM .
5. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες πωματίζονται, αναδεύονται ήπια και το περιεχόμενό τους μεταφέρεται σε κυψελίδες χαλαζία, οι οποίες επωάζονται στους 37 °C.
6. Η παραγωγή των προϊόντων οξείδωσης της LDL μετρείται ανά 10 λεπτά στο φωτόμετρο στα 234 nm.
7. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιήθηκε για όλα τα δείγματα ξηρών καρπών.

Σημείωση: Τα διαλύματα μετρούνται ως προς δείγμα αναφοράς, το οποίο περιέχει PBS και $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$ 20 μM σε αναλογία 1/1.

Πίνακας 5.3.6: Όγκος αναδιάλυσης ξηρών καρπών

Είδος ξηρού καρπού	Βάρος Δείγματος (g)	Μέσο βάρος δείγματος (g)*	Όγκος εκχυλίσματος που απαιτείται για την προστασία της LDL (μL)	Μέσο βάρος δείγματος στα 50μL εκχυλίσματος (mg)	Όγκος αιθανόλης (mL)
φιστίκι Αιγίνης 1	0,9990	1,0020	0,138977	24,975	5
φιστίκι Αιγίνης 2	1,0008				
φιστίκι Αιγίνης 3	1,0063				
αμύγδαλο 1	1,0007	1,0002	0,139227	25,00583	3,591
αμύγδαλο 2	1,0013				
αμύγδαλο 3	0,9987				
καρύδι 1	1,0166	1,0145	0,137269	25,415	5
καρύδι 2	1,0110				
καρύδι 3	1,0159				
φουντούκι 1	0,9973	1,0060	0,138433	25,14917	3,612
φουντούκι 2	1,0082				
φουντούκι 3	1,0124				

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6°

Αποτελέσματα και συζήτηση

6.1 Γενικά

Ανάμεσα στα τρόφιμα που καταναλώνονται ευρέως στην Ελλάδα περιλαμβάνονται οι ξηροί καρποί και τα όσπρια. Τα τρόφιμα αυτά περιέχονται στην πυραμίδα της Μεσογειακής Διατροφής. Ερευνητικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι η υιοθέτηση των διατροφικών οδηγιών που απεικονίζονται στην πυραμίδα αυτή έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του κινδύνου εμφάνισης νόσων που σχετίζονται άμεσα με τη διατροφή.

Η πυραμίδα της Μεσογειακής Διατροφής περιλαμβάνει την κατανάλωση οσπρίων και ξηρών καρπών σε εβδομαδιαία βάση. Τα όσπρια, οι ξηροί καρποί και οι ελιές αποτελούν μαζί μια ομάδα τροφίμων (Σχήμα 1.1). Τα όσπρια δίνουν ενέργεια, έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, είναι πλούσια σε φυτικές ίνες, πρωτεΐνες και σίδηρο. Οι ξηροί καρποί έχουν κατά κανόνα υψηλή περιεκτικότητα σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και είναι πλούσιοι σε φυτικές ίνες και βιταμίνες. Εκτός όμως από αυτά τα μακροσυστατικά, οι ξηροί καρποί και τα όσπρια, περιέχουν και κάποια λειτουργικά συστατικά, τα οποία παρέχουν ευεργετήματα στην ανθρώπινη υγεία. Ο ερευνητικός στόχος ήταν να προσδιοριστούν τα αντιοξειδωτικά συστατικά που περιέχονται στους ξηρούς καρπούς και στα όσπρια, καθώς και η αντιοξειδωτική δράση αυτών των τροφίμων.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των τοκοφερολών έγινε με υγρή χρωματογραφία (HPLC), ενώ των πολυφαινολών και των υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων (HPTA) με αέρια χρωματογραφία/φασματοσκοπία μάζας (GC/MS). Η αντιοξειδωτική δράση προσδιορίστηκε με φασματοφωτομετρικές μεθόδους και συγκεκριμένα με τις μεθόδους Folin-Ciocalteu, DPPH και FRAP, ενώ μελετήθηκε και η οξείδωση της LDL.

6.2 Προσδιορισμός τοκοφερολών και πολυφαινολών στους ξηρούς καρπούς και στα όσπρια

6.2.1 Προσδιορισμός τοκοφερολών

6.2.1.A Επιλογή κατάλληλου διαλύτη εκχύλισης για ποσοτική παραλαβή των τοκοφερολών από τους ξηρούς καρπούς

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των τοκοφερολών στα τρόφιμα έγινε με HPLC μετά από εκχύλισή τους με εξάνιο, το οποίο είναι τυπικός διαλύτης παραλαβής λίπους. Οι τοκοφερόλες είναι λιποδιαλυτά συστατικά και κατά συνέπεια ένας διαλύτης που παραλαμβάνει τα λιπαρά του τροφίμου, ταυτόχρονα παραλαμβάνει και τις τοκοφερόλες.

Η επιλογή του εξανίου ως διαλύτη εκχύλισης προέκυψε από τα αποτελέσματα προηγούμενων πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο σε άλλα τρόφιμα (Πτυχιακή Μελέτη Ιωάννου Μ., 2005). Συγκεκριμένα, για την εκχύλιση των τοκοφερολών δοκιμάστηκαν 3 διαφορετικοί διαλύτες: εξάνιο, χλωροφόρμιο και μεθανόλη. Όπως έδειξε η ανάλυση δείγματος τροφίμου, εκχυλισμένου και με τους 3 διαλύτες (εξάνιο, χλωροφόρμιο, μεθανόλη) καλύτερη παραλαβή των τοκοφερολών επιτεύχθηκε με το εξάνιο. Επίσης έγιναν δοκιμές για εύρεση της κατάλληλης αναλογίας τροφίμου/ποσότητας διαλύτη εκχύλισης. Δοκιμάστηκε η εκχύλιση 1 g ξηρού καρπού (εις πενταπλούν) με 1.5, 3 και 5 mL εξάνιο/BHT. Καλύτερα αποτελέσματα ελήφθησαν με τη χρήση 5 mL διαλύτη.

6.2.1.B Περιεχόμενο ξηρών καρπών σε τοκοφερόλες

Στον πίνακα 6.2.1 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των τοκοφερολών στους ξηρούς καρπούς. Οι συγκεντρώσεις των τοκοφερολών έχουν εκφραστεί σε mg/100 g νωπού τροφίμου.

Πίνακας 6.2.1: Περιεκτικότητα ξηρών καρπών σε τοκοφερόλες

Είδος ξηρού καρπού	Τοκοφερόλες (mg/100 g fw)			
	α-τοκοφερόλη	(β+γ)-τοκοφερόλη	δ-τοκοφερόλη	Ολικές τοκοφερόλες
Αμύγδαλο	28,90	1,85	0,04	30,79
Καρύδι	nd	8,09	2,74	10,83
Φιστίκι Αιγίνης	nd	15,12	0,44	15,56
Φουντούκι	11,15	0,91	nd	12,06
Ηλιόσπορος	40,58	0,83	0,08	41,49
Κολοκυθόσπορος	0,88	20,76	1,23	22,87

Η περιεκτικότητα των ξηρών καρπών που μελετήθηκαν σε βιταμίνη Ε κατά φθίνουσα σειρά ήταν η εξής: ηλιόσπορος (41.49 mg/100 g fw) > αμύγδαλο (30.79 mg/100 g fw) > κολοκυθόσπορος (22.87 mg/100 g fw) > φιστίκι Αιγίνης (15.56 mg/100 g fw) > φουντούκι (12.06 mg/100 g fw) > καρύδι (10.83 mg/100 g fw).

Τα επίπεδα της α-τοκοφερόλης κυμάνθηκαν από μη ανιχνεύσιμα (φιστίκι Αιγίνης και καρύδι) έως 40.58 mg/100 g στον ηλιόσπορο. Η α-τοκοφερόλη ήταν το κύριο ομόλογο του μίγματος των τοκοφερολών στα δείγματα του αμυγδάλου, του φουντουκιού και του ηλιόσπορου. Στην έρευνα των M Kornsteiner et al (2006) το περιεχόμενο σε α-τοκοφερόλη είναι υψηλότερο στα φουντούκια (MO = 31.4 mg/100 g ελαίου) και στα αμύγδαλα (MO = 24.2 mg/100 g ελαίου) σε σχέση με τους άλλους ξηρούς καρπούς που μελετήθηκαν, όπως ήταν τα φιστίκια, τα καρύδια τύπου πεκάν, τα κουκουνάρια, τα καρύδια, τα cashews, τα macadamias και τους Brazil nuts. Στην παρούσα μελέτη τα αμύγδαλα έχουν υψηλό περιεχόμενο σε α-τοκοφερόλη, αλλά το υψηλότερο έχει ο ηλιόσπορος. Επίσης, οι Maguire et al. (2004) ανέφεραν ότι η α-τοκοφερόλη ήταν η κύρια τοκοφερόλη στα αμύγδαλα και στα φουντούκια, κάτι που συμφωνεί με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Ο ηλιόσπορος, στον οποίο η α-τοκοφερόλη είναι το κύριο ομόλογο τοκοφερολών, δε μελετήθηκε στις προαναφερθείσες μελέτες. Επιπλέον, οι Kornsteiner et al. (2006) ανέφεραν ότι η α-τοκοφερόλη δεν ανιχνεύθηκε στα καρύδια και στους καρπούς *Pistacia vera* L (κοινώς

φιστίκια Αιγίνης). Αυτό το δεδομένο επιβεβαιώθηκε και από την παρούσα μελέτη. Οι Fukuda και συν. (2003) αναφέρουν ότι το καρύδι έχει χαμηλότερο περιεχόμενο σε α-τοκοφερόλη από άλλους ξηρούς καρπούς, όπως το αμύγδαλο, το φουντούκι, τα φιστίκια κ.α. Ο ηλιόσπορος περιέχει σημαντικά ποσά α-τοκοφερόλης, σε αντίθεση με τον κολοκυθόσπορο, στον οποίο η α-τοκοφερόλη είναι το χαμηλότερο σε συγκέντρωση ομόλογο του μίγματος τοκοφερολών. Σύμφωνα με το USDA η α-τοκοφερόλη βρίσκεται σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα στον κολοκυθόσπορο (USDA, Food Search for Windows, Version 1, Database version SR19).

Οι συγκεντρώσεις των β- και γ- τοκοφερολών στους ξηρούς καρπούς που μελετήθηκαν κυμάνθηκαν από 0.83 mg/100 g στον ηλιόσπορο έως 20.76 mg/100 g στον κολοκυθόσπορο. Τα επίπεδα των β- και γ- τοκοφερολών κατά αύξουσα σειρά είναι: 0.83 mg/100 g (ηλιόσπορος) < 0.91 mg/100 g (φουντούκι) < 1.85 mg/100 g (αμύγδαλο) < 8.09 mg/100 g (καρύδι) < 15.12 mg/100 g (φιστίκι Αιγίνης) < 20.76 mg/100 g (κολοκυθόσπορος). Οι β- και γ- τοκοφερόλες είναι τα κύρια ομόλογα του μίγματος τοκοφερολών στο καρύδι, στο φιστίκι Αιγίνης και στον κολοκυθόσπορο. Έχει αναφερθεί ότι ο κολοκυθόσπορος περιέχει 19.07 mg γ-τοκοφερόλης/100 g (USDA, Food Search for Windows, Version 1, Database version SR19), ποσό που είναι πολύ κοντά με το αποτέλεσμα της παρούσας μελέτης. Όσον αφορά στο φιστίκι Αιγίνης και στο καρύδι, τα αποτελέσματα συμφωνούν με τα βιβλιογραφικά δεδομένα. Συγκεκριμένα οι Kaijser και συν. (2000) ανέφεραν ότι τόσο η β-, όσο και η γ-τοκοφερόλη, είναι επικρατούσες τοκοφερόλες σε επτά είδη ξηρών καρπών και τα μέσα ποσοστά σε φθίνουσα σειρά είναι φιστίκια Αιγίνης > καρύδια > πεκάνς > Brazil nuts > κουκουνάρια ≥ φιστίκια > cashews. Επίσης, οι Gentile και συν. (2007) ανέφεραν ότι όπως και στα καρύδια, το κύριο ισομερές βιταμίνης Ε στα φιστίκια Αιγίνης είναι η γ-τοκοφερόλη, μία ένωση που θεωρείται ένα σημαντικό βιοδραστικό συστατικό της διατροφής μας. Επίσης, έχει αναφερθεί ότι τα καρύδια είναι ο μόνος ξηρός καρπός από τα αμύγδαλα, τα macadamias, τα φουντούκια και τα φιστίκια που περιέχει γ-τοκοφερόλη σε υψηλότερο ποσοστό από την α-τοκοφερόλη (Maguire et al, 2004, Savage et al, 1999, Lavendrine et al, 1997), κάτι που επιβεβαιώθηκε από την παρούσα μελέτη.

Τα επίπεδα της δ-τοκοφερόλης στους ξηρούς καρπούς που μελετήθηκαν είναι γενικά χαμηλά. Κυμάνθηκαν από μη ανιχνεύσιμα (φουντούκι) έως 2.74 mg/100 g (καρύδι). Το αμύγδαλο είχε 0.04 mg δ-τοκοφερόλης/100 g δείγματος, ο ηλιόσπορος 0.08 mg δ-τοκοφερόλης/100 g δείγματος, το φιστίκι Αιγίνης 0.44 mg δ-

τοκοφερόλης/100 g δείγματος και ο κολοκυθόσπορος 1.23 mg δ-τοκοφερόλης/100 g δείγματος. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, αφού οι Kaijser και συν. (2000) ανέφεραν ότι ίχνη δ-τοκοφερόλης (<4 mg/100 g εκχυλιζόμενου ελαίου) βρέθηκαν στα: cashews, φουντούκια, φιστίκια, καρύδια τύπου πεκάν, κουκουνάρια, φιστίκια Αιγίνης και καρύδια.

6.2.2 Προσδιορισμός πολυφαινολών

6.2.2.A Επιλογή κατάλληλου διαλύτη και διαδικασίας εκχύλισης για ποσοτική παραλαβή των πολυφαινολών από τους ξηρούς καρπούς

Αρχικά πραγματοποιήθηκαν δοκιμαστικές εκχυλίσσεις με διάφορους διαλύτες, ώστε να γίνει η επιλογή του κατάλληλου διαλύτη ή συστήματος εκχύλισης. Προσφορότερος διαλύτης θεωρείται ο διαλύτης στον οποίο τα φαινολικά συστατικά έχουν τη μεγαλύτερη διαλυτότητα και κατά συνέπεια, παραλαμβάνει ποσοτικά σε μεγαλύτερο βαθμό τις πολυφαινόλες. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν είναι: (α) Μεθανόλη, (β) Διάλυμα μεθανόλης/ακετόνης/νερού, 7/2/1, (γ) Διάλυμα ακετόνης/νερού, 8/2 και (δ) Ακετονιτρίλιο. Οι πολυφαινόλες είναι σχετικώς πολικά μόρια. Οι διαλύτες που επιλέχθηκαν για την ποσοτική παραλαβή τους από τους ξηρούς καρπούς ήταν μέτριας πολικότητας, ενώ το νερό θεωρείται ο πιο πολικός διαλύτης (Ανδρικόπουλος ΝΚ, Οργανική Χημεία & Δομική Βιοχημεία, Εργαστηριακές Ασκήσεις, Τόμος II, 1998).

Αρχικά πραγματοποιήθηκαν τέσσερις εκχυλίσσεις επί συνόλου με 5 mL διαλύτη κάθε φορά, σε δείγμα αμυγδάλου. Το τελευταίο εκχύλισμα συλλέχθηκε χωριστά. Παρατηρήθηκε ότι με την τέταρτη εκχύλιση παραλήφθηκε σημαντικό ποσοστό πολυφαινολών σε σχέση με τις πρώτες εκχυλίσσεις και κατά συνέπεια απαιτείται και πέμπτη εκχύλιση. Η καλύτερη ποσοτική παραλαβή, όπως προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας, προέκυψε από τις εκχυλίσσεις με το διάλυμα ακετόνης/νερού, 8/2, οπότε απορρίφθηκαν η μεθανόλη και το διάλυμα μεθανόλης/ακετόνης/νερού, 7/2/1. Στην περίπτωση της χρήσης του ακετονιτρίλιου, προέκυψε πρόβλημα στο στάδιο της ομογενοποίησης του μίγματος διαλύτη/δείγματος στον ομογενοποιητή. Δεν επιτεύχθηκε ομογενοποίηση του μίγματος, αφού λόγω της φύσης του διαλύτη, προσκολλήθηκε σημαντική ποσότητα δείγματος στο στέλεχος του ομογενοποιητή. Γι' αυτό το λόγο απορρίφθηκε το ακετονιτρίλιο ως διαλύτης εκχύλισης.

Κατόπιν, πραγματοποιήθηκαν δοκιμαστικές εκχυλίσσεις στο φιστίκι Αιγίνης. Η διαφορά από το προηγούμενο πείραμα ήταν ότι έγιναν πέντε εκχυλίσσεις επί συνόλου και ως συστήματα εκχύλισης χρησιμοποιήθηκαν η μεθανόλη, το διάλυμα μεθανόλης/ακετόνης/νερού (7/2/1) και το διάλυμα ακετόνης/νερού (8/2). Και σ' αυτή την περίπτωση καλύτερη ποσοτική παραλαβή πολυφαινολών προέκυψε με χρήση διαλύματος ακετόνης/νερού (8/2), αλλά παρατηρήθηκε ότι με την πέμπτη εκχύλιση

παραλήφθηκε σημαντικό ποσοστό πολυφαινολών σε σχέση με τις πρώτες εκχυλίσσεις και κατά συνέπεια απαιτείται και έκτη εκχύλιση. Σε αυτά τα εκχυλίσματα πραγματοποιήθηκε και προσδιορισμός ολικών πολυφαινολών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. Το αποτέλεσμα που προέκυψε ήταν ότι το υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο είχε το δείγμα το οποίο εκχυλίστηκε με το διάλυμα ακετόνης/νερού (8/2) και το χαμηλότερο αυτό που εκχυλίστηκε με μεθανόλη. Συνεπώς, τα αποτελέσματα της μεθόδου Folin-Ciocalteu ήταν σε συμφωνία με αυτά της αέριας χρωματογραφίας.

Έπειτα, επαναλήφθηκε η παραπάνω διαδικασία στο ίδιο δείγμα (φιστίκι Αιγίνης), με τη διαφορά ότι έγιναν έξι εκχυλίσσεις επί συνόλου. Το υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο είχε το δείγμα που εκχυλίστηκε με το διάλυμα ακετόνης/νερού, 8/2 (12.63 mg/100 g ξηρού καρπού), (Πίνακας 6.2.2). Σ' αυτή την περίπτωση η έκτη εκχύλιση δε φάνηκε να παραλαμβάνει σημαντικό ποσοστό πολυφαινολών, σε σχέση με τις πρώτες εκχυλίσσεις (5.8% κατά την εκχύλιση με μεθανόλη, 1.2% κατά την εκχύλιση με μεθανόλη/ακετόνη/νερό και 0.95% κατά την εκχύλιση με ακετόνη/νερό). Έτσι, κρίθηκε ότι οι πέντε εκχυλίσσεις ήταν ικανοποιητικές (Πίνακας 6.2.2).

Η διαδικασία που περιγράφηκε πιο πάνω πραγματοποιήθηκε δεύτερη φορά στο ίδιο δείγμα, αλλά ο διαλύτης παρέμεινε όλο το βράδυ σε επαφή με το δείγμα, για καλύτερη παραλαβή των πολυφαινολών. Αυτό το στάδιο, όπως είναι αναμενόμενο, βοήθησε στην καλύτερη παραλαβή των φαινολικών ενώσεων από το δείγμα και συνεπώς, έδωσε καλύτερα αποτελέσματα από την απ' ευθείας παραλαβή των οργανικών φάσεων. Προσφορότερο σύστημα εκχύλισης αποδείχτηκε το διάλυμα ακετόνης/νερού (8/2), αφού το σύνολο των πολυφαινολών που παρελήφθησαν με το συγκεκριμένο ήταν 16.65 mg/100 g ξηρού καρπού, σε σχέση με 10.62 mg/100 g ξηρού καρπού και 12.55 mg/100 g ξηρού καρπού που παρελήφθησαν με τη μεθανόλη και το διάλυμα μεθανόλης/ακετόνης/νερού (7/2/1), αντίστοιχα (Πίνακας 6.2.3). Πάντως, ούτε σε αυτή τη διαδικασία η έκτη εκχύλιση παρέλαβε σημαντικό ποσοστό πολυφαινολών σε σχέση με τις πέντε πρώτες εκχυλίσσεις (1.1% κατά την εκχύλιση με μεθανόλη/ακετόνη/νερό και 1.0% κατά την εκχύλιση με ακετόνη/νερό), εκτός από την εκχύλιση με μεθανόλη (12.1%), η οποία απορρίφθηκε ως διαλύτης εκχύλισης, αφού παραλαμβάνει το χαμηλότερο ποσοστό πολυφαινολών σε σχέση με τα άλλα συστήματα εκχύλισης (Πίνακας 6.2.3).

Η τελευταία δοκιμή που έγινε για την επιλογή της κατάλληλης διαδικασίας εκχύλισης ήταν να εκχυλιστεί το δείγμα πέντε φορές, με τα διαλύματα μεθανόλης/ακετόνης/νερού (7/2/1) και ακετόνης/νερού (8/2), αφού πρώτα είχε απομακρυνθεί το λίπος του δείγματος με πέντε εκχύλισεις με 5 mL εξάνιο κάθε φορά. Η μεθανόλη απορρίφθηκε ως διαλύτης εκχύλισης πολυφαινολών από τους ξηρούς καρπούς, αφού σε όλες τις διαδικασίες φάνηκε να παραλαμβάνει το χαμηλότερο ποσοστό πολυφαινολών σε σχέση με τα άλλα δύο συστήματα εκχύλισης. Το διάλυμα ακετόνης/νερού (8/2) αποδείχτηκε το καταλληλότερο σύστημα εκχύλισης (Πίνακας 6.2.4). Σκοπός της απολίπανσης ήταν ο κατά το δυνατόν καθαρισμός του δείγματος (απλοποίηση της σύστασης), ώστε να διευκολυνθεί η παραλαβή των πολυφαινολών. Εντούτοις, από τα αποτελέσματα που προέκυψαν από αναλύσεις με αέρια χρωματογραφία, δε φαίνεται ότι η συγκεκριμένη διαδικασία επέδρασε στην παραλαβή μεγαλύτερης ποσότητας πολυφαινολών από το φυστίκι Αιγίνης, το οποίο μπορεί να θεωρηθεί ως αντιπροσωπευτικό δείγμα των ξηρών καρπών (tree nuts), σε σχέση με τις άλλες διαδικασίες (Πίνακας 6.2.4). Συγκεκριμένα, το περιεχόμενο σε πολυφαινόλες στην περίπτωση που έχει προηγηθεί απολίπανση του δείγματος ήταν 14.97 mg/100 g ξηρού καρπού (Πίνακας 6.2.4), 16.65 mg/100 g ξηρού καρπού στην περίπτωση που είχε προηγηθεί ολονύκτια παραμονή του μίγματος διαλύτη/δείγματος σε επαφή (Πίνακας 6.2.3). και 12.63 mg/100 g ξηρού καρπού στην περίπτωση που πραγματοποιήθηκαν πέντε άμεσες εκχυλίσεις (Πίνακας 6.2.2). Η έκτη εκχύλιση δεν έδωσε σημαντικές ποσότητες πολυφαινολών σε σχέση με τις πρώτες εκχυλίσεις (1.3% κατά την εκχύλιση με μεθανόλη/ακετόνη/νερό και 1.9% κατά την εκχύλιση με ακετόνη/νερό), (Πίνακας 6.2.4).

Πίνακας 6.2.2: Περιεχόμενο φιστικιού Αιγίνης σε πολυφαινόλες (mg/100g), όπως προέκυψε από έξι εκχυλίσεις (πέντε + μία) με μεθανόλη, μεθανόλη/ακετόνη/νερό (7/2/1) και ακετόνη/νερό (8/2) και προσδιορίστηκε με GC/MS

ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ (mg/100g νωπού δείγματος)	Μεθανόλη		Μεθανόλη/Ακετόνη/Νερό (7/2/1)		Ακετόνη/Νερό (8/2)	
	5 εκχυλίσεις	6 ^η εκχύλιση	5 εκχυλίσεις	6 ^η εκχύλιση	5 εκχυλίσεις	6 ^η εκχύλιση
Κιναμμωμικό οξύ	0,06	nd	0,04	tr	0,04	tr
Τυροσόλη	tr	nd	tr	nd	0,01	nd
π-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ	0,05	nd	0,05	0,01	0,05	tr
π-υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	0,04	nd	0,03	nd	0,03	nd
Φλωρετικό οξύ	0,03	nd	0,03	0,01	0,04	0,01
Βανιλλικό οξύ	0,10	nd	0,12	0,01	0,11	0,01
ο-κουμαρικό οξύ	nd	nd	nd	nd	0,80	0,01
Πρωτοκατεχικό οξύ	1,29	nd	1,61	tr	1,55	tr
Συριγγικό οξύ	0,09	nd	0,10	0,01	nd	0,01
π-κουμαρικό οξύ	0,12	nd	0,09	0,01	0,09	nd
Γαλλικό οξύ	1,90	0,01	2,79	0,02	3,21	0,01
Φερουλικό οξύ	0,11	nd	0,09	0,02	0,08	0,02
Καφεϊκό οξύ	0,16	0,10	0,07	0,02	0,07	0,02
Σιναπτικό οξύ	0,28	nd	0,25	nd	0,14	nd
Ρεσβερατρόλη	0,07	nd	0,06	0,01	0,06	nd
Επικατεχίνη	0,92	0,02	0,98	0,01	0,90	0,01
Κατεχίνη	5,54	0,06	5,69	0,02	5,24	0,02
Καμπφερόλη	0,11	0,22	0,06	nd	0,05	nd
Χλωρογενικό οξύ	nd	0,21	nd	nd	nd	nd
Κερκετίνη	0,09	0,02	0,11	nd	0,11	nd
Μυρισετίνη	0,04	nd	0,06	nd	0,07	nd
Σύνολο	10,99	0,64	12,23	0,15	12,63	0,12
Παρεληφθέν ποσοστό (%) PP κατά την 6^η εκχύλιση	5,8		1,2		0,95	

tr (traces): Συγκέντρωση πολυφαινολών < 0.005 mg/100 g δείγματος

nd (not detected): Δεν ανιχνεύθηκε

Πίνακας 6.2.3: Περιεχόμενο φιστικιού Αιγίνης σε πολυφαινόλες (mg/100g), όπως προέκυψε μετά από ολονύκτια παραμονή διαλύτη και δείγματος σε επαφή, ακολουθούμενη από έξι εκχυλίσσεις (πέντε + μία) με μεθανόλη, μεθανόλη/ακετόνη/νερό (7/2/1) και ακετόνη/νερό (8/2) και προσδιορίστηκε με GC/MS.

ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ (mg/100 g νωπού δείγματος)	Μεθανόλη		Μεθανόλη/Ακετόνη/Νερό		Ακετόνη/Νερό	
	5 εκχυλίσσεις	6 ^η εκχύλιση	5 εκχυλίσσεις	6 ^η εκχύλιση	5 εκχυλίσσεις	6 ^η εκχύλιση
Κιναμωμικό οξύ	0,04	tr	0,03	nd	0,04	nd
Τυροσόλη	0,01	nd	0,01	nd	0,01	nd
π-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ	0,04	0,01	0,05	tr	0,07	tr
π-υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	0,04	0,01	0,03	nd	0,04	tr
Φλωρετικό οξύ	0,03	0,01	0,03	nd	0,04	0,01
Βανιλλικό οξύ	0,11	0,01	0,12	0,01	0,12	0,01
ο-κουμαρικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Πρωτοκατεχικό οξύ	1,41	0,14	1,64	tr	2,06	0,01
Συριγγικό οξύ	0,09	nd	0,10	nd	0,08	nd
π-κουμαρικό οξύ	0,09	0,02	0,09	0,01	0,14	0,01
Γαλλικό οξύ	2,44	0,39	2,86	0,04	4,38	0,06
Φερουλικό οξύ	0,08	0,02	0,09	0,02	0,10	0,02
Καφεϊκό οξύ	0,08	0,02	0,07	0,02	0,08	0,02
Σιναπτικό οξύ	0,24	0,03	0,26	nd	0,25	nd
Ρεσβερατρόλη	0,06	0,01	0,06	0,01	0,07	nd
Επικατεχίνη	0,83	0,09	0,96	0,01	1,31	0,01
Κατεχίνη	4,82	0,49	5,93	0,03	7,57	0,02
Καμπφερόλη	0,06	0,01	0,05	nd	0,08	nd
Κερκετίνη	0,11	0,02	0,11	nd	0,14	nd
Μυρισετίνη	0,06	0,01	0,07	nd	0,08	nd
Σύνολο	10,62	1,29	12,55	0,14	16,65	0,17
Παρεληφθέν ποσοστό (%) PP κατά την 6^η εκχύλιση	12,1		1,1		1,0	

tr (traces): Συγκέντρωση πολυφαινολών < 0.005 mg/100 g δείγματος

nd (not detected): Δεν ανιχνεύθηκε

Πίνακας 6.2.4: Περιεχόμενο φιστικιού Αιγίνης σε πολυφαινόλες (mg/100g), όπως προέκυψε μετά από απολίπανση των δειγμάτων, ακολουθούμενη από έξι εκχυλίσσεις (πέντε + μία) με μεθανόλη/ακετόνη/νερό (7/2/1) και ακετόνη/νερό (8/2) και προσδιορίστηκε με GC/MS.

ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ (mg/100 g νωπού δείγματος)	Μεθανόλη/Ακετόνη/Νερό		Ακετόνη/Νερό	
	5 εκχυλίσσεις	6 ^η εκχύλιση	5 εκχυλίσσεις	6 ^η εκχύλιση
Κιναμωμικό οξύ	0,02	nd	0,03	nd
Τυροσόλη	tr	nd	0,01	nd
π-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ	0,04	tr	0,05	tr
π-υδροξυ-φαιτυλοξικό οξύ	0,03	nd	0,03	nd
Φλωρετικό οξύ	0,03	0,01	0,03	0,01
Βανιλλικό οξύ	0,09	0,01	0,09	0,01
ο-κουμαρικό οξύ	0,79	nd	0,86	0,01
Πρωτοκατεχικό οξύ	1,36	0,01	1,59	0,02
π-κουμαρικό οξύ	0,08	nd	0,12	0,02
Γαλλικό οξύ	3,12	0,07	4,52	0,10
Φερουλικό οξύ	0,08	nd	0,08	0,02
Καφεϊκό οξύ	0,06	0,02	0,06	0,02
Ρεσβερατρόλη	0,06	0,01	0,06	0,01
Επικατεχίνη	0,91	0,02	1,09	0,02
Κατεχίνη	5,14	0,03	6,12	0,05
Καμπφερόλη	0,05	nd	0,05	nd
Κερκετίνη	0,11	nd	0,12	nd
Μυρισετίνη	0,07	nd	0,06	nd
Σύνολο	12,04	0,16	14,97	0,28
Παρεληφθέν ποσοστό (%) PP κατά την 6^η εκχύλιση	1,3		1,9	

tr (traces): Συγκέντρωση πολυφαινολών < 0.005 mg/100 g δείγματος

nd (not detected): Δεν ανιχνεύθηκε

Δοκιμαστικές εκχυλίσσεις πραγματοποιήθηκαν και στον κολοκυθόσπορο, ο οποίος ανήκει στην κατηγορία των ελαιούχων σπόρων. Η μεθανόλη δε χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης εκχύλισης στην περίπτωση του κολοκυθόσπορου γιατί φάνηκε από τις δοκιμές στο φιστίκι Αιγίνης ότι παραλάμβανε το χαμηλότερο ποσοστό πολυφαινολών σε σχέση με τα άλλα δύο συστήματα εκχύλισης. Δοκιμάστηκαν έξι εκχυλίσσεις επί συνόλου (πέντε + μία) με διαλύματα μεθανόλης/ακετόνης/νερού (7/2/1) και ακετόνης/νερού (8/2), μετά από παραμονή του μίγματος διαλύτη/δείγματος σε επαφή όλο το βράδυ. Σε μία δεύτερη δοκιμή, επαναλήφθηκε η ίδια διαδικασία, με τη διαφορά ότι αρχικά πραγματοποιήθηκαν πέντε εκχυλίσσεις με 5 mL εξάνιο, για απολίπανση των δειγμάτων.

Στον πίνακα 6.2.5 παρουσιάζεται το πολυφαινολικό περιεχόμενο του κολοκυθόσπορου, όπως προσδιορίστηκε μετά από ολονύκτια παραμονή του μίγματος διαλύτη/δείγματος σε επαφή, ακολουθούμενη από πέντε εκχυλίσσεις με τους διαλύτες. Καλύτερο διάλυμα εκχύλισης βρέθηκε ότι ήταν το διάλυμα ακετόνης/νερού (8/2), αφού το ποσό των πολυφαινολών που παραληφθήκαν με το συγκεκριμένο διάλυμα (1.93 mg/100 g fw) ήταν υψηλότερο από το αντίστοιχο του διαλύματος μεθανόλης/ακετόνης/νερού (0.87 mg/100 g fw). Με την τελευταία (6^η) εκχύλιση δε φαίνεται να παραλήφθηκε σημαντικό ποσοστό πολυφαινολών σε σχέση με τις πέντε πρώτες εκχυλίσσεις (10.3% κατά την εκχύλιση με μεθανόλη/ακετόνη/νερό και 12.9% κατά την εκχύλιση με ακετόνη/νερό).

Η δεύτερη πειραματική δοκιμασία που έγινε ήταν να πραγματοποιηθούν εκχυλίσσεις, μετά από απολίπανση του δείγματος με εξάνιο (5 εκχυλίσσεις × 5 mL) και ακολούθως ολονύκτια παραμονή του μίγματος διαλύτη/δείγματος σε επαφή. Ακολούθως έγιναν έξι εκχυλίσσεις (πέντε + μία) επί συνόλου. Το διάλυμα ακετόνης/νερού ήταν και σ' αυτή την περίπτωση το καλύτερο σύστημα εκχύλισης (2.06 mg/100 g δείγματος) σε σύγκριση με το διάλυμα μεθανόλης/ακετόνης/νερού (1.29 mg/100 g δείγματος), (Πίνακας 6.2.6). Κατά την έκτη εκχύλιση παραλήφθηκε ποσοστό 12.4% του συνόλου των πολυφαινολών από τις πέντε εκχυλίσσεις στην περίπτωση που χρησιμοποιήθηκε το σύστημα μεθανόλης/ακετόνης/νερού και 12.6% κατά την εκχύλιση με ακετόνη/νερό, (Πίνακας 6.2.6).

Όπως φαίνεται από τους πίνακες 6.2.5 και 6.2.6, καλύτερο σύστημα εκχύλισης ήταν και στις δύο διαδικασίες το διάλυμα ακετόνης/νερού, 8/2. Η απολίπανση του δείγματος πριν τις εκχυλίσσεις για παραλαβή των πολυφαινολών, φαίνεται ότι αποδίδει

παρόμοιο πολυφαινολικό περιεχόμενο με τη διαδικασία στην οποία δεν είχε προηγηθεί απολίπανση (2.06 mg/100 g έναντι 1.93 mg/100 g). Ως εκ τούτου, δεν υπάρχει άξια λόγου διαφορά μεταξύ του συνόλου των πολυφαινολών των δύο διαδικασιών που να δικαιολογεί ένα επιπλέον στάδιο εκχύλισης, και συγκεκριμένα την απομάκρυνση του λίπους των δειγμάτων.

Εκτός από τις πολυφαινόλες που φαίνονται στους πίνακες 6.2.5 και 6.2.6, στα εκχυλίσματα κολοκυθόσπορου ανιχνεύθηκε και ολεανολικό οξύ, το οποίο ανήκει στην τάξη των υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων (HPTA). Τα αριθμητικά αποτελέσματα δεν παρουσιάζονται στους πίνακες, γιατί δε θεωρήθηκε απαραίτητο να ληφθεί υπόψη η συγκέντρωση του ολεανολικού οξέος στο σύνολο των πολυφαινολών, στο οποίο βασίστηκε η εξαγωγή των αποτελεσμάτων για την επιλογή της κατάλληλης διαδικασίας και συστήματος εκχύλισης, διότι γνωρίζαμε ότι το ολεανολικό οξύ δεν εκχυλίζεται ποσοτικά με τα συστήματα εκχύλισης που επιλέχθηκαν.

Πίνακας 6.2.5: Περιεχόμενο κολοκυθόσπορου σε πολυφαινόλες (mg/100g), όπως προέκυψε μετά από ολονύκτια παραμονή διαλύτη και δείγματος σε επαφή, ακολουθούμενη από έξι εκχυλίσσεις με μεθανόλη/ακετόνη/νερό (7/2/1) και ακετόνη/νερό (8/2) και προσδιορίστηκε με GC/MS.

ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ (mg/100 g νωπού δείγματος)	Μεθανόλη/Ακετόνη/Νερό		Ακετόνη/Νερό	
	5 εκχυλίσσεις	6 ^η εκχύλιση	5 εκχυλίσσεις	6 ^η εκχύλιση
Κιναμωμικό οξύ	0,13	tr	0,10	0,01
π-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ	0,30	0,03	0,56	0,07
π-υδροξυ-φαιτυλοξικό οξύ	0,08	0,01	0,15	0,02
Βανιλλικό οξύ	0,07	0,01	0,08	0,01
ο-κουμαρικό οξύ	nd	nd	nd	nd
Πρωτοκατεχικό οξύ	nd	tr	nd	tr
Συριγγικό οξύ	0,07	0,01	0,08	0,01
π-κουμαρικό οξύ	nd	nd	0,17	nd
Γαλλικό οξύ	nd	nd	0,07	0,01
Καφεϊκό οξύ	0,14	0,02	0,16	0,03
Σιναπτικό οξύ	nd	nd	0,11	0,03
Χρυσίνη	nd	nd	0,21	nd
Ρεσβερατρόλη	0,08	nd	0,08	0,01
Επικατεχίνη	nd	nd	0,07	0,01
Καμπφερόλη	nd	nd	0,09	0,01
Σύνολο	0,87	0,09	1,93	0,25
Παρεληφθέν ποσοστό (%) PP κατά την 6^η εκχύλιση	10,3		12,9	

tr (traces): Συγκέντρωση πολυφαινολών < 0.005 mg/100 g δείγματος

nd (not detected): Δεν ανιχνεύθηκε

Πίνακας 6.2.6: Περιεχόμενο κολοκυθόσπορου σε πολυφαινόλες (mg/100g), όπως προέκυψε μετά από απολίπανση του δείγματος και ολονύκτια παραμονή διαλύτη και δείγματος σε επαφή, ακολουθούμενη από έξι εκχυλίσεις με μεθανόλη/ακετόνη/νερό (7/2/1) και ακετόνη/νερό (8/2) και προσδιορίστηκε με GC/MS.

Πολυφαινολικές ενώσεις (mg/100 g νωπού δείγματος)	Μεθανόλη/ακετόνη/νερό		Ακετόνη/νερό	
	5 εκχυλίσεις	6 ^η εκχύλιση	5 εκχυλίσεις	6 ^η εκχύλιση
Κιναμμωμικό οξύ	0,07	tr	0,10	tr
π-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ	0,24	tr	0,90	0,01
π-υδροξυ-φαιτυλοξικό οξύ	0,08	tr	0,17	nd
Φλωρετικό οξύ	0,05	0,01	0,07	0,01
Βανιλλικό οξύ	0,07	0,01	0,09	0,01
Ομοβανιλλικό οξύ	0,06	nd	nd	nd
ο-κουμαρικό οξύ	nd	nd	nd	nd
Συριγγικό οξύ	0,07	0,01	0,07	0,01
π-κουμαρικό οξύ	0,12	nd	nd	nd
Γαλλικό οξύ	nd	0,04	nd	0,02
Καφεϊκό οξύ	0,15	0,02	0,18	0,04
Σιναπικό οξύ	0,11	nd	0,12	nd
Ρεσβερατρόλη	0,08	0,01	0,08	0,01
Χρυσίνη	0,10	nd	0,18	nd
Κατεχίνη	nd	0,01	nd	0,05
Επικατεχίνη	nd	0,03	nd	0,07
Καμπφερόλη	0,09	0,00	0,10	0,02
Σύνολο	1,29	0,16	2,06	0,26
Παρεληφθέν ποσοστό (%) PP κατά την 6^η εκχύλιση	12,4		12,6	

tr (traces): Συγκέντρωση πολυφαινολών < 0.005 mg/100 g δείγματος
nd (not detected): Δεν ανιχνεύθηκε

6.2.2.B Προσδιορισμός ολικών πολυφαινολών στους ξηρούς καρπούς με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

Στον πίνακα 6.2.7 παρουσιάζεται το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο των ξηρών καρπών, όπως προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu (mg CAE/100 g νωπού δείγματος).

Πίνακας 6.2.7: Προσδιορισμός ολικών πολυφαινολών στους ξηρούς καρπούς και στους ελαιούχους σπόρους με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.

Δείγμα	mg CAE/100g
Αμύγδαλο	65 ± 14
Καρύδι	1216 ± 47
Φιστίκι Αιγίνης	248 ± 26
Φουντούκι	135 ± 35
Ηλιόσπορος	662 ± 22
Κολοκυθόσπορος	50 ± 4

Τα δεδομένα εκφράστηκαν ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση (n=3).

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 6.2.7 το υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο σύμφωνα με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu έχει το καρύδι (1216 ± 47 mg CAE/100 g νωπού δείγματος) και το χαμηλότερο ο κολοκυθόσπορος (50 ± 4 mg CAE/100 g νωπού δείγματος). Οι ενδιάμεσες τιμές ολικών πολυφαινολών σε mg CAE/100 g νωπού δείγματος κατά αύξουσα σειρά είναι: 65 ± 14 (αμύγδαλο) < 135 ± 35 (φουντούκι) < 248 ± 26 (φιστίκι Αιγίνης, *Pistacia vera* L.) < 662 ± 22 (ηλιόσπορος).

Στα βιβλιογραφικά δεδομένα που αφορούν στους ξηρούς καρπούς, το πολυφαινολικό περιεχόμενο εκφράζεται ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος (mg GAE/100 g νωπού δείγματος). Καθώς προηγούμενες έρευνες του Εργαστηρίου Χημείας-Βιοχημείας-Φυτικοχημείας Τροφίμων έχουν δείξει ότι η απόκριση του γαλλικού και του καφεϊκού οξέος είναι παρόμοια στη μέθοδο Folin-Ciocalteu (καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος: $y = 0.0117x - 0.0705$, $r^2 = 0.9994$, καμπύλη αναφοράς καφεϊκού οξέος: $y = 0.0115x - 0.0186$, $r^2 = 0.999$), τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας είναι συγκρίσιμα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα, στα οποία τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE, Gallic Acid Equivalents, Ισοδύναμα Γαλλικού Οξέος), τουλάχιστον όσον αφορά στη σειρά κατάταξης των ξηρών καρπών ως προς το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο. Οι Kornsteiner et al.

(2006) αναφέρουν ότι η μέση τιμή των ολικών φαινολικών ενώσεων στους ξηρούς καρπούς κυμάνθηκε από 32 mg GAE/100 g στα κουκουνάρια έως 1625 mg GAE/100 g στα καρύδια. Η περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες (mg GAE/100 g fw) στους ξηρούς καρπούς που μελέτησαν, κατά αύξουσα σειρά, είχε ως εξής: κουκουνάρια (32) < macadamias (46) < αμύγδαλα χωρίς φλούδα (47) < Brazil nuts (112) < cashews (137) < **αμύγδαλα με φλούδα** (239) < **φουντούκια** (291) < φιστίκια με φλούδα (420) < **φιστίκια Αιγίνης** (867) < πεκάνς (1284) < **καρύδια** (1625), (M. Kornsteiner et al, 2006). Αυτά τα αποτελέσματα είναι σε συμφωνία με άλλα δημοσιευμένα δεδομένα (Anderson et al, 2001, Wu et al, 2004). Ο κολοκυθόσπορος και ο ηλιόσπορος δεν μελετήθηκαν στις προαναφερθείσες μελέτες.

Οι Wu et al. (2004) εξέτασαν την αντιοξειδωτική δράση και το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο δέκα ξηρών καρπών. Το πολυφαινολικό περιεχόμενο των ξηρών καρπών σε mg GAE/g εδώδιμου ξηρού καρπού έχει ως εξής: πεκάν (20.13 ± 1.03) > **φιστίκι Αιγίνης** (16.57 ± 1.21) > **καρύδι** (15.56 ± 4.06) > **φουντούκι** (8.35 ± 2.16) > **αμύγδαλο** (4.18 ± 0.84) > αράπικο φιστίκι (3.96 ± 0.54) > Brazil nuts (3.1 ± 0.96) > cashews (2.74 ± 0.39) > macadamias (1.56 ± 0.29) > κουκουνάρι (0.68 ± 0.25), (Wu X et al., 2004). Το γεγονός ότι υπάρχει μία διαφορά στη σειρά κατάταξης των ξηρών καρπών και συγκεκριμένα το ότι το φιστίκι Αιγίνης έχει υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο από το καρύδι, πιθανώς να οφείλεται στις διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες στις οποίες αναπτύσσονται οι καρποί, στο βαθμό ωρίμανσης και στην επεξεργασία στην οποία υπόκεινται οι καρποί στην κάθε περίπτωση. Πάντως, οι Gentile et al. (2007) αναφέρουν ότι η τιμή που βρήκαν οι Wu X et al. για το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο του καρπού *Pistacia vera* L. (φιστίκι Αιγίνης) είναι υψηλή σε σχέση με τις αναφερόμενες τιμές από άλλους ερευνητές.

Στη μελέτη των Gentile et al. (2007) προσδιορίστηκε το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο στο υδατοδιαλυτό εκχύλισμα των καρπών του φιστικιού Αιγίνης. Βρέθηκαν 175.2 ± 5.6 mg GAE/100 g εδώδιμου ξηρού καρπού, τιμή χαμηλότερη από αυτή που προσδιορίστηκε στην παρούσα μελέτη για το φιστίκι Αιγίνης (248 ± 26 mg CAE/100 g). Όπως προαναφέρθηκε, οι Wu et al. (2004) ανέφεραν υψηλότερα επίπεδα ολικών πολυφαινολών σε αυτό το είδος ξηρού καρπού και συγκεκριμένα 16.57 ± 1.21 mg GAE/g εδώδιμου ξηρού καρπού, δηλαδή 1657 ± 1.21 mg GAE/100 g ξηρού καρπού. Επιπλέον, οι Anderson et al. (2001) προσδιόρισαν το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο των καρυδιών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. Ανέφεραν ότι οι ολικές φαινόλες που περιέχονται σε 50 g καρυδιών είναι 802 mg GAE (1604 mg GAE/100

g). Για τα αμύγδαλα έχει αναφερθεί ότι περιέχουν 418 mg GAE/100 g ξηρού δείγματος, αλλά η τιμή αυτή αναφέρεται σε ξηρό καρπό, ο οποίος έχει ψηθεί (Chen et al., 2006). Για τα φουντούκια, οι Shahidi F et al. (2007) αναφέρουν ότι ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο τους, προσδιορισμένο με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, είναι 13.7 ± 0.5 mg CE/g εκχυλίσματος.

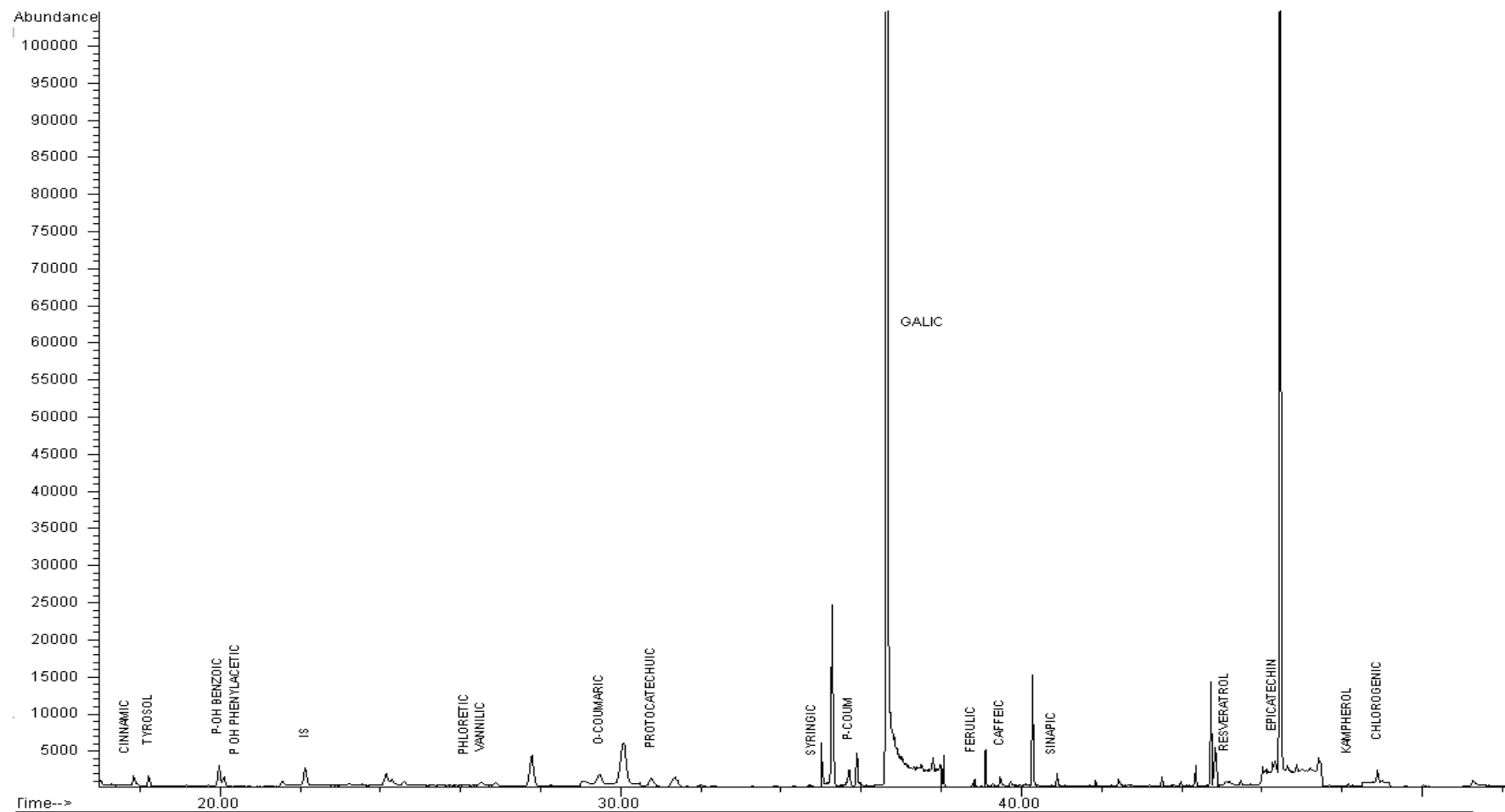
6.2.2.Γ Περιεχόμενο ξηρών καρπών σε επιμέρους πολυφαινόλες

Στο σχήμα 6.2.1 παρατίθεται ένα ενδεικτικό χρωματογράφημα δείγματος ξηρού καρπού (καρύδι). Στον πίνακα 6.2.8 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των επιμέρους πολυφαινολών και των υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων στους ξηρούς καρπούς (mg/100 g νωπού τροφίμου).

Μεταξύ 28 πολυφαινολών-στόχων 16 ανιχνεύθηκαν στο αμύγδαλο, 18 στο καρύδι, 16 στο φουντούκι και 19 στο φιστίκι Αιγίνης. Οι συγκεντρώσεις των πολυφαινολών στους ξηρούς καρπούς κυμάνθηκαν από 2.96 ± 0.07 mg/100 g στα αμύγδαλα έως 43.71 ± 7.76 mg/100 g στα καρύδια. Οι ενδιάμεσες συγκεντρώσεις ήταν 3.33 ± 0.54 mg/100 g στο φουντούκι και 13.9 ± 1.4 mg/100 g στο φιστίκι Αιγίνης. Στη βιβλιογραφία δεν υπάρχουν δεδομένα για το περιεχόμενο των ξηρών καρπών σε επιμέρους πολυφαινόλες προσδιορισμένες με αέρια χρωματογραφία. Συνεπώς, δεν μπορούν να γίνουν συγκρίσεις με αποτελέσματα άλλων μελετών.

Στην παρούσα μελέτη, εκτός από τις πολυφαινόλες, ανιχνεύθηκαν και υδροξυπεντακυκλοτερπενικά οξέα (HPTA). Παρότι ο διαλύτης εκχύλισης των πολυφαινολών πιθανόν δεν ήταν ο ενδεικνυόμενος για την ποσοτική παραλαβή των HPTA, στα δείγματα ανιχνεύθηκε ολεανολικό οξύ. Ως εκ τούτου, τα ποσοτικά δεδομένα που παρουσιάζονται για τη συγκέντρωση αυτού του τριτερπενίου πιθανόν να είναι υψηλότερα στο τρόφιμο. Οι συγκεντρώσεις του ολεανολικού οξέος στους ξηρούς καρπούς, κυμάνθηκαν από 1.40 ± 0.10 mg/100 g στα αμύγδαλα έως 6.13 ± 1.38 mg/100 g στο φιστίκι Αιγίνης. Οι ενδιάμεσες συγκεντρώσεις ήταν 1.77 ± 0.21 mg/100 g στο φουντούκι και 4.68 ± 1.23 mg/100 g στο καρύδι.

Το αμύγδαλο που εξετάστηκε στην παρούσα μελέτη είχε τα χαμηλότερα επίπεδα πολυφαινολικών ενώσεων και ολεανολικού οξέος, σε σχέση με τους υπόλοιπους ξηρούς καρπούς. Οι κυριότερες πολυφαινόλες που ανιχνεύθηκαν στα υπό ανάλυση δείγματα αμυγδάλου ήταν το πρωτοκατεχικό οξύ (0.5 ± 0.05 mg/100 g νωπού δείγματος), η επικατεχίνη (0.42 ± 0.03 mg/100 g), η κατεχίνη (0.42 ± 0.03 mg/100 g), το βανιλλικό οξύ (0.27 ± 0.01 mg/100 g), το φερουλικό οξύ (0.2 ± 0.00 mg/100 g) και το γαλλικό οξύ (0.17 ± 0.03 mg/100 g). Οι υπόλοιπες πολυφαινόλες κυμάνθηκαν σε χαμηλότερα επίπεδα ($0.05 - 0.12$ mg/100 g).



Σχήμα 6.2.1: Ενδεικτικό χρωματογράφημα δείγματος ξηρού καρπού (καρύδι).

Το καρύδι είχε το υψηλότερο περιεχόμενο πολυφαινολών σε σχέση με τους άλλους ξηρούς καρπούς. Το καρύδι περιείχε υψηλά επίπεδα γαλλικού οξέος (37.2 ± 7.0 mg/100 g) και σε χαμηλότερα επίπεδα περιείχε κατεχίνη (3.94 ± 0.53 mg/100 g), ενώ οι υπόλοιπες πολυφαινόλες κυμάνθηκαν από 0.03 ± 0.00 (κινναμωμικό οξύ) έως 0.75 ± 0.12 (χλωρογενικό οξύ) mg/100 g. Επιπλέον, το ολεανολικό οξύ βρέθηκε σε υψηλά επίπεδα, σε σχέση με το φουντούκι και το αμύγδαλο.

Η συγκέντρωση των πολυφαινολών στο φουντούκι που μελετήθηκε στην παρούσα μελέτη ήταν 3.33 ± 0.54 mg/100 g και του ολεανολικού οξέος 1.77 ± 0.21 mg/100 g νωπού δείγματος. Γενικά, δεν ήταν πλούσιο σε πολυφαινολικές ενώσεις σε σχέση με το καρύδι και το φιστίκι Αιγίνης. Οι πολυφαινόλες που βρέθηκαν σε υψηλότερη συγκέντρωση στο φουντούκι ήταν η κατεχίνη (1.07 ± 0.20 mg/100 g), το γαλλικό οξύ (0.84 ± 0.34 mg/100 g) και το πρωτοκατεχικό οξύ (0.35 ± 0.06 mg/100 g), ενώ οι υπόλοιπες πολυφαινόλες ήταν σε χαμηλότερα επίπεδα.

Το φιστίκι Αιγίνης είναι χαρακτηριστικός ξηρός καρπός που καλλιεργείται και καταναλώνεται στην Ελλάδα. Το συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο ήταν 13.9 ± 1.4 mg/100 g. Είχε υψηλά επίπεδα πολυφαινολών, τα υψηλότερα μετά το καρύδι. Επίσης, περιείχε τα υψηλότερα επίπεδα σε ολεανολικό οξύ σε σύγκριση με τους άλλους ξηρούς καρπούς που μελετήθηκαν (6.13 ± 1.38 mg/100 g). Οι συγκεντρώσεις των κυριότερων πολυφαινολών του δείγματος κατά φθίνουσα σειρά ήταν: 4.87 ± 0.92 mg/100 g (κατεχίνη) > 3.19 ± 0.2 mg/100 g (γαλλικό οξύ) > 2.08 ± 0.47 mg/100 g (πρωτοκατεχικό οξύ) > 0.8 ± 0.13 mg/100 g (επικατεχίνη) > 0.75 ± 0.14 mg/100 g (χλωρογενικό οξύ) > 0.56 ± 0.3 mg/100 g (καφεϊκό οξύ) - 0.56 ± 0.09 mg/100 g (ο-κουμαρικό οξύ). Οι φαινολικές ενώσεις που ανιχνεύτηκαν στο φιστίκι Αιγίνης στην παρούσα μελέτη έχουν αναφερθεί ξανά στη βιβλιογραφία. Συγκεκριμένα, οι Gentile et al. (2007) αναφέρουν ότι πρόσφατα η ρεσβερατρόλη ανιχνεύθηκε στα φιστίκια Αιγίνης που ευδοκιμούν στην Τουρκία. Στην παρούσα μελέτη, τα επίπεδα της ρεσβερατρόλης ήταν σχετικά χαμηλά σε σύγκριση με τα επίπεδα των άλλων πολυφαινολών (0.13 ± 0.01 mg/100 g). Βρέθηκαν όμως άλλες φαινολικές ενώσεις σε υψηλά επίπεδα, όπως η κατεχίνη, το γαλλικό και το πρωτοκατεχικό οξύ. Η μελέτη των Gentile et al. (2007) δείχνει ότι τα φιστίκια Αιγίνης είναι πλούσια πηγή γενιστεΐνης (3.40 ± 0.37 mg/100 g) και δαϊσδεΐνης (3.68 ± 0.41 mg/100 g) και το περιεχόμενό τους είναι λίγο χαμηλότερο από το αναφερόμενο για τη σόγια. Το φιστίκι Αιγίνης που μελετήθηκε στην παρούσα μελέτη είχε χαμηλά επίπεδα γενιστεΐνης (0.28 ± 0.04 mg/100 g), ενώ η δαϊσδεΐνη δε μελετήθηκε.

Πίνακας 6.2.8: Συγκεντρώσεις πολυφαινολικών ενώσεων και υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων (HPTA) στους ξηρούς καρπούς όπως προσδιορίστηκαν με αέρια χρωματογραφία

Πολυφαινολικές ενώσεις (PP) και HPTA	Αμύγδαλο		Καρύδι		Φουντούκι		Φιστίκι Αιγίνης	
	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
mg/100 g νωπού δείγματος								
Πολυφαινολικές ενώσεις								
Κιναμωμικό οξύ	nd	-	0,03	0,00*	0,03	0,00*	0,04	0,00*
π-Υδροξυβενζοϊκό οξύ	0,06	0,01	0,09	0,01	0,04	0,00	0,06	0,01
π-Υδροξυφαινοξικό οξύ	0,05	0,00	0,04	0,00	0,03	0,00	0,05	0,00
Φλωρετικό οξύ	0,07	0,00	0,04	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00
Βανιλλικό οξύ	0,27	0,01	0,10	0,01	0,07	0,01	0,13	0,02
ο-Κουμαρικό οξύ	0,18	0,03	0,34	0,01	0,15	0,02	0,56	0,09
Πρωτοκατεχικό οξύ	0,50	0,05	0,34	0,08	0,35	0,06	2,08	0,47
Συριγγικό οξύ	0,08	0,00	0,07	0,00	0,07	0,00	0,08	0,00
π-Κουμαρικό οξύ	0,13	0,01	0,19	0,02	0,10	0,00	0,13	0,01
Γαλλικό οξύ	0,17	0,03	37,20	7,00	0,84	0,34	3,19	0,20
Φερουλικό οξύ	0,20	0,00	0,15	0,01	0,12	0,00	0,16	0,02
Καφεϊκό οξύ	nd	-	0,18	0,02	nd	-	0,56	0,30
Σιναπικό οξύ	0,11	0,00	0,12	0,01	nd	-	nd	-
Ρεσβερατρόλη	0,09	0,00	0,11	0,01	0,10	0,01	0,13	0,01
Επικατεχίνη	0,42	0,03	0,15	0,01	0,21	0,03	0,80	0,13
Ναριγγενίνη	nd	-	nd	-	nd	-	0,13	0,01
Κατεχίνη	0,42	0,03	3,94	0,53	1,07	0,20	4,87	0,92
Γενιστεΐνη	nd	-	nd	-	nd	-	0,28	0,04
Καμπφερόλη	0,10	0,00	0,11	0,00	0,10	0,00	0,09	0,00
Χλωρογενικό οξύ	0,12	0,04	0,75	0,12*	nd	-	0,75	0,14*
Σύνολο πολυφαινολικών ενώσεων	2,96	0,07	43,71	7,76	3,33	0,54	13,9	1,4
Υδροξυπεντακυκλοτερπενικά οξέα								
Ολεανολικό οξύ	1,40	0,10	4,68	1,23	1,77	0,21	6,13	1,38
Σύνολο PP και HPTA	4,36	0,18	48,39	8,89	5,10	0,75	20,01	1,85

Οι συγκεντρώσεις των πολυφαινολικών ενώσεων και των HPTA εκφράστηκαν ως mg/100 g ξηρού καρπού.

Τα δεδομένα εκφράστηκαν ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση (n=3), (*n=2)

nd (not detected): Δεν ανιχνεύθηκε

Στον πίνακα 6.2.9 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των πολυφαινολών και υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων στους ελαιούχους σπόρους (mg/100 g νωπού δείγματος).

Πίνακας 6.2.9: Συγκεντρώσεις πολυφαινολικών ενώσεων και υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων στους ελαιούχους σπόρους

Πολυφαινολικές ενώσεις (PP) και HPTA	Κολοκυθόσπορος		Ηλιόσπορος	
	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
mg/100 g νωπού δείγματος				
Πολυφαινολικές ενώσεις				
Κιναμμωμικό οξύ	0,08	0,01	0,47	0,06
π-Υδροξυβενζοϊκό οξύ	0,49	0,01	0,12	0,01
π-Υδροξυφαινυλοξικό οξύ	0,15	0,02	0,04	0,00
Φλωρετικό οξύ	0,06	0,00	0,06	0,00
Βανιλλικό οξύ	0,09	0,00	0,07	0,00
ο-Κουμαρικό οξύ	0,66	0,05	0,13	0,00
Πρωτοκατεχικό οξύ	0,06	0,02	0,19	0,06
Συριγγικό οξύ	0,08	0,00	0,07	0,00
π-Κουμαρικό οξύ	0,30	0,04	0,32	0,01
Γαλλικό οξύ	0,09	0,02	0,08	0,00
Φερουλικό οξύ	0,14	0,00	0,34	0,02
Καφεϊκό οξύ	0,17	0,00	107,22	8,52
Ρεσβερατρόλη	0,17	0,05	0,13	0,01
Επικατεχίνη	nd	-	0,14	0,01
Κατεχίνη	nd	-	0,15	0,01
Καμπφερόλη	nd	-	0,09	0,00
Χλωρογενικό οξύ	nd	-	3700,8	486,7
Σύνολο πολυφαινολικών ενώσεων	2,52	0,06	3810,4	485,5
Υδροξυπεντακυκλοτερπενικά οξέα				
Ολεανολικό οξύ	8,29	0,21*	9,03	1,05
Σύνολο PP και HPTA	10,81	0,16	3819,4	485,7

Οι συγκεντρώσεις των πολυφαινολικών ενώσεων και των HPTA εκφράστηκαν ως mg/100 g.

Τα δεδομένα εκφράστηκαν ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση (n=3), (*n=2)

nd (not detected): Δεν ανιχνεύθηκε

Μεταξύ 28 πολυφαινολών-στόχων 13 ανιχνεύθηκαν στον κολοκυθόσπορο και 17 στον ηλιόσπορο. Οι ελαιούχοι σπόροι και συγκεκριμένα ο κολοκυθόσπορος και ο ηλιόσπορος δεν έχουν μελετηθεί ιδιαίτερα στη βιβλιογραφία ως προς το αντιοξειδωτικό τους περιεχόμενο. Το υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο περιείχε ο ηλιόσπορος (3810.4 ± 485.5 mg/100 g). Τα επίπεδα των πολυφαινολικών ενώσεων στον κολοκυθόσπορο ήταν 2.52 ± 0.06 mg/100 g. Η συγκέντρωση του ολεανολικού οξέος στον κολοκυθόσπορο ήταν 8.29 ± 0.21 mg/100 g, ενώ στον ηλιόσπορο ήταν 9.03 ± 1.05 mg/100 g.

Ο κολοκυθόσπορος είχε υψηλή περιεκτικότητα σε ο-κουμαρικό οξύ (0.66 ± 0.05 mg/100 g), σε π-υδροξυβενζοϊκό οξύ (0.49 ± 0.01 mg/100 g) και σε π-κουμαρικό οξύ (0.30 ± 0.04 mg/100 g) σε σχέση με τα επίπεδα των υπόλοιπων περιεχόμενων πολυφαινολών. Οι συγκεντρώσεις των υπόλοιπων πολυφαινολών κυμάνθηκαν από 0.06 mg/100 g (φλωρετικό οξύ, πρωτοκατεχικό οξύ) έως 0.17 mg/100 g (καφεϊκό οξύ, ρεσβερατρόλη).

Ο ηλίόσπορος ήταν πολύ πλούσιος σε χλωρογενικό οξύ (3700.8 ± 486.7 mg/100 g). Τα επίπεδα του φτάνουν περίπου το 97% των ολικών πολυφαινολών και κατά μέσο όρο το 3.7% του βάρους του ηλίόσπορου, κάτι που συμφωνεί με τα βιβλιογραφικά δεδομένα που παρατίθενται στην επόμενη παράγραφο. Επίσης, περιέχει υψηλή ποσότητα καφεϊκού οξέος (107.22 ± 8.52 mg/100 g). Οι συγκεντρώσεις των υπόλοιπων πολυφαινολών κυμάνθηκαν από 0.04 mg/100 g (π-υδροξυφαινολοξικό οξύ) έως 0.47 mg/100 g (κινναμωμικό οξύ).

Ο ηλίόσπορος (*Helianthus annuus*) ικανοποιεί τις αυξανόμενες ανάγκες για εδώδιμο έλαιο και πρωτεΐνη, λόγω της υψηλής περιεκτικότητας του σε έλαιο και της σχετικά υψηλής σύστασής του σε πρωτεΐνη. Ο ηλίόσπορος χρησιμοποιείται κυρίως στη διατροφή των μηρυκαστικών, αλλά οι διατροφικές και λειτουργικές ιδιότητες του το καθιστούν χρήσιμο στην ανθρώπινη διατροφή. Η πολυφαινολοξειδάση (PPO), η οποία βρίσκεται στον ηλίόσπορο, οξειδώνει το χλωρογενικό οξύ, το οποίο αποτελεί πάνω από το 70% των ολικών πολυφαινολικών ενώσεων στον ηλίόσπορο. Το χλωρογενικό οξύ, στην οξειδωμένη του μορφή, ενώνεται με τις πρωτεΐνες του σπόρου. Το καινούριο αυτό σύμπλεγμα προσδίδει το σκούρο πράσινο προς καφέ χρώμα στον ηλίόσπορο και στα πρωτεϊνικά τμήματα. Το χρώμα εξαρτάται από το βαθμό της οξείδωσης του χλωρογενικού οξέος, ο οποίος εξαρτάται από το ποσοστό του χλωρογενικού οξέος και της PPO στους σπόρους. Κάποιοι ερευνητές προσπάθησαν να επιτύχουν ελαφρό χρώμα στα πρωτεϊνικά τμήματα, είτε μέσω της απομάκρυνσης του χλωρογενικού οξέος, είτε μέσω απενεργοποίησης της PPO (Singh N et al., 1999). Οι De Leonardis A και συν. (2006) αναφέρουν ότι ο ηλίόσπορος περιέχει υψηλά ποσοστά χλωρογενικού οξέος (περίπου 80% των φαινολικών ενώσεων και 3-4% του βάρους του) και μία ειδική πολυφαινολοξειδάση που το οξειδώνει. Αναφέρεται ότι έχει αντιοξειδωτικές και λειτουργικές ιδιότητες. Ο φυσιολογικός ρόλος του χλωρογενικού οξέος στους σπόρους είναι να καθυστερεί την οξείδωση των αποθηκευμένων λιπιδίων, τα οποία βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις στον ηλίόσπορο.

6.2.2.Δ Υδρολύσεις πολυφαινολών στους ξηρούς καρπούς

Είναι γνωστό ότι πληθώρα πολυφαινολών βρίσκονται στη φύση υπό τη μορφή γλυκοζιτών ενώ συγχρόνως η αντιοξειδωτική δράση μπορεί να επηρεάζεται από τη γλυκοζυλίωση (Vinson JA et al., 1995). Είναι επίσης γνωστό ότι η ίδια αγλυκόνη μπορεί να σχηματίζει διαφορετικές ενώσεις ανάλογα με το μονο- ή ολιγο-σακχαρίτη με τον οποίο συζεύγνυται ενώ μια πληθώρα γλυκοζιτών μπορεί να παράγονται ανάλογα με το φυτό. Ως εκ τούτου από αναλυτική άποψη προκειμένου να απαντήσει κανείς στο ερώτημα ποιες μητρικές δομές πολυφαινολών υπάρχουν στο δείγμα, η υδρόλυση φέρνει σε κοινή βάση (ίδια πολυφαινόλη) όλους τους πιθανούς γλυκοζίτες. Από την άλλη πλευρά βάσει του πολυφαινολικού περιεχομένου πριν και μετά την υδρόλυση μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα για το ποσοστό γλυκοζυλίωσης των πολυφαινολών του δείγματος και για το είδος των πολυφαινολών που υπάρχουν στο δείγμα.

Δεδομένου ότι στα δείγματα των ξηρών καρπών μπορεί να υπήρχαν πολυφαινόλες-στόχοι που να βρίσκονταν υπό τη μορφή γλυκοζιτών, πραγματοποιήθηκαν υδρολύσεις σε δύο δείγματα ξηρών καρπών, το αμύγδαλο και το φιστίκι Αιγίνης. Στον πίνακα 6.2.10 παρατίθεται το σύνολο των πολυφαινολών πριν και μετά από ενζυμική υδρόλυση σε εκχυλίσματα αμυγδάλου και φιστικιού Αιγίνης. Φαίνεται ότι κάποιες πολυφαινόλες αυξήθηκαν μετά από την ενζυμική υδρόλυση, τόσο στο αμύγδαλο, όσο και στο φιστίκι Αιγίνης. Αυτό σημαίνει ότι στο εκχύλισμα των ξηρών καρπών υπήρχαν γλυκοζυλιωμένες πολυφαινόλες, στις οποίες κατά την υδρόλυση προκλήθηκε διάσπαση του γλυκοζυτικού δεσμού, μέσω της γλυκοζιδάσης. Στο αμύγδαλο αυξήθηκαν όλες οι πολυφαινόλες μετά την ενζυμική υδρόλυση, εκτός από το ο-κουμαρικό, την καμπερόλη, την κατεχίνη και την επικατεχίνη. Στο φιστίκι Αιγίνης οι πολυφαινολικές ενώσεις που δεν αυξήθηκαν ήταν το κινναμωμικό οξύ, το βανιλλικό οξύ, το ο-κουμαρικό οξύ, το πρωτοκατεχικό οξύ, το γαλλικό οξύ, η καμπερόλη, η κατεχίνη και η επικατεχίνη. Ενώ δηλαδή φαίνεται τόσο στο φιστίκι Αιγίνης όσο και στο αμύγδαλο υπάρχουν γλυκοζυλιωμένα παράγωγα πολυφαινολών – στόχων, και στα δύο δείγματα φαίνεται ότι η κατεχίνη και η επικατεχίνη καταστρέφονται. Έτσι, δεν κρίθηκε δόκιμο να εξεταστεί η αντιοξειδωτική δράση των υδρολυμένων δειγμάτων των ξηρών καρπών, τα οποία ήταν πλούσια σε κατεχίνη και επικατεχίνη, γιατί το αποτέλεσμα δε θα ήταν αντιπροσωπευτικό της αντιοξειδωτικής

ικανότητας του δείγματος. Το συμπέρασμα ότι οι κατεχίνη και η επικατεχίνη καταστρέφονται, προέκυψε τόσο κατά την όξινη, όσο και κατά τη βασική υδρόλυση.

Πίνακας 6.2.10: Συγκεντρώσεις πολυφαινολικών ενώσεων πριν και μετά από ενζυμική υδρόλυση στα εκχυλίσματα αμυγδάλου και φιστικιού Αιγίνης.

Πολυφαινολικές ενώσεις (mg/100g)	Αμύγδαλο πριν από υδρόλυση	Αμύγδαλο μετά από υδρόλυση	Φιστίκι Αιγίνης πριν από υδρόλυση	Φιστίκι Αιγίνης μετά από υδρόλυση
Βανιλίνη	0,01	0,04	nd	nd
Κιναμμωμικό οξύ	nd	0,84	0,02	nd
Τυροσόλη	nd	0,02	0,01	0,02
π-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ	0,10	0,15	0,05	0,16
π-υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	0,04	0,08	0,05	0,10
Φλωρετικό οξύ	0,05	0,15	0,04	0,07
Βανιλλικό οξύ	0,23	0,70	0,14	0,11
Ομοβανιλλικό οξύ	nd	nd	nd	0,08
ο-κουμαρικό οξύ	0,43	nd	0,56	nd
Πρωτοκατεχικό οξύ	0,70	0,75	1,76	1,30
π-κουμαρικό οξύ	0,13	0,91	0,00	0,46
Γαλλικό οξύ	0,16	0,34	2,04	1,14
Φερουλικό οξύ	0,12	0,36	0,08	0,16
Καφεϊκό οξύ	nd	0,15	nd	0,14
Ρεσβερατρόλη	0,05	0,16	0,10	0,13
Επικατεχίνη	3,51	1,09	0,61	0,23
Κατεχίνη	7,56	2,41	3,41	1,04
Καμπφερόλη	0,07	nd	0,05	nd
Κερκετίνη	nd	nd	nd	0,10
Σύνολο	13,15	8,15	8,91	3,28

6.2.2.Ε Επιλογή κατάλληλου διαλύτη εκχύλισης για ποσοτική παραλαβή των πολυφαινολών από τα όσπρια

Η επιλογή του κατάλληλου διαλύτη εκχύλισης για ποσοτική παραλαβή των πολυφαινολών από τα όσπρια βασίστηκε στη βιβλιογραφική ανασκόπηση που έγινε για το σκοπό αυτό. Συγκεκριμένα, επιλέχθηκε η μεθανόλη, η οποία είναι χαρακτηριστικός διαλύτης παραλαβής πολυφαινολών από τρόφιμα. Η μεθανόλη χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης εκχύλισης στις μελέτες των Beninger CW & Hosfield GL, 2003, Cardador-Martinez A et al., 2006 και Aparicio-Fernandez X et al., 2005.

6.2.2.ΣΤ Προσδιορισμός ολικών πολυφαινολών στα όσπρια με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

Στον πίνακα 6.2.11 παρουσιάζεται το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο των οσπρίων, όπως προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu (mg CAE/100 g).

Πίνακας 6.2.11.: Προσδιορισμός ολικών πολυφαινολών στα όσπρια με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

Είδος οσπρίου	Ποικιλία οσπρίου	Πολυφαινολικό περιεχόμενο (mg CAE/100g λυοφιλοποιημένου δείγματος)	Πολυφαινολικό περιεχόμενο (mg CAE/100g νωπού δείγματος)
Φασόλια	Μικρά	57,4	16,95
	Μεσαία	42,5	13,42
	Μεγάλα	47,1	13,48
	Γίγαντες	52	16,08
	Ελέφαντες	60,5	15,61
	Μαυρομάτικα	42,4	11,87
	Μπαρμπούνοφάσολα	64,8	18,14
Φάβα	πράσινη	42,8	11,78
	κίτρινη	42,4	13,64
Κουκιά	-	73,5	19,48
Ρεβίθια	-	91,8	30,38
Φακές	χοντρές	110,0	25,85
	ψιλές	92,4	25,86

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 6.2.11 το υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο σύμφωνα με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu έχουν τα ρεβίθια (30.38 mg CAE/100 g) και το χαμηλότερο η πράσινη φάβα (11.78 mg CAE/100 g). Οι ενδιάμεσες τιμές ολικών πολυφαινολών σε mg CAE/100 g νωπού δείγματος κατά αύξουσα σειρά είναι: 11.87 (φασόλια μαυρομάτικα) < 13.42 (φασόλια μεσαία) < 13.48 (φασόλια μεγάλα) < 13.64 (κίτρινη φάβα) < 15.61 (φασόλια ελέφαντες) < 16.08 (φασόλια γίγαντες) < 16.95 (φασόλια μικρά) < 18.14 (μπαρμπουνοφάσολα) < 19.48 (κουκιά) < 25.85 (φακές χοντρές) < 25.86 (φακές ψιλές). Από τις ποικιλίες φασολιών, το υψηλότερο ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο έχουν τα μπαρμπουναφάσολα και το μικρότερο τα μαυρομάτικα φασόλια.

Στη βιβλιογραφία υπάρχουν δεδομένα για το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο των αμερικάνικων φασολιών προσδιορισμένο με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu (Wu et al., 2004). Είναι δύσκολο όμως να γίνουν συγκρίσεις με το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο των ελληνικών οσπρίων, λόγω των διαφορετικών ποικιλιών του κάθε είδους φασολιού. Πάντως, θα ήταν ενδιαφέρον να αναφερθούν τα επίπεδα των ολικών πολυφαινολών των φασολιών που καταναλώνονται στην Αμερική, απλά για να φανεί ποιο είδος φασολιού, το αμερικάνικο ή το ελληνικό, είναι πλουσιότερο σε πολυφαινόλες, έστω και από τη γενική εικόνα που δίνει η μέθοδος Folin-Ciocalteu. Στον πίνακα 6.2.12 φαίνεται, ανάμεσα σε άλλα, το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο (TP) των φασολιών σε mg GAE/g ξηρού δείγματος. Τα φασόλια στη μελέτη αυτή δεν ήταν βρασμένα. Το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο των αμερικάνικων ωμών φασολιών κυμαίνεται από 2.23 έως 12.47 mg GAE/g ξηρού δείγματος. Είναι γνωστό ότι με το βράσιμο μειώνεται το πολυφαινολικό περιεχόμενο των τροφίμων σε μεγάλο βαθμό. Κατά συνέπεια, μπορούμε να υποθέσουμε ότι τα βρασμένα αμερικάνικα φασόλια θα έχουν μικρότερο ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο απ' αυτό που αναφέρεται για τα ωμά φασόλια. Τα ελληνικά βρασμένα φασόλια έχουν πολυφαινολικό περιεχόμενο που κυμαίνεται από 0.424 έως 0.648 mg CAE/g ξηρού δείγματος, το οποίο πιθανώς είναι χαμηλότερο από τα αμερικάνικα φασόλια.

Πίνακας 6.2.12.: Προσδιορισμός ολικών πολυφαινολών στα αμερικάνικα όσπρια με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu (Wu et al., 2004).

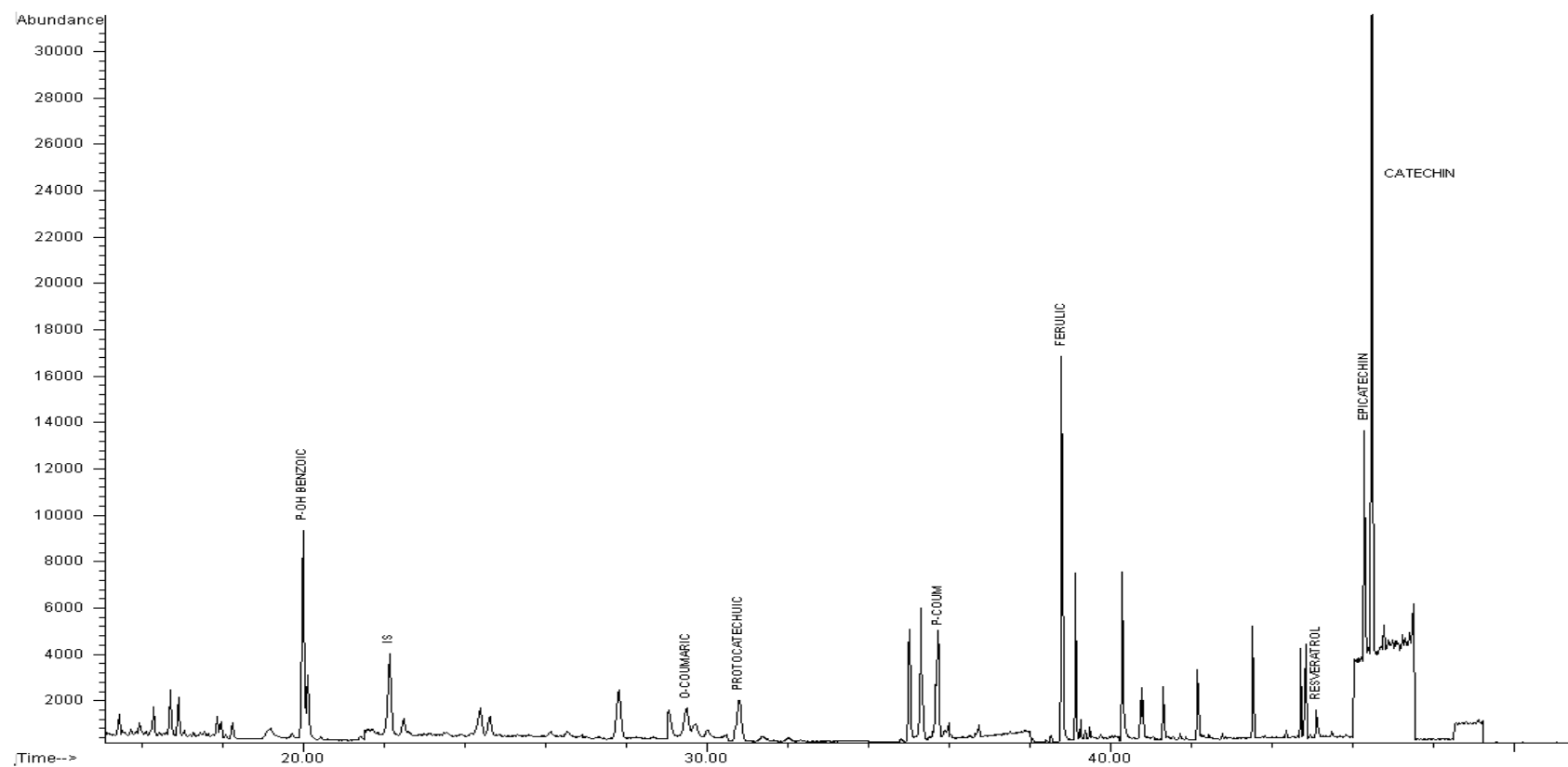
food name (variety)	moisture (%)	L-ORAC _{FL} ^b (μmol of TE/g)	range	H-ORAC _{FL} (μmol of TE/g)	range	TAC ^c (μmol of TE/g)	TP ^d (mg of GAE/g)	serving size ^e (g)	TAC/serving (μmol of TE)
beans, dry, mature									
black (D, ^m n = 1)	N/C	4.47	N/C	75.93	N/C	80.40	8.80	52 (1/2 c)	4181
navy (D, n = 1)	N/C	4.54	N/C	20.19	N/C	24.74	2.23	104 (1/2 c)	2573
pinto (D, n = 3)	N/C	4.22 ± 0.14	0.28	119.37 ± 4.57	7.92	123.59	10.23 ± 0.27	96 (1/2 c)	11864
red kidney (D, n = 1)	N/C	0.09	N/C	144.04	N/C	144.13	12.47	92 (1/2 c)	13259
small red (D, n = 1)	N/C	3.82	N/C	145.39	N/C	149.21	11.85	92 (1/2 c)	13727

6.2.2.Z Περιεχόμενο οσπρίων σε επιμέρους πολυφαινόλες

Στο σχήμα 6.2.2 παρατίθεται ένα ενδεικτικό χρωματογράφημα οσπρίου (μπαρμπουνοφάσολα). Στον πίνακα 6.2.13 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των πολυφαινολών και υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων στις διάφορες ποικιλίες φασολιών (mg/100 g νωπού δείγματος). Στα φασόλια ανιχνεύθηκαν από 12 (φασόλια μεσαία & μεγάλα) έως 17 (φασόλια μαυρομάτικα, μπαρμπουνοφάσολα) πολυφαινολικές ενώσεις.

Οι συγκεντρώσεις των πολυφαινολών στα φασόλια κυμάνθηκαν από 0.39 mg/100 g στα φασόλια ελέφαντες έως 1.02 mg/100 g στα μπαρμπουνοφάσολα. Οι ενδιάμεσες συγκεντρώσεις σε mg/100 g νωπού δείγματος ήταν: 0.42 (μεγάλα φασόλια), 0.44 (μεσαία φασόλια), 0.6 (φασόλια γίγαντες), 0.7 (μαυρομάτικα φασόλια), 0.77 (μικρά φασόλια). Οι συγκεντρώσεις των HPTA και συγκεκριμένα του ολεανολικού οξέος και ουρσολικού οξέος στα φασόλια, κυμάνθηκαν από 0.29 mg/100 g νωπού δείγματος στα μεγάλα φασόλια έως 8.28 mg/100 g στα φασόλια γίγαντες. Οι ενδιάμεσες συγκεντρώσεις σε mg/100 g νωπού δείγματος ήταν: 0.34 (φασόλια μεσαία), 0.4 (φασόλια ελέφαντες), 2.11 (μικρά φασόλια, μπαρμπουνοφάσολα), 2.59 (φασόλια μαυρομάτικα). Το σύνολο των πολυφαινολών και HPTA σε mg/100 g νωπού δείγματος κατά φθίνουσα σειρά ήταν: 8.88 (φασόλια γίγαντες) > 3.29 (φασόλια μαυρομάτικα) > 3.13 (μπαρμπουνοφάσολα) > 2.88 (φασόλια μικρά) > 0.79 (φασόλια ελέφαντες) > 0.78 (φασόλια μεσαία) > 0.71 (φασόλια μεγάλα). Τα φασόλια έχουν μελετηθεί αρκετά και υπάρχουν κάποια δεδομένα για το πολυφαινολικό περιεχόμενό τους, ιδιαίτερα για τα μεξικάνικα φασόλια. Βέβαια, είναι δύσκολο να γίνουν συγκρίσεις των ελληνικών και μεξικάνικων φασολιών, γιατί το κάθε είδος έχει διαφορετικές ποικιλίες.

Τα μικρά φασόλια δεν έχουν υψηλό πολυφαινολικό περιεχόμενο (0.77 mg/100 g νωπού δείγματος). Από τις πολυφαινολικές ενώσεις που υπάρχουν στα μικρά φασόλια, το φερουλικό οξύ είναι αυτό που βρίσκεται σε υψηλότερη συγκέντρωση (0.23 mg/100 g νωπού δείγματος). Είναι πλούσια σε ολεανολικό οξύ και αυτό ανεβάζει αρκετά το σύνολο των πολυφαινολών και των HPTA (2.88 mg/100 g νωπού δείγματος).



Σχήμα 6.2.2: Ενδεικτικό χρωματογράφημα οσπρίου (μπαρμπουνοφάσολα).

Τα μεσαίου μεγέθους φασόλια περιέχουν 0.44 mg πολυφαινολών/100 g νωπού δείγματος. Το φερουλικό οξύ είναι η κύρια πολυφαινολική ένωση σ' αυτή την ποικιλία φασολιών (0.12 mg/100 g νωπού δείγματος). Τα επίπεδα ολεανολικού οξέος (0.34 mg/100 g νωπού δείγματος) είναι υψηλά σε σχέση με τα επίπεδα των πολυφαινολών. Όπως και στα μικρά φασόλια, έτσι και στα μεσαία, τα HPTA βρίσκονται σε υψηλή συγκέντρωση, σε σχέση με τα επίπεδα των επιμέρους πολυφαινολικών ενώσεων.

Τα φασόλια μεγάλου μεγέθους έχουν, όπως και οι προαναφερθείσες ποικιλίες φασολιών, αυξημένα επίπεδα φερουλικού οξέος σε σχέση με τα επίπεδα των υπόλοιπων περιεχόμενων πολυφαινολών (0.12 mg/100 g νωπού δείγματος). Οι υπόλοιπες πολυφαινόλες περιέχονται σε μικρότερες ποσότητες. Τα επίπεδα ολεανολικού οξέος (0.25 mg/100 g νωπού δείγματος) είναι υψηλά σε σχέση με τα επίπεδα των πολυφαινολών που μελετήθηκαν. Επίσης, τα μεγάλα φασόλια είναι η μόνη ποικιλία φασολιών που περιέχει ουρσολικό οξύ (HPTA), έστω και σε πολύ χαμηλά επίπεδα (0.03 mg/100 g νωπού δείγματος).

Τα φασόλια ελέφαντες έχουν το χαμηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο σε σχέση με τις άλλες ποικιλίες φασολιών που μελετήθηκαν (0.39 mg/100 g νωπού δείγματος). Σε μεγαλύτερο ποσοστό περιέχουν το φερουλικό οξύ (0.11 mg/100 g νωπού δείγματος) και το ολεανολικό οξύ (0.4 mg/100 g νωπού δείγματος).

Όπως και στις υπόλοιπες ποικιλίες, έτσι και στα φασόλια γίγαντες, το φερουλικό οξύ είναι η κύρια πολυφαινόλη (0.14 mg/100 g νωπού δείγματος), ενώ οι άλλες πολυφαινολικές ενώσεις περιέχονται σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Η συγκεκριμένη ποικιλία περιέχει υψηλά επίπεδα ολεανολικού οξέος (8.28 mg/100 g νωπού δείγματος), τα υψηλότερα ανάμεσα στις ποικιλίες φασολιών που μελετήθηκαν. Το σύνολο των πολυφαινολικών ενώσεων και των HPTA ήταν υψηλό (8.88 mg/100 g νωπού δείγματος), ακριβώς λόγω του υψηλού περιεχομένου σε ολεανολικό οξύ.

Τα μαυρομάτικα φασόλια περιέχουν σε υψηλότερα επίπεδα π-κουμαρικό οξύ (0.10 mg/100 g νωπού δείγματος) και φερουλικό οξύ (0.13 mg/100 g νωπού δείγματος). Από τα HPTA, περιέχουν ολεανολικό οξύ (2.59 mg/100 g νωπού δείγματος) τα επίπεδα του οποίου είναι υψηλότερα από το σύνολο των πολυφαινολικών ενώσεων (0.7 mg/100 g νωπού δείγματος).

Η τελευταία ποικιλία φασολιών που μελετήθηκε είναι τα μπαρμπουνοφάσολα. Η κύρια πολυφαινόλη είναι το φερουλικό οξύ (0.22 mg/100 g νωπού δείγματος), ενώ οι υπόλοιπες πολυφαινόλες που μελετήθηκαν περιέχονται σε χαμηλότερες

συγκεντρώσεις. Τα επίπεδα ολεανολικού οξέος (2.11 mg/100 g νωπού δείγματος) είναι διπλάσια σε σχέση με το σύνολο των πολυφαινολών που μελετήθηκαν.

Πίνακας 6.2.13: Συγκεντρώσεις πολυφαινολικών ενώσεων και υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων στα φασόλια (mg/100 g νωπού δείγματος)

Πολυφαινολικές ενώσεις και ΗΡΤΑ	Φασόλια μικρά	Φασόλια μεσαία	Φασόλια μεγάλα	Φασόλια ελέφαντες	Φασόλια γίγαντες	Φασόλια μαυρομάτικα	Μπαρμπούνοφάσολα
Πολυφαινολικές ενώσεις	mg/100g νωπού δείγματος						
Κιναμμωμικό οξύ	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
π-υδροξυβενζοϊκό οξύ	0,03	0,02	0,01	0,01	0,01	0,04	0,04
π-υδροξυφαινυλοξικό οξύ	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Φλωρετικό οξύ	0,02	nd	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02
Βανιλλικό οξύ	0,02	nd	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02
Ομοβανιλλική αλκοόλη	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	tr	nd
ο-κουμαρικό οξύ	0,09	0,05	0,07	0,04	0,05	0,06	0,08
Πρωτοκατεχικό οξύ	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	0,06
Συριγγικό οξύ	0,02	0,02	nd	nd	0,02	0,02	nd
π-κουμαρικό οξύ	0,10	0,05	0,05	0,04	0,06	0,10	0,08
Γαλλικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	0,02	0,02
Φερουλικό οξύ	0,23	0,12	0,12	0,11	0,14	0,13	0,22
Καφεϊκό οξύ	0,04	0,04	0,03	nd	0,04	0,03	0,04
Σιναπτικό οξύ	0,08	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Ρεσβερατρόλη	0,03	0,03	nd	0,03	0,07	0,04	0,04
Χρυσίνη	nd	nd	nd	0,02	nd	nd	nd
Επικατεχίνη	nd	nd	nd	nd	0,02	0,04	0,11
Κατεχίνη	0,04	nd	nd	nd	0,04	0,07	0,20
Καμπφερόλη	0,03	nd	nd	nd	nd	nd	0,02
Χλωρογενικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σύνολο πολυφαινολικών ενώσεων	0,77	0,44	0,42	0,39	0,60	0,70	1,02
Υδροξυπεντακυκλοτερπενικά οξέα							
Ολεανολικό οξύ	2,11	0,34	0,25	0,40	8,28	2,59	2,11
Ουρσολικό οξύ	nd	nd	0,03	nd	nd	nd	nd
Σύνολο ΗΡΤΑ	2,11	0,34	0,29	0,40	8,28	2,59	2,11
Σύνολο PP και ΗΡΤΑ	2,88	0,78	0,71	0,79	8,88	3,29	3,13

Οι συγκεντρώσεις των πολυφαινολικών ενώσεων και των ΗΡΤΑ εκφράστηκαν ως mg/100 g νωπού δείγματος.

tr (traces): Συγκέντρωση πολυφαινολών < 0.005 mg/100 g δείγματος

nd (not detected): Δεν ανιχνεύθηκε

Στον πίνακα 6.2.14 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των πολυφαινολών και υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων των υπόλοιπων οσπρίων που μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη (mg/100 g νωπού δείγματος). Γενικά, δεν υπάρχουν δεδομένα στη βιβλιογραφία για το συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο των οσπρίων, προσδιορισμένο με αέρια χρωματογραφία και έτσι είναι δύσκολο να γίνουν συγκρίσεις με αποτελέσματα άλλων μελετών.

Πίνακας 6.2.14: Συγκεντρώσεις πολυφαινολικών ενώσεων και υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων στα όσπρια (mg/100 g νωπού δείγματος)

Πολυφαινολικές ενώσεις και HPTA	Φάβα πράσινη	Φάβα κίτρινη	Κουκιά	Ρεβίθια	Φακές χοντρές	Φακές ψιλές
mg/100g νωπού δείγματος						
Πολυφαινολικές ενώσεις						
Κιναμμωμικό οξύ	0,01	0,02	0,02	0,02	nd	nd
π-υδροξυβενζοϊκό οξύ	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02
π-υδροξυφαινυλοξικό οξύ	nd	nd	0,01	0,01	nd	0,01
Φλωρετικό οξύ	nd	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02
Βανιλλικό οξύ	0,02	0,02	nd	0,02	0,02	0,02
Υδροξυτυροσόλη	0,03	0,03	nd	nd	nd	nd
ο-κουμαρικό οξύ	0,06	0,04	0,08	0,05	0,03	0,03
Πρωτοκατεχικό οξύ	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02
Συριγγικό οξύ	nd	0,03	nd	nd	nd	nd
π-κουμαρικό οξύ	0,04	0,04	0,06	0,04	0,07	0,07
Γαλλικό οξύ	nd	nd	nd	nd	0,02	nd
Φερουλικό οξύ	0,06	0,04	0,04	0,04	0,03	0,04
Σιναπτικό οξύ	nd	0,00	0,04	0,07	nd	nd
Ρεσβερατρόλη	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02	0,03
Χρυσίνη	nd	nd	nd	nd	nd	0,03
Επικατεχίνη	nd	0,03	0,08	nd	0,90	0,60
Κατεχίνη	nd	0,05	0,08	nd	0,95	0,66
Καμπφερόλη	nd	nd	nd	nd	0,02	0,03
Κερκετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σύνολο πολυφαινολικών ενώσεων	0,28	0,37	0,48	0,32	2,12	1,55
Υδροξυπεντακυκλοτερπενικά οξέα						
Ολεανολικό οξύ	0,72	0,93	1,24	1,44	0,42	0,46
Ουρσολικό οξύ	nd	nd	nd	2,48	0,45	0,37
Σύνολο HPTA	0,72	0,93	1,24	3,91	0,87	0,82
Σύνολο PP και HPTA	1,00	1,30	1,72	4,23	2,99	2,37

Οι συγκεντρώσεις των πολυφαινολικών ενώσεων και των HPTA εκφράστηκαν ως mg/100 g νωπού δείγματος
nd (not detected): Δεν ανιχνεύθηκε

Μεταξύ 28 πολυφαινολών-στόχων 9 ανιχνεύθηκαν στην πράσινη φάβα, 14 στην κίτρινη φάβα, 12 στα κουκιά, 11 στα ρεβίθια, 12 στις χοντρές φακές και 14 στις ψιλές φακές. Οι συγκεντρώσεις των πολυφαινολών στα όσπρια κυμάνθηκαν από 0.28 mg/100 g νωπού δείγματος στην πράσινη φάβα έως 2.12 mg/100 g νωπού δείγματος στις χοντρές φακές. Οι ενδιάμεσες συγκεντρώσεις πολυφαινολών σε mg/100 g νωπού δείγματος ήταν: 0.32 (ρεβίθια), 0.37 (κίτρινη φάβα), 0.48 (κουκιά), 1.55 (ψιλές φακές). Οι συγκεντρώσεις των HPTA και συγκεκριμένα του ολεανολικού οξέος και ουρσολικού οξέος στα όσπρια, κυμάνθηκαν από 0.72 mg/100 g νωπού δείγματος στην πράσινη φάβα έως 3.91 mg/100 g νωπού δείγματος στα ρεβίθια. Οι ενδιάμεσες συγκεντρώσεις HPTA σε mg/100 g νωπού δείγματος ήταν: 0.87 (φακές χοντρές), 0.82 (φακές ψιλές), 0.93 (φάβα κίτρινη), 1.24 (κουκιά). Το σύνολο των πολυφαινολών και HPTA σε mg/100 g νωπού δείγματος κατά φθίνουσα σειρά ήταν: 4.23 (ρεβίθια) > 2.99 (φακές χοντρές) > 2.37 (φακές ψιλές) > 1.72 (κουκιά) > 1.30 (φάβα κίτρινη) > 1.00 (φάβα πράσινη).

Στην παρούσα μελέτη μελετήθηκαν δύο ποικιλίες φάβας, η πράσινη και η κίτρινη. Η πράσινη φάβα περιείχε πολύ μικρές ποσότητες πολυφαινολών (σύνολο 0.28 mg/100 g νωπού δείγματος). Οι κύριες πολυφαινόλες βρέθηκαν να είναι το ο-κουμαρικό οξύ και το φερουλικό οξύ (0.06 mg/100 g νωπού δείγματος). Η συγκέντρωση του ολεανολικού οξέος ήταν 0.72 mg/100 g νωπού δείγματος. Η κίτρινη φάβα περιείχε 0.37 mg πολυφαινολών/100 g νωπού δείγματος, δηλαδή λίγο υψηλότερα επίπεδα από την πράσινη φάβα. Σε υψηλότερα επίπεδα περιείχε κατεχίνη (0.05 mg/100 g νωπού δείγματος). Η συγκέντρωση του ολεανολικού οξέος στην κίτρινη φάβα ήταν 0.93 mg/100 g νωπού δείγματος. Το σύνολο των πολυφαινολικών ενώσεων και των HPTA στην πράσινη φάβα ήταν 1.00 mg/100 g νωπού δείγματος, ενώ στην κίτρινη φάβα ήταν 1.30 mg/100 g νωπού δείγματος.

Τα κουκιά περιείχαν 0.48 mg πολυφαινολικών ενώσεων/100 g νωπού δείγματος. Σε μεγαλύτερη συγκέντρωση περιείχαν κατεχίνη και επικατεχίνη (0.08 mg/100 g νωπού δείγματος). Τα επίπεδα του ολεανολικού οξέος ήταν 1.24 mg/100 g νωπού δείγματος και αποτελούν τα υψηλότερα επίπεδα HPTA που ανιχνεύθηκαν στα όσπρια του πίνακα 6.2.14, αμέσως μετά από τα ρεβίθια.

Τα ρεβίθια έχουν το υψηλότερο περιεχόμενο σε HPTA σε σχέση με τη φάβα, τις φακές και τα κουκιά. Συγκεκριμένα, περιέχουν 3.91 mg HPTA/100 g νωπού δείγματος. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι τα ρεβίθια είναι τα μόνα όσπρια, συμπεριλαμβανομένων και των φασολιών, που περιέχουν ουρσολικό οξύ σε υψηλά

επίπεδα (2.48 mg/100 g νωπού δείγματος). Όσον αφορά στις περιεχόμενες πολυφαινόλες, τα επίπεδα τους στα ρεβίθια ήταν χαμηλά σε σχέση με τα υπόλοιπα όσπρια (0.32 mg/100 g νωπού δείγματος), ενώ η κύρια πολυφαινόλη ήταν το σιναπικό οξύ (0.07 mg/100 g νωπού δείγματος).

Δύο ποικιλίες φακής μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη, οι χοντρές και οι ψιλές. Το χαρακτηριστικό αυτού του είδους οσπρίου είναι ότι είχε το υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο σε σύγκριση με τα όσπρια που μελετήθηκαν, συμπεριλαμβανομένων και των φασολιών. Συγκεκριμένα, οι χοντρές φακές περιέχουν 2.12 mg πολυφαινολικών ενώσεων/100 g νωπού δείγματος και οι ψιλές φακές 1.55 mg πολυφαινολικών ενώσεων/100 g νωπού δείγματος. Οι κυριότερες πολυφαινόλες στις χοντρές φακές είναι η κατεχίνη (0.95 mg /100 g νωπού δείγματος) και η επικατεχίνη (0.90 mg /100 g νωπού δείγματος). Το ίδιο ισχύει και για τις ψιλές φακές (κατεχίνη 0.66 mg /100 g νωπού δείγματος, επικατεχίνη 0.60 mg /100 g νωπού δείγματος), κάτι που συμφωνεί με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Duenas M et al., 2003). Οι φακές περιέχουν ολεανολικό και ουρσολικό οξύ, αλλά το σύνολο τους είναι χαμηλό σε σχέση με το σύνολο των HPTA στα κουκιά και στα ρεβίθια. Οι χοντρές και ψιλές φακές περιέχουν 0.42 και 0.46 mg ολεανολικού οξέος/100 g νωπού δείγματος, αντίστοιχα. Επίσης, περιέχουν 0.45 και 0.37 mg ουρσολικού οξέος/100 g νωπού δείγματος, αντίστοιχα. Το σύνολο των πολυφαινολικών ενώσεων και HPTA στις χοντρές φακές είναι 2.99 mg /100 g νωπού δείγματος, ελαφρώς υψηλότερο από το σύνολο τους στις ψιλές φακές, το οποίο είναι 2.37 mg /100 g νωπού δείγματος.

Στον πίνακα 6.2.15 παρουσιάζεται συνοπτικά το σύνολο των πολυφαινολικών ενώσεων και των υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων σε mg /100 g νωπού δείγματος σε όλα τα δείγματα οσπρίων που μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Τα υψηλότερα επίπεδα πολυφαινολικών ενώσεων έχουν οι χοντρές φακές και τα χαμηλότερα η πράσινη φάβα. Τη μεγαλύτερη συγκέντρωση σε HPTA έχουν τα φασόλια γίγαντες και τη χαμηλότερη τα μεγάλα φασόλια. Το μεγαλύτερο σύνολο πολυφαινολικών ενώσεων και HPTA έχουν τα φασόλια γίγαντες και το μικρότερο τα μεγάλα φασόλια.

Πίνακας 6.2.15: Σύνολο πολυφαινολικών ενώσεων και υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων στα όσπρια (mg/100 g νωπού δείγματος)

	Φασόλια μικρά	Φασόλια μεσαία	Φασόλια μεγάλα	Φασόλια ελέφαντες	Φασόλια γίγαντες	Φασόλια μαυρομάτικα	Μπαρμπούνο- φάσολα	Φάβα πράσινη	Φάβα κίτρινη	Κουκιά	Ρεβίθια	Φακές χοντρές	Φακές ψιλές
Σύνολο πολυφαινολικών ενώσεων	0.77	0.44	0.42	0.39	0.60	0.70	1.02	0.28	0.37	0.48	0.32	2.12	1.55
Σύνολο ΗΡΤΑ	2.11	0.34	0.29	0.40	8.28	2.59	2.11	0.72	0.93	1.24	3.91	0.87	0.82
Σύνολο πολυφαινολικών ενώσεων και ΗΡΤΑ	2.88	0.78	0.71	0.79	8.88	3.29	3.13	1.00	1.30	1.72	4.23	2.99	2.37

6.2.3 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης

6.2.3.A Ξηροί καρποί και ελαιούχοι σπόροι

6.2.3.A.1. Ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας $DPPH^{\bullet}$ (2, 2 – Diphenyl – 1 – picrylhydrazyl radical scavenging assay) και ικανότητα αναγωγής του Fe^{3+} (FRAP, Ferric anion Reducing Antioxidant Power)

Στον πίνακα 6.2.16 φαίνεται η αντιοξειδωτική δράση των ξηρών καρπών και των ελαιούχων σπόρων, όπως προσδιορίστηκε με τις μεθόδους DPPH και FRAP.

Πίνακας 6.2.16: Αντιοξειδωτική δράση ξηρών καρπών: (α) Ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας $DPPH^{\bullet}$ (2,2-διφαινυλο-1-πικρυλοϋδραζυλο ελεύθερη ρίζα) εκφρασμένη σε ισοδύναμα Trolox και (β) Ικανότητα αναγωγής του Fe^{3+} (FRAP, ferric anion reducing antioxidant power) εκφρασμένη σε ισοδύναμα ασκορβικού οξέος.

Δείγμα	$\mu\text{mol Trolox} / 100\text{g}$ ξηρού καρπού	mg ασκορβικού οξέος / 100g ξηρού καρπού
Αμύγδαλο	$0,3 \pm 0,0^*$	$2,4 \pm 0,4^*$
Καρύδι	$14,2 \pm 1,3$	$187,4 \pm 15,7$
Φιστίκι Αιγίνης	$3,0 \pm 0,1$	$26,0 \pm 2,3$
Φουντούκι	$1,6 \pm 0,1$	$16,7 \pm 2,4$
Ηλιόσπορος	$6,1 \pm 0,2$	$81,1 \pm 1,2$
Κολοκυθόσπορος	$0,2 \pm 0,0$	$1,0 \pm 0,2$

Τα δεδομένα εκφράστηκαν ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση (n=3, * n=2)

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 6.2.16, η αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων προσδιορισμένη με τη μέθοδο DPPH, κυμάνθηκε από 0.2 ± 0.0 (κολοκυθόσπορος) έως 14.2 ± 1.3 (καρύδι) $\mu\text{mol Trolox}/100\text{g}$ ξηρού καρπού. Οι ενδιάμεσες τιμές σε $\mu\text{mol Trolox}/100\text{g}$ ξηρού καρπού κατά αύξουσα σειρά ήταν: 0.3 ± 0.0 (αμύγδαλο) < 1.6 ± 0.1 (φουντούκι) < 3.0 ± 0.1 (φιστίκι Αιγίνης) < 6.1 ± 0.2 (ηλιόσπορος). Η ίδια σειρά ακολουθήθηκε και στις τιμές της αντιοξειδωτικής δράσης που προέκυψαν από τη μέθοδο FRAP. Συγκεκριμένα, τη μεγαλύτερη τιμή είχε το καρύδι (187.4 ± 15.7 mg ασκορβικού οξέος/100g ξηρού καρπού) και τη μικρότερη τιμή ο κολοκυθόσπορος (1.0 ± 0.2 mg

ασκορβικού οξέος/100g ξηρού καρπού). Οι ενδιάμεσες τιμές σε mg ασκορβικού οξέος/100g ξηρού καρπού κατά αύξουσα σειρά ήταν: 2.4 ± 0.4 (αμύγδαλο) < 16.7 ± 2.4 (φουντούκι) < 26.0 ± 2.3 (φιστίκι Αιγίνης) < 81.1 ± 1.2 (ηλιόσπορος).

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας είναι σε συμφωνία με τα βιβλιογραφικά δεδομένα, όσον αφορά στην ιεράρχηση των ξηρών καρπών ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση. Συγκεκριμένα, οι Pellegrini N et al. (2006) μελέτησαν την αντιοξειδωτική δράση των ξηρών καρπών (αμύγδαλο, φουντούκι, αράπικο φιστίκι, κουκουνάρι, φιστίκι Αιγίνης, καρύδι) με τις μεθόδους FRAP, TRAP και TEAC. Και στις τρεις μεθόδους, το καρύδι εμφάνισε τις υψηλότερες τιμές ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας και ακολούθησε το φιστίκι Αιγίνης. Οι πολύ ψηλές τιμές ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας που παρουσιάζει το καρύδι δεν είναι παράξενες, δεδομένου του πολύ υψηλού πολυφαινολικού περιεχομένου του. Οι πολυφαινόλες του καρυδιού είναι κυρίως μη φλαβονοειδή (πχ. ελλαγιταννίνες) και βρίσκονται κυρίως στη λεπτή σκούρα καφέ επιδερμίδα που καλύπτει τη ψίχα του καρπού. Οι περισσότερες απ' αυτές τις ενώσεις φαίνεται ότι παρουσιάζουν υψηλή αντιοξειδωτική δράση. Η αντιοξειδωτική δράση του φιστικιού Αιγίνης μπορεί να οφείλεται στην παρουσία ανθοκυανινών. Χαμηλότερα στην ιεραρχική σειρά βρίσκεται το φουντούκι και το αμύγδαλο. Οι ελαιούχοι σπόροι δεν έχουν μελετηθεί ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση.

Οι Wu et al. (2004) μελέτησαν την αντιοξειδωτική δράση των ξηρών καρπών με τη μέθοδο ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay). Η ολική αντιοξειδωτική δράση (TAC, $\mu\text{mol of Trolox Equivalents/g}$) κατά φθίνουσα σειρά στους ξηρούς καρπούς είχε ως εξής: καρύδι > φουντούκι > φιστίκι Αιγίνης > αμύγδαλο. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής διαφέρουν από τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας και της εργασίας των Pellegrini N et al. (2006) στο ότι το φουντούκι έχει υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση από το φιστίκι Αιγίνης.

6.2.3.A.2. Συσχετίσεις μεταξύ ολικών πολυφαινολών (Folin-Ciocalteu), επιμέρους πολυφαινολών (GC-MS) και αντιοξειδωτικής δράσης (DPPH και FRAP) ξηρών καρπών και ελαιούχων σπόρων

Στον πίνακα 6.2.17 παρουσιάζονται συνοπτικά οι τιμές που προέκυψαν από τον προσδιορισμό των ολικών και επιμέρους πολυφαινολικών συστατικών με Folin-

Ciocalteu και αέρια χρωματογραφία (GC-MS) αντίστοιχα, καθώς και η αντιοξειδωτική δράση, όπως προσδιορίστηκε από τις μεθόδους DPPH και FRAP. Στον πίνακα 6.2.18 φαίνονται οι συσχετίσεις μεταξύ των αποτελεσμάτων των μεθόδων αυτών.

Πίνακας 6.2.17: Τιμές ολικών και επιμέρους πολυφαινόλων, ολεανολικού οξέος και αντιοξειδωτικής δράσης ξηρών καρπών και ελαιούχων σπόρων

Ξηροί καρποί	Folin-Ciocalteu ^a	DPPH ^b	FRAP ^c	Επιμέρους πολυφαινόλες ^d	Ολεανολικό οξύ ^d
Αμύγδαλο	65,2	0,30*	2,40*	2,96	1,40
Καρύδι	1215,6	14,21	187,43	43,71	4,68
Φιστίκι Αιγίνης	248,2	3,01	26,01	13,89	6,13
Φουντούκι	134,8	1,60	16,68	3,33	1,77
Ηλιόσπορος	662,0	6,12	81,14	3810,40	9,03
Κολοκυθόσπορος	50,4	0,16	0,99	2,52	8,29

a: Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg CAE/100 g νωπού δείγματος

b: Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως $\mu\text{mol Trolox}/100\text{g}$ νωπού δείγματος

c: Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg ασκορβικού οξέος/100g νωπού δείγματος

d: Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg/100g νωπού δείγματος

Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέσος όρος (n=3, *n=2)

Πίνακας 6.2.18: Συσχετίσεις μεταξύ μεθόδων προσδιορισμού πολυφαινόλων και αντιοξειδωτικής δράσης: α) όλων των ξηρών καρπών και ελαιούχων σπόρων και β) όλων των ξηρών καρπών και ελαιούχων σπόρων, εκτός του ηλιόσπορου.

(α) Μέθοδος	Folin-Ciocalteu	DPPH	FRAP	Επιμέρους πολυφαινόλες	Ολεανολικό οξύ
Folin-Ciocalteu	1,000				
DPPH	0,993	1,000			
FRAP	0,995	0,998	1,000		
Επιμέρους πολυφαινόλες	0,292	0,182	0,204	1,000	
Ολεανολικό οξύ	0,208	0,143	0,145	0,583	1,000

p<0.05, R>0.811

(β) Μέθοδος	Folin-Ciocalteu	DPPH	FRAP	Επιμέρους πολυφαινόλες	Ολεανολικό οξύ
Folin-Ciocalteu	1,000				
DPPH	0,999	1,000			
FRAP	0,999	0,998	1,000		
Επιμέρους πολυφαινόλες	0,991	0,992	0,984	1,000	
Ολεανολικό οξύ	0,056	0,053	0,041	0,120	1,000

p<0.05, R>0.878

Όπως φαίνεται στον πίνακα 6.2.18α, υπάρχει πάρα πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ των ολικών πολυφαινόλων προσδιορισμένων με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu και της αντιοξειδωτικής δράσης των ξηρών καρπών, όπως προσδιορίστηκε με τις μεθόδους DRRH και FRAP. Επίσης, υπάρχει καλή συσχέτιση μεταξύ των μεθόδων προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής δράσης. Οι επιμέρους πολυφαινόλες (GC-MS) δε φαίνεται να συσχετίζονται ούτε με την αντιοξειδωτική δράση, αλλά ούτε και με τις ολικές πολυφαινόλες.

Στον πίνακα 6.2.18β παρουσιάζονται οι συσχετίσεις μεταξύ των μεθόδων, μετά από αποκλεισμό του ηλιόσπορου. Ο ηλιόσπορος έχει πολύ υψηλά επίπεδα χλωρογενικού οξέος (3.7% του βάρους του δείγματος) και κατά συνέπεια το σύνολο των επιμέρους πολυφαινόλων είναι υψηλό σε σχέση με τους υπόλοιπους ξηρούς καρπούς. Ο ηλιόσπορος όμως δεν παρουσιάζει τις υψηλότερες τιμές ολικών πολυφαινόλων και αντιοξειδωτικής δράσης. Αυτό πιθανώς να οφείλεται στο γεγονός ότι άλλες πολυφαινολικές ενώσεις, εκτός του χλωρογενικού, παρουσιάζουν υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση. Τέτοιες ενώσεις μπορεί να είναι το γαλλικό οξύ και η κατεχίνη, οι οποίες βρίσκονται σε υψηλή συγκέντρωση στο καρύδι σε σχέση με τον ηλιόσπορο. Έτσι, όταν αποκλειστεί ο ηλιόσπορος, ο οποίος έχει αυτή την ιδιαιτερότητα, από τις συσχετίσεις, προκύπτουν πολύ καλά αποτελέσματα. Συγκεκριμένα, όλες οι μέθοδοι συσχετίζονται πολύ καλά ($R > 0.990$). Το ολεανολικό οξύ δε φαίνεται να συσχετίζεται σημαντικά με κάποια μέθοδο σε καμία από τις δύο περιπτώσεις, αλλά μπορεί να έχει συνεργιστική δράση με τις πολυφαινόλες και τελικά να συμβάλλει στην αντιοξειδωτική ικανότητα του δείγματος. Πάντως, έχει αναφερθεί ότι τα τριτερπένια παρουσιάζουν, ανάμεσα σε άλλα, και αντιοξειδωτική/αντιοθηρογόνο δράση (Dedoussis et al., 2004).

6.2.3.B. Όσπρια

6.2.3.B.1. Ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH[•] (2, 2 – Diphenyl – 1 – picrylhydrazyl radical scavenging assay) και ικανότητα αναγωγής του Fe³⁺ (FRAP, Ferric anion Reducing Antioxidant Power)

Στον πίνακα 6.2.19 φαίνεται η αντιοξειδωτική δράση των οσπρίων, όπως προσδιορίστηκε με τις μεθόδους DPPH και FRAP.

Πίνακας 6.2.19: Αντιοξειδωτική δράση οσπρίων: (α) Ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH[•] (2,2-διφαινυλο-1-πικρυλοϋδραζυλο ελεύθερη ρίζα) εκφρασμένη σε ισοδύναμα Trolox και (β) Ικανότητα αναγωγής του Fe³⁺ (FRAP, ferric anion reducing antioxidant power) εκφρασμένη σε ισοδύναμα ασκορβικού οξέος.

Δείγμα	μmol Trolox/100g λυοφιλοποιημένου δείγματος	μmol Trolox/100g νωπού δείγματος	mg Asc/100g λυοφιλοποιημένου δείγματος	mg Asc/100g λυοφιλοποιημένου δείγματος
Φασόλια μικρά	0,25	0,074	1,47	0,642
Φασόλια μεσαία	0,23	0,073	3,01	0,950
Φασόλια μεγάλα	0,24	0,070	0,86	0,246
Φασόλια γίγαντες	0,25	0,077	0,9	0,279
Φασόλια ελέφαντες	0,27	0,068	0,87	0,224
Φασόλια μαυρομάτικα	0,22	0,061	4,27	1,196
Μπαμπονοφάσολα	0,27	0,076	2,29	0,432
Φάβα πράσινη	0,23	0,064	0,85	0,235
Φάβα κίτρινη	0,25	0,080	2,29	0,738
Κουκιά	0,23	0,062	3,41	0,904
Ρεβιθιά	0,29	0,097	0,86	0,284
Φακές χοντρές	0,30	0,070	3,95	0,928
Φακές ψιλές	0,38	0,105	4,32	1,210

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 6.2.19, η αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων προσδιορισμένη με τη μέθοδο DPPH, κυμάνθηκε από 0.061 (φασόλια μαυρομάτικα) έως 0.105 (φακές ψιλές) μmol Trolox/100g νωπού δείγματος. Οι ενδιάμεσες τιμές σε μmol Trolox/100g νωπού οσπρίου κατά αύξουσα σειρά ήταν: 0.062 (κουκιά) < 0.064 (φάβα

πράσινη) < 0.068 (φασόλια ελέφαντες) < 0.070 (φασόλια μεγάλα, φακές χοντρές) < 0.073 (φασόλια μεσαία) < 0.074 (φασόλια μικρά) < 0.076 (μπαρμπουνοφάσολα) < 0.077 (φασόλια γίγαντες) < 0.080 (φάβα κίτρινη) < 0.097 (ρεβίθια). Στη μέθοδο FRAP τη μεγαλύτερη τιμή αντιοξειδωτικής δράσης είχαν οι ψιλές φακές (1.210 mg ασκορβικού οξέος/100g νωπού δείγματος) και τη μικρότερη τιμή τα φασόλια ελέφαντες (0.224 mg ασκορβικού οξέος/100g). Οι ενδιάμεσες τιμές σε mg ασκορβικού οξέος/100g νωπού δείγματος κατά αύξουσα σειρά ήταν: 0.235 (πράσινη φάβα) < 2.46 (μεγάλα φασόλια) < 0.279 (φασόλια γίγαντες) < 0.284 (ρεβίθια) < 0.432 (μπαρμπουνοφάσολα) < 0.642 (φασόλια μικρά) < 0.738 (φάβα κίτρινη) < 0.904 (κουκιά) < 0.928 (φακές χοντρές) < 0.950 (φασόλια μεσαία) < 1.196 (φασόλια μαυρομάτικα).

Οι Pellegrini et al. (2006) προσδιόρισαν το πολυφαινολικό περιεχόμενο κάποιων οσπρίων με τις μεθόδους FRAP (Ferric reducing antioxidant power), TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter) και TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity). Ανέφεραν ότι οι φακές και τα κουκιά είχαν την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα, ενώ τα ρεβίθια είχαν τις χαμηλότερες τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας. Η ιεράρχηση των οσπρίων όσον αφορά στην τιμή της αντιοξειδωτικής δράσης σε mmol Fe²⁺/kg ήταν: φακές > κουκιά > φασόλια > αρακάς > ρεβίθια, κάτι που συμφωνεί με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας. Βέβαια, στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν πολλές ποικιλίες φασολιών και έτσι είναι δύσκολο να γίνουν συγκρίσεις στην περίπτωση τους.

6.2.3.B.2. Συσχετίσεις μεταξύ ολικών πολυφαινολών (Folin-Ciocalteu), επιμέρους πολυφαινολών (GC-MS) και αντιοξειδωτικής δράσης (DPPH και FRAP) οσπρίων

Στον πίνακα 6.2.20 παρουσιάζονται συνοπτικά οι τιμές που προέκυψαν από τον προσδιορισμό των ολικών και επιμέρους πολυφαινολικών συστατικών με Folin-Ciocalteu και αέρια χρωματογραφία (GC-MS) αντίστοιχα, καθώς και η αντιοξειδωτική δράση, όπως προσδιορίστηκε από τις μεθόδους DPPH και FRAP. Στον πίνακα περιλαμβάνονται και τα υδροξυπεντακυκλοτερπενικά οξέα. Στον πίνακα 6.2.21 φαίνονται οι συσχετίσεις μεταξύ των αποτελεσμάτων των μεθόδων αυτών.

Πίνακας 6.2.20: Τιμές ολικών και επιμέρους πολυφαινόλων, υδροξυπεντακυκλοτερπενικών οξέων και αντιοξειδωτικής δράσης οσπρίων

Όσπρια	Folin-Ciocalteu ^a	DPPH ^b	FRAP ^c	Επιμέρους πολυφαινόλες (GC-MS) ^d	HPTA ^d
φασόλια μικρά	16,95	0,074	0,432	0,77	2,11
φασόλια μεσαία	13,42	0,073	0,950	0,44	0,34
φασόλια μεγάλα	13,48	0,070	0,246	0,42	0,29
φασόλια γίγαντες	16,08	0,077	0,279	0,60	8,28
φασόλια ελέφαντες	15,61	0,068	0,224	0,39	0,40
φασόλια μαυρομάτικα	11,87	0,061	1,196	0,70	2,59
μπαρμπονοφάσολα	18,14	0,076	0,642	1,02	2,11
φάβα πράσινη	11,78	0,064	0,235	0,28	0,72
φάβα κίτρινη	13,64	0,080	0,738	0,37	0,93
κουκιά	19,48	0,062	0,904	0,48	1,24
ρεβίθια	30,38	0,097	0,284	0,32	3,91
φακές χονδρές	25,85	0,070	0,928	2,12	0,87
φακές ψιλές	25,86	0,105	1,210	1,55	0,82

a: Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg CAE/100 g νωπού δείγματος

b: Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως $\mu\text{mol Trolox}/100\text{g}$ νωπού δείγματος

c: Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg ασκορβικού οξέος/100g νωπού δείγματος

d: Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg/100g νωπού δείγματος

Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέσος όρος (n=3, *n=2)

Στα όσπρια παρατηρήθηκε ότι, ενώ κάποια δείγματα είχαν υψηλά επίπεδα επιμέρους πολυφαινόλων σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα οσπρίων που μελετήθηκαν, εντούτοις δεν παρουσίασαν και την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Τέτοια παραδείγματα είναι τα μικρά φασόλια, τα φασόλια γίγαντες, τα μπαρμπονοφάσολα (DPPH, FRAP), τα μαυρομάτικα φασόλια και οι χονδρές φακές (DPPH). Κάποια όσπρια, τα οποία είχαν μικρότερες συγκεντρώσεις επιμέρους πολυφαινόλων, σε σχέση με τα άλλα δείγματα που μελετήθηκαν, παρουσίασαν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τα δεύτερα. Τέτοια είναι τα μεσαία φασόλια, η κίτρινη φάβα, τα κουκιά (FRAP) και

τα ρεβίθια (DPPH). Αυτό μπορεί ενισχύει την υπόθεση ότι άλλες ενώσεις εκτός των πολυφαινολών, όπως τα HPTA, συμβάλλουν στην αντιοξειδωτική δράση των οσπρίων.

Πίνακας 6.2.21: Συσχετίσεις μεταξύ μεθόδων προσδιορισμού πολυφαινολών και αντιοξειδωτικής δράσης οσπρίων

Μέθοδος	<i>Folin-Ciocalteu</i>	<i>DPPH</i>	<i>FRAP</i>	<i>Επιμέρους πολυφαινόλες</i>	<i>HPTA</i>
Folin-Ciocalteu	1,000				
DPPH	0,676	1,000			
FRAP	0,138	0,095	1,000		
Επιμέρους πολυφαινόλες	0,519	0,232	0,525	1,000	
HPTA	0,129	0,158	-0,265	-0,099	1,000

p=0.05, R>0.553

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 6.2.21, καλύτερη συσχέτιση προκύπτει μεταξύ των ολικών πολυφαινολών προσδιορισμένων με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu και της αντιοξειδωτικής δράσης των οσπρίων, προσδιορισμένης με τη μέθοδο DPPH, δηλαδή της ικανότητας των οσπρίων να δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH[•]. Οι επιμέρους πολυφαινόλες συσχετίζονται οριακά με τις ολικές πολυφαινόλες (R=0.519) και την ικανότητα των πολυφαινολών να ανάγουν τον Fe³⁺ (R=0.525). Το γεγονός ότι τα αποτελέσματα της μεθόδου Folin-Ciocalteu και της GC-MS δε συσχετίζονται απόλυτα, μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι η μέθοδος Folin-Ciocalteu είναι μία γενική μέθοδος, η οποία δεν είναι ειδική για τις φαινολικές ενώσεις, καθώς μπορεί να ανιχνεύσει και μη φαινολικά συστατικά (LC MacDonald, LG Wood, ML Garg, 2006). Επίσης, η μέθοδος αυτή, η οποία ονομάζεται και Folin-Ciocalteu reactive substances, κατ' ακρίβεια μετρά την αναγωγική ικανότητα του δείγματος (LC MacDonald, LG Wood, ML Garg, 2006). Επιπλέον, το γεγονός ότι οι ολικές πολυφαινόλες (Folin-Ciocalteu) συσχετίζονται με την αντιοξειδωτική δράση (DPPH), ενώ οι επιμέρους όχι, μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι κατά τη μέθοδο Folin-Ciocalteu μπορεί να προσδιορίζονται και μη πολυφαινολικά συστατικά, τα οποία παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση.

Οριακά φαίνεται να συσχετίζεται η αναγωγική δύναμη των πολυφαινολών (FRAP) με τις ολικές πολυφαινόλες. Δεν υπάρχει καθόλου καλή συσχέτιση μεταξύ των ολικών πολυφαινολών προσδιορισμένων με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu και της ικανότητας των πολυφαινολών να ανάγουν τον Fe^{3+} . Επίσης, η μέθοδος DPPH δε συσχετίζεται με καμία μέθοδο, εκτός από τη Folin-Ciocalteu στα όσπρια.

Τα υδροξυπεντακυκλοτερπενικά οξέα (HPTA) δε συσχετίζονται ούτε με το πολυφαινολικό περιεχόμενο, αλλά ούτε και με την αντιοξειδωτική δράση του δείγματος των οσπρίων. Πάντως, έχει φανεί ότι τα υδροξυπεντακυκλοτερπενικά οξέα παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση και αναστέλλουν την προκαλούμενη από ιόντα χαλκού οξείδωση της LDL, συμβάλλοντας στη βιολογική δράση των φαινολικών συστατικών (Andrikopoulos et al., 2002). Αναφέρεται ότι η απουσία ορθο-διφαινολικής (κατεχολικής) δομής στα τριτερπένια, η οποία θεωρείται απαραίτητη για την αντιοξειδωτική ικανότητα των πολυφαινολών, δε φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά τη βιολογική δραστηριότητα των τριτερπενοειδών (Andrikopoulos et al., 2002). Τα HPTA από τις συσχετίσεις μπορεί να μη φαίνεται ότι συμβάλλουν σημαντικά στην αντιοξειδωτική δράση των οσπρίων, αλλά μπορεί να παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση σε μικρότερο βαθμό από τα πολυφαινολικά συστατικά των οσπρίων. Εξάλλου, φαίνεται από τη συσχέτιση της μεθόδου Folin-Ciocalteu με τη μέθοδο DPPH ότι κάποια μη πολυφαινολικά συστατικά πιθανώς να συμβάλλουν στην αντιοξειδωτική δράση των οσπρίων.

6.3 Οξείδωση της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας *in vitro*

Η LDL είναι ο κύριος μεταφορέας χοληστερόλης στους ιστούς και εμπλέκεται στην απόθεση χοληστερόλης στο ενδοθήλιο, οδηγώντας στο σχηματισμό αθηρωματικής πλάκας, η οποία μακροχρόνια οδηγεί σε καρδιαγγειακά νοσήματα. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η οξειδωμένη LDL, η οποία πιθανώς προκύπτει από την ανεπαρκή πρόσληψη αντιοξειδωτικών, φαίνεται να ενισχύει τη δημιουργία αφρωδών κυττάρων στην αθηρωματική πλάκα, με αποτέλεσμα να αυξάνεται ο κίνδυνος για καρδιαγγειακά νοσήματα (Andrikopoulos NK et al., 2003).

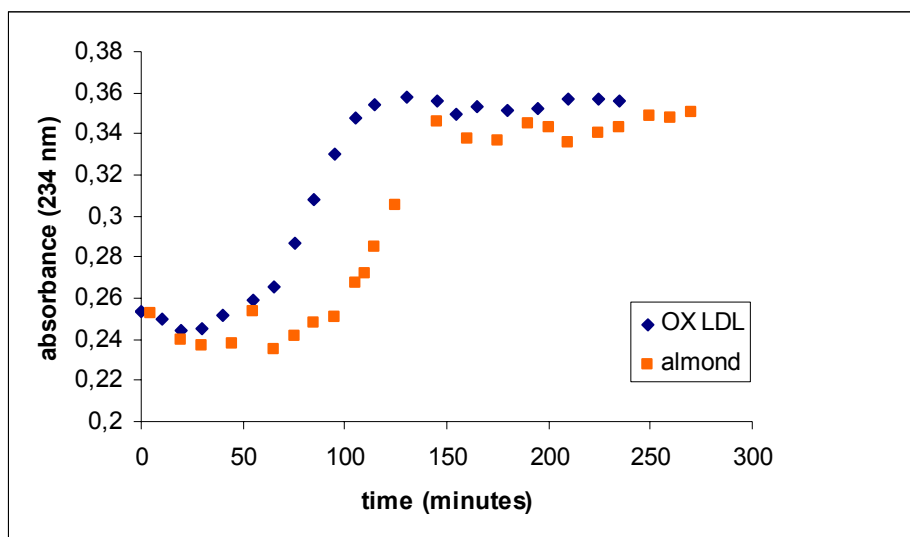
Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η ικανότητα των φαινολικών ενώσεων των ξηρών καρπών να προστατεύουν την LDL από την προκαλούμενη από ιόντα δισθενούς χαλκού οξείδωση. Η ποσότητα του ξηρού καρπού που χρησιμοποιήθηκε για την αναστολή της οξείδωσης της LDL από το ιόντα χαλκού ορίστηκε ως εξής: Η μέση κατανάλωση ξηρών καρπών στον ελληνικό πληθυσμό σύμφωνα με το πρόγραμμα DAFNE (Data Food Networking) είναι 4.7 g/άτομο/ημέρα. Ο όγκος του αίματος στο ανθρώπινο σώμα είναι 4.5 L και τα υψηλότερα φυσιολογικά επίπεδα LDL στο αίμα είναι 150 mg/dL (130-159 mg/dL), τα οποία αντιστοιχούν σε 1.5 mg LDL/mL αίματος (NCEP, JAMA, 2001). Συνεπώς, 6750 mg LDL κυκλοφορούν στο αίμα. Θεωρώντας ότι τα συστατικά των ξηρών καρπών απορροφούνται και καταλήγουν στο αίμα, τότε 4700 mg ξηρού καρπού αντιστοιχούν σε 4.5 L αίματος και κατά συνέπεια σε 6750 mg LDL. Στη μέθοδο χρησιμοποιούνται 100 μg LDL, για τα οποία απαιτούνται 0.07 mg ξηρού καρπού. Το μεθανολικό εκχύλισμα που διαθέτουμε περιέχει 1 g ξηρών καρπών/2 mL. Συνεπώς, τα 0.07 mg ξηρού καρπού περιέχονται σε 0.139 μL μεθανολικού εκχυλίσματος. Τελικά, λαμβάνονται 50 μL από κάθε μίγμα ξηρών καρπών και αραιώνονται σε τελικό όγκο αιθανόλης, όπως φαίνεται στον πίνακα 5.3.6. Κατόπιν, γίνεται ακόμα μία αραιώση 1/5 στα δείγματα του αμυγδάλου και του φουντουκιού, 1/7 στο δείγμα φιστικιού Αιγίνης και 1/14 στο δείγμα του καρυδιού, έτσι ώστε στα 10 μL αιθανολικού εκχυλίσματος που προστίθενται στο διάλυμα εργασίας να περιέχονται 4.7/5, 4.7/7 και 4.7/14 g ξηρού καρπού, αντίστοιχα.

Η οξείδωση της LDL παρακολουθήθηκε με συνεχή μέτρηση των παραγομένων συζυγών διενίων (conjugated diene lipid hydroperoxides, CD) στα 234 nm. Η χρονική

πορεία της οξείδωσης της LDL παρουσίασε μία φάση κατά την οποία δεν επήλθε οξείδωση (lag phase-time, χρονική υστέρηση), ακολουθούμενη από μία αύξηση της απορρόφησης, λόγω του σχηματισμού CD (propagation phase). Η αντίσταση της LDL στην οξείδωση υπολογίστηκε σε αντιστοιχία με το μήκος της lag phase και το ρυθμό παραγωγής CD κατά την propagation phase. Η χρονική υστέρηση καθορίστηκε γραφικά ως το σημείο τομής των εφαπτομένων των τμημάτων της καμπύλης που αντιπροσωπεύουν την lag και την propagation phase (σημείο στο οποίο άρχισε να αυξάνεται η απορρόφηση). Χρησιμοποιήθηκε αυτή η μέθοδος στην παρούσα μελέτη, αφού κλινικές μελέτες αναφέρουν ότι ο χρόνος υστέρησης των CD είναι μέτρο της οξείδωσης της LDL, η οποία σχετίζεται με τη στεφανιαία νόσο (Halevy D et al., 1997). Παρακάτω, παρουσιάζονται διαγραμματικά οι επιδράσεις των εκχυλισμάτων των ξηρών καρπών στο σχηματισμό συζυγών διενίων.

6.3.1 Προστατευτική επίδραση των εκχυλισμάτων των ξηρών καρπών έναντι στην οξείδωση της LDL

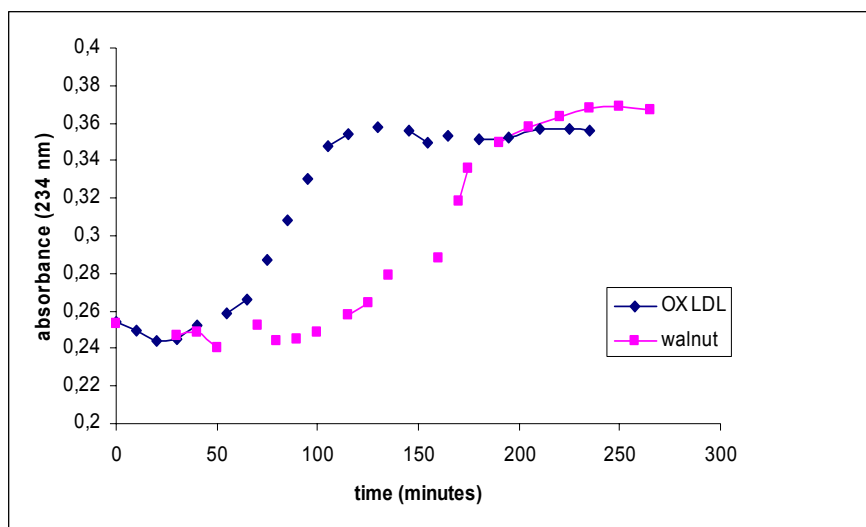
Το αμύγδαλο ήταν ο φτωχότερος ξηρός καρπός σε πολυφαινολικό περιεχόμενο. Η συγκέντρωση των πολυφαινολών ήταν 2.96 ± 0.07 mg/100 g νωπού δείγματος, ενώ τα επίπεδα ολεανολικού οξέος ήταν 1.496 ± 0.1 mg/100 g νωπού δείγματος. Η επιμήκυνση που προκλήθηκε στο χρόνο υστέρησης, δηλαδή στην περίοδο πριν αρχίσει η οξείδωση της LDL, κατά την παρουσία εκχυλίσματος αμυγδάλου είναι 30 λεπτά (lag phase $_{OX\ LDL}$: 63 λεπτά, lag phase $_{almond}$: 93 λεπτά), δηλαδή ο χρόνος υστέρησης της LDL επιμηκύνθηκε κατά 47.6 % στην παρουσία εκχυλίσματος αμυγδάλου (Σχήμα 6.3.1). Το εκχύλισμα αμυγδάλου που χρησιμοποιήθηκε στη μέθοδο αντιστοιχεί στο 1/5 της ημερήσιας κατανάλωσης ξηρών καρπών στην Ελλάδα (περίπου 1 g).



Σχήμα 6.3.1: Διαγραμματική παρουσίαση της παραγωγής συζυγών διενίων κατά τη διάρκεια της οξείδωσης της LDL από Cu^{+2} , κατά την απουσία (OX LDL) και κατά την παρουσία εκχυλίσματος αμυγδάλου (almond).

Το καρύδι είχε υψηλό περιεχόμενο σε πολυφαινόλες και παρουσίασε την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση. Η επιμήκυνση που προκλήθηκε στο χρόνο υστέρησης, δηλαδή στην περίοδο πριν αρχίσει η οξείδωση της LDL, κατά την παρουσία εκχυλίσματος καρυδιού είναι 54 λεπτά (85.7%), (lag phase $_{OX\ LDL}$: 63 λεπτά, lag phase $_{walnut}$: 117 λεπτά), (Σχήμα 6.3.2). Το εκχύλισμα καρυδιού, το οποίο περιέχει κυρίως

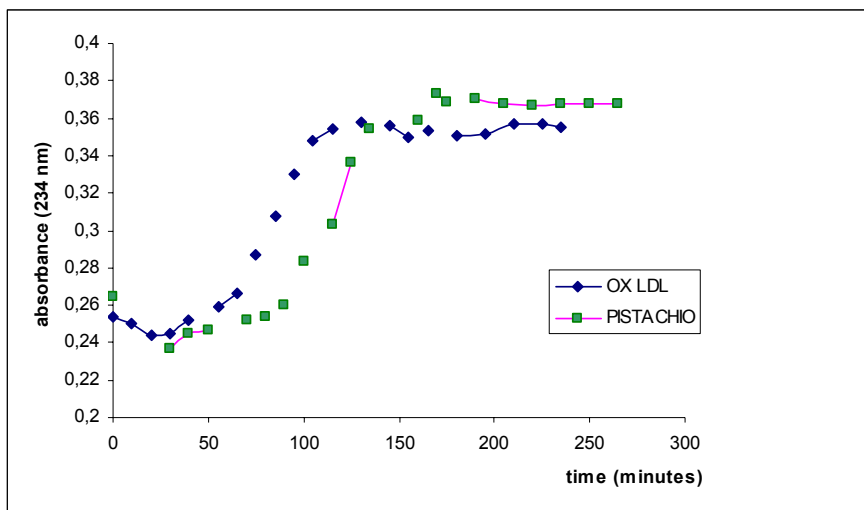
γαλλικό οξύ και κατεχίνη, αλλά και άλλα φαινολικά συστατικά σε συγκέντρωση 43.7 ± 7.8 mg/100 g νωπού δείγματος, καθώς και ολεανολικό οξύ σε συγκέντρωση 4.68 ± 1.2 mg/100 g νωπού δείγματος, ανέστειλε την οξείδωση της LDL *in vitro*, η οποία προκαλείται από τη δημιουργία ελευθέρων ριζών, κατά 87.5 %. Το εκχύλισμα καρυδιού που χρησιμοποιήθηκε στη μέθοδο για να καθυστερήσει την οξείδωση της LDL αντιστοιχεί στο 1/14 της ημερήσιας κατανάλωσης ξηρών καρπών στην Ελλάδα, δηλαδή περίπου στα 0.4 g ξηρού καρπού/ημέρα. Αξίζει να σημειωθεί ότι όταν χρησιμοποιήθηκε εκχύλισμα καρυδιού που αντιστοιχούσε στην ημερήσια πρόσληψη ξηρών καρπών (4.7 g) η οξείδωση της LDL ανεστάλη για περισσότερο από 12 ώρες.



Σχήμα 6.3.2: Διαγραμματική παρουσίαση της παραγωγής συζυγών διενίων κατά τη διάρκεια της οξείδωσης της LDL από Cu^{+2} , κατά την απουσία (OX LDL) και κατά την παρουσία εκχυλίσματος καρυδιού (walnut).

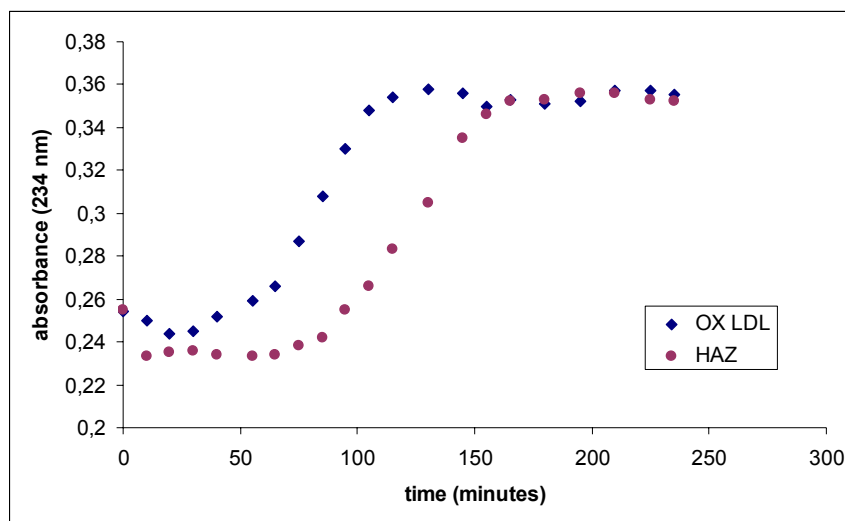
Το φιστίκι Αιγίνης περιέχει 13.9 ± 1.4 mg πολυφαινολών/100 g νωπού δείγματος και είναι ο δεύτερος πλουσιότερος ξηρός καρπός σε πολυφαινολικά συστατικά, μετά το καρύδι. Επίσης, περιέχει τα υψηλότερα επίπεδα ολεανολικού οξέος σε σχέση με τους άλλους ξηρούς καρπούς που μελετήθηκαν (6.13 ± 1.38 mg/100 g νωπού δείγματος). Όπως φαίνεται από το σχήμα 6.3.3, παρουσιάζεται μία επιμήκυνση του χρόνου υστέρησης (lag phase) στην παρουσία εκχυλίσματος φιστικιού Αιγίνης κατά 32 λεπτά (50.8%), (lag phase OX LDL: 63 λεπτά, lag phase PISTACHIO: 95 λεπτά). Το εκχύλισμα

φιστικιού Αιγίνης που χρησιμοποιήθηκε στη μέθοδο για να ελεγχθεί αν θα καθυστερήσει την οξείδωση της LDL αντιστοιχεί στο 1/7 της ημερήσιας κατανάλωσης ξηρών καρπών από τον ελληνικό πληθυσμό, δηλαδή περίπου στα 0.7 g ξηρών καρπών/ημέρα.



Σχήμα 6.3.3: Διαγραμματική παρουσίαση της παραγωγής συζυγών διενίων κατά τη διάρκεια της οξείδωσης της LDL από Cu^{+2} , κατά την απουσία (OX LDL) και κατά την παρουσία εκχυλίσματος φιστικιού Αιγίνης (pistachio).

Όπως φαίνεται από το σχήμα 6.3.4, το εκχύλισμα του φουντουκιού αύξησε την αντίσταση της LDL στην προκαλούμενη από χαλκό οξείδωση. Παρουσιάζεται μία επιμήκυνση του χρόνου υστέρησης (lag phase) στην παρουσία εκχυλίσματος κατά 22 λεπτά (35%), (lag phase OX LDL: 63 λεπτά, lag phase HAZ: 85 λεπτά). Το περιεχόμενο του φουντουκιού σε πολυφαινόλες είναι $3.33 \pm 0.54 \text{ mg/100 g}$ νωπού δείγματος και ήταν ο τρίτος ξηρός καρπός σε συγκέντρωση πολυφαινολών, μετά το καρύδι και το φιστίκι Αιγίνης. Το εκχύλισμα φουντουκιού που χρησιμοποιήθηκε για να καθυστερήσει την οξείδωση της LDL αντιστοιχεί στο 1/5 της ημερήσιας κατανάλωσης ξηρών καρπών στην Ελλάδα. Φαίνεται, ότι ακόμα και μία μικρή ποσότητα φουντουκιού (1 g) μπορεί να παρέχει προστασία έναντι στην οξείδωση της LDL, όταν καταναλώνεται σε καθημερινή βάση, δεδομένου ότι η βιοδιαθεσιμότητα των αντιοξειδωτικών συστατικών των ξηρών καρπών είναι 100%.



Σχήμα 6.3.4: Διαγραμματική παρουσίαση της παραγωγής συζυγών διενίων κατά τη διάρκεια της οξείδωσης της LDL από Cu^{+2} , κατά την απουσία (OX LDL) και κατά την παρουσία εκχυλίσματος φουντουκιού (HAZ).

Φαίνεται ότι όλοι οι ξηροί καρποί που μελετήθηκαν καθυστερούν την παραγωγή των προϊόντων οξείδωσης της LDL. Η σειρά δραστηριότητας τους ως προς την προστασία που παρέχουν έναντι στην οξείδωση της LDL είναι: καρύδι > φιστίκι Αιγίνης > αμύγδαλο > φουντούκι. Το φουντούκι έδειξε χαμηλότερη δραστηριότητα από το αμύγδαλο, παρόλο που το πολυφαινολικό του περιεχόμενο ήταν υψηλότερο. Αυτό μπορεί σημαίνει ότι πιθανώς άλλες ουσίες, εκτός των πολυφαινολών, συμβάλλουν επίσης στην προστατευτική επίδραση έναντι στην οξείδωση της LDL (Andrikopoulos et al., 2003). Επίσης, οι συγκεκριμένες πολυφαινόλες που υπάρχουν στο αμύγδαλο πιθανώς να παρουσιάζουν συνεργιστική δράση, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η δραστηριότητά του.

Υπάρχει πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ της επιμήκυνσης του χρόνου υστέρησης που προκαλούν τα εκχυλίσματα των ξηρών καρπών με τις ολικές και επιμέρους πολυφαινόλες, καθώς και με την ικανότητα των πολυφαινολών να δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα $\text{DPPH}^{\bullet}$ και να ανάγουν τον Fe^{+3} , ($P > 0.950$). Παρόλο που η συμβολή άλλων αντιοξειδωτικών ουσιών που περιέχονται στους ξηρούς καρπούς στην προστασία της LDL από την οξείδωση δε μπορεί να αποκλειστεί, το πολυφαινολικό τους περιεχόμενο αποδεικνύει ότι οι πολυφαινολικές ουσίες, μέσω της ικανότητάς τους να δρουν ως δεσμευτές ελευθέρων ριζών και μεταλλικών ιόντων, μπορούν να

προλαμβάνουν την λιπιδική υπεροξειδωση στο πειραματικό σύστημα (Gentile et al., 2007).

Το ολεανολικό οξύ δε συσχετίστηκε με την επιμήκυνση του χρόνου υστέρησης. Πάντως, έχει φανεί ότι το ολεανολικό οξύ παρουσιάζει αντιοξειδωτική δράση (Andrikopoulos et al., 2002). Μπορεί τα τριτερπενοειδή να χαρακτηρίζονται ως πιθανά μη αναγωγικά ή ότι δε δεσμεύουν το χαλκό, σε αντίθεση με τη ρουτίνη και την κερκετίνη, οι οποίες σχηματίζουν χηλικά σύμπλοκα με το χαλκό, όμως η πιθανότητα ότι η δράση τους οφείλεται σε άλλους μηχανισμούς (πχ. μπλοκάρουν τις δραστικές θέσεις στο μόριο της LDL) δεν πρέπει να αποκλειστεί. Το γεγονός ότι στην παρούσα εργασία δε βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του ολεανολικού οξέος και της καθυστέρησης της οξείδωσης της LDL πιθανώς να οφείλεται στο ότι τα πολυφαινολικά συστατικά των ξηρών καρπών συμβάλλουν σε μεγαλύτερο βαθμό στην αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων. Επιπλέον, σκοπός της παρούσας μελέτης δεν ήταν ο ποσοτικός προσδιορισμός των HPTA και συνεπώς κάποια ποσότητα τους μπορεί να μην παραλήφθηκε με το σύστημα εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκε και άρα να είναι μεγαλύτερη απ' αυτήν που αναφέρεται. Ίσως σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις να παρουσίαζαν σημαντική συσχέτιση με την επιμήκυνση του χρόνου υστέρησης.

Πολυάριθμες *in vitro* μελέτες, χρησιμοποιώντας οξειδωτικές μεθόδους και μετρήσεις, έχουν δείξει ότι οι πολυφαινόλες του κρασιού και του πράσινου τσαγιού μπορούν να αναστείλουν την οξείδωση της LDL. Δεν είναι ξεκάθαρο αν οι διαιτητικές πολυφαινόλες *in vivo* μπορούν να επηρεάσουν την αθηρογένεση, αλλά θεωρείται ότι το αντιοξειδωτικό δυναμικό των φυτικών τροφίμων μπορεί να είναι ένας παράγοντας μείωσης του κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα. Είναι πιθανότερο, ότι οι πολυφαινολικές ενώσεις εντοπίζονται στο πλάσμα και προσδένονται χαλαρά στην επιφάνεια της LDL και όχι στο εσωτερικό λιπιδικό τμήμα της. Έτσι, η μέτρηση της επιδεκτικότητας, τόσο του πλάσματος όσο και της LDL *ex vivo*, στην οξείδωση αντανακλούν καλύτερα τη φυσιολογική δράση των διαιτητικών πολυφαινολών και των μεταβολιτών τους. *In vitro* μελέτες γενικά έχουν δείξει ότι οι πολυφαινολικές ενώσεις παρουσιάζουν προστασία έναντι της οξείδωσης της LDL, αλλά *in vivo* μελέτες παρουσιάζουν διφορούμενα αποτελέσματα, πιθανώς λόγω της διαφορετικής μεθοδολογίας και πολυφαινολικού περιεχομένου κάθε τροφίμου, (Anderson et al., 2001).

Συμπεράσματα:

Με βάση την ανάλυση των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από τον προσδιορισμό των τοκοφερολών και των πολυφαινολών στους ξηρούς καρπούς, στους ελαιούχους σπόρους και στα όσπρια, μπορούν να διαπιστωθούν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

A. Ξηροί καρποί και ελαιούχοι σπόροι

- Η περιεκτικότητα των ξηρών καρπών που μελετήθηκαν σε βιταμίνη E κυμάνθηκε από 10.8 έως 41.5 mg/100 g και ακολούθησε την εξής σειρά: καρύδι (10.8 mg/100 g) < φουντούκι (12.1 mg/100 g) < φιστίκι Αιγίνης (15.6 mg/100 g) < κολοκυθόσπορος (22.9 mg/100 g) < αμύγδαλο (30.8 mg/100 g) < ηλιόσπορος (41.5 mg/100 g).
- Σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία η/οι (β+γ)-τοκοφερόλη/ες ήταν η/οι κύρια/ες τοκοφερόλη/ες στο καρύδι, στο φιστίκι Αιγίνης και στον κολοκυθόσπορο, ενώ η α-τοκοφερόλη ήταν η κύρια τοκοφερόλη στο αμύγδαλο, στο φουντούκι και στον ηλιόσπορο.
- Από τους ξηρούς καρπούς που μελετήθηκαν, το καρύδι διέθετε το υψηλότερο ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο (1216 ± 47 mg CAE/100 g), ακολουθούμενο από τον ηλιόσπορο, το φιστίκι Αιγίνης, το φουντούκι, το αμύγδαλο και τον κολοκυθόσπορο.
- Μεταξύ 28 πολυφαινολών-στόχων 16 ανιχνεύθηκαν στο αμύγδαλο, 18 στο καρύδι, 16 στο φουντούκι και 19 στο φιστίκι Αιγίνης. Οι συγκεντρώσεις των επιμέρους πολυφαινολών στους ξηρούς καρπούς κυμάνθηκαν από 2.96 ± 0.07 mg/100 g στα αμύγδαλα έως 43.7 ± 7.8 mg/100 g στα καρύδια.
- Στους ξηρούς καρπούς ανιχνεύθηκε ολεανολικό οξύ. Τα επίπεδά του κυμάνθηκαν από 1.4 ± 0.1 mg/100 g στο αμύγδαλο έως 6.1 ± 1.4 mg/100 g στο φιστίκι Αιγίνης.
- Στον κολοκυθόσπορο και στον ηλιόσπορο ανιχνεύθηκαν 13 και 17 πολυφαινόλες, αντίστοιχα. Οι συγκεντρώσεις των επιμέρους πολυφαινολών στους σπόρους ήταν 2.5 ± 0.1 mg/100 g στον κολοκυθόσπορο και 3810 ± 486 mg/100 g στον ηλιόσπορο. Ο ηλιόσπορος βρέθηκε πολύ πλούσιος σε

χλωρογενικό οξύ, τα επίπεδα του οποίου φτάνουν περίπου το 97% των ολικών πολυφαινολών και κατά μέσο όρο το 3.7% του βάρους του ηλιόσπορου.

- Τα επίπεδα του ολεανολικού οξέος στους ελαιούχους σπόρους ήταν 8.3 ± 0.2 mg/100 g στον κολοκυθόσπορο και 9.0 ± 1.1 mg/100 g στον ηλιόσπορο.
- Η αντιοξειδωτική ικανότητα των ξηρών καρπών και η σειρά δραστηριότητας των εκχυλισμάτων τους, ως προς την ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH[•] και αναγωγής του Fe⁺³ ήταν η εξής (κατά αύξουσα σειρά): κολοκυθόσπορος < αμύγδαλο < φουντούκι < φιστίκι Αιγίνης < ηλιόσπορος < καρύδι.
- Βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των ολικών πολυφαινολών (Folin-Ciocalteu) και της αντιοξειδωτικής ικανότητας στους ξηρούς καρπούς ($p < 0.05$, $R > 0.811$). Επίσης, μετά από αποκλεισμό του ηλιόσπορου, βρέθηκαν σημαντικές συσχετίσεις και μεταξύ των επιμέρους πολυφαινολών και της αντιοξειδωτικής ικανότητας των ξηρών καρπών ($p < 0.05$, $R > 0.878$).
- Το ολεανολικό οξύ δε φάνηκε να συσχετίζεται σημαντικά ούτε με τις ολικές και επιμέρους πολυφαινόλες, αλλά και ούτε με την αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων.
- Οι υδρολύσεις (όξινη, βασική και ενζυμική) είχαν ως αποτέλεσμα την αύξηση των περισσότερων πολυφαινολικών ενώσεων στα δείγματα ξηρών καρπών, κάτι που σημαίνει ότι υπήρχαν πολυφαινόλες σε γλυκοζυλιωμένη μορφή, αλλά η κατεχίνη και η επικατεχίνη, οι οποίες βρίσκονται σε σημαντικά επίπεδα στους ξηρούς καρπούς, φαίνεται ότι καταστράφηκαν. Συνεπώς δεν κρίθηκε δόκιμο να εξεταστεί η αντιοξειδωτική δράση των υδρολυμένων δειγμάτων.
- Βρέθηκε ότι το φαινολικό κλάσμα των ξηρών καρπών προστατεύει την LDL από οξείδωση *in vitro*. Ποσότητες που αντιστοιχούν στο 7-20% της ημερήσιας πρόσληψης ξηρών καρπών από τον ελληνικό πληθυσμό αποδείχθηκαν ικανές να προκαλέσουν αξιόλογη προστασία της LDL από οξείδωση *in vitro*. Τη μεγαλύτερη προστασία έναντι της οξείδωσης της LDL

παρουσίασε το καρύδι και ακολούθησαν το φιστίκι Αιγίνης, το αμύγδαλο και το φουντούκι.

B. Όσπρια

- Το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο των οσπρίων που μελετήθηκαν κυμάνθηκε από 11.78 mg CAE/100 g στην πράσινη φάβα έως 30.38 mg CAE/100 g στα ρεβίθια. Από τις ποικιλίες φασολιών, το υψηλότερο ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο παρουσίασαν τα μπαρμπουνοφάσολα (18.14 mg CAE/100 g) και το μικρότερο τα μαυρομάτικα φασόλια 11.87 mg CAE/100 g).
- Στα φασόλια ανιχνεύθηκαν από 12 (φασόλια μεσαία & μεγάλα) έως 17 (φασόλια μαυρομάτικα, μπαρμπουνοφάσολα) πολυφαινολικές ενώσεις, σε συγκεντρώσεις που κυμάνθηκαν από 0.39 mg/100 g (φασόλια ελέφαντες) έως 1.02 mg/100 g (μπαρμπουνοφάσολα).
- Σε όλα τα φασόλια ανιχνεύθηκε ολεανολικό οξύ σε συγκεντρώσεις που κυμάνθηκαν από 0.25 mg/100 g (φασόλια μεγάλα) έως 8.28 mg/100 g (φασόλια γίγαντες).
- Στα υπόλοιπα όσπρια (φάβα, ρεβίθια, κουκιά, φακές) ανιχνεύθηκαν από 14 (κίτρινη φάβα, φακές ψιλές) έως 19 (πράσινη φάβα) πολυφαινολικές ενώσεις, σε συγκεντρώσεις που κυμάνθηκαν από 0.28 (πράσινη φάβα) έως 2.12 (χοντρές φακές) mg/100 g.
- Στα όσπρια (φάβα, ρεβίθια, κουκιά, φακές) ανιχνεύθηκε επίσης ολεανολικό οξύ σε συγκεντρώσεις που κυμάνθηκαν από 0.42 mg/100 g (φακές χοντρές) έως 1.44 mg/100 g (ρεβίθια). Στα ρεβίθια, στις χοντρές και στις ψιλές φακές ανιχνεύθηκε και ουρσολικό οξύ, σε συγκεντρώσεις 2.48, 0.45 και 0.37 mg/100 g, αντίστοιχα.
- Η αντιοξειδωτική ικανότητα των οσπρίων και η σειρά δραστηκότητας των εκχυλισμάτων τους, ως προς την ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH[•] ήταν η εξής (κατά αύξουσα σειρά): φασόλια μαυρομάτικα < κουκιά < φάβα πράσινη < φασόλια ελέφαντες < φασόλια μεγάλα < φακές χοντρές <

φασόλια μεσαία < φασόλια μικρά < μπαρμπούνοφάσολα < φασόλια γίγαντες < φάβα κίτρινη < ρεβίθια < φακές ψιλές..

- Η σειρά δραστηριότητας των εκχυλισμάτων των οσπρίων ως προς την ικανότητα αναγωγής του Fe^{+3} ήταν (κατά αύξουσα σειρά): φασόλια ελέφαντες < πράσινη φάβα < μεγάλα φασόλια < φασόλια γίγαντες < ρεβίθια < μπαρμπούνοφάσολα < φασόλια μικρά < φάβα κίτρινη < κουκιά < φακές χοντρές < φασόλια μεσαία < φασόλια μαυρομάτικα < φακές ψιλές.
- Σημαντική συσχέτιση προέκυψε μεταξύ των ολικών πολυφαινόλων προσδιορισμένων με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu και της αντιοξειδωτικής δράσης των οσπρίων, προσδιορισμένης με τη μέθοδο DPPH ($p < 0.05$, $R > 0.553$). Οι επιμέρους πολυφαινόλες συσχετίστηκαν οριακά με τις ολικές πολυφαινόλες ($R = 0.519$) και την ικανότητα των πολυφαινόλων να ανάγουν τον Fe^{3+} ($R = 0.525$). Τα υδροξυπεντακυκλοτερπενικά οξέα (HPTA) δε συσχετίστηκαν ούτε με το πολυφαινολικό περιεχόμενο, αλλά ούτε και με την αντιοξειδωτική δράση του δείγματος των οσπρίων.

Γενικά συμπεράσματα:

- Οι ξηροί καρποί αποτελούν καλές πηγές πολυφαινολικών ενώσεων. Οι τιμές των πολυφαινολών στους ξηρούς καρπούς κυμάνθηκαν περίπου από 3 mg/100 g (στα αμύγδαλα) έως 44 mg/100 g (στα καρύδια). Οι τιμές των πολυφαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο, το οποίο αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της διατροφής των Ελλήνων και πλούσια πηγή αντιοξειδωτικών, κυμαίνονται από 100-800 mg/kg, δηλαδή 10-80 mg/100 g (Boskou, 1996). Έτσι, 100 g ξηροί καρποί περιέχουν συγκρίσιμα επίπεδα πολυφαινολών με 100 g ελαιόλαδο.
- Από τα όσπρια που μελετήθηκαν, οι φακές παρουσίασαν το υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο (1.55 mg/100 g οι ψιλές φακές και 2.12 mg/100 g χοντρές φακές), το οποίο είναι συγκρίσιμο με αυτό των αμυγδάλων.
- Καταναλώνοντας μία μερίδα ξηρών καρπών (≈ 30 g) θα προσληφθούν οι παρακάτω ποσότητες αντιοξειδωτικών:

Ξηροί καρποί	Βιταμίνη Ε		Πολυφαινολικές ενώσεις		Ολικά HPTA ^a
	Ολικές τοκοφερόλες ^a	% RDA ^b	Επιμέρους πολυφαινόλες ^a	% ΕΗΠ ^c	
Αμύγδαλο	9.24	62	0.89	4	0.42
Καρύδι	3.25	22	13.11	52	1.40
Φιστίκι Αιγίνης	4.67	31	4.17	16	1.84
Φουντούκι	3.62	24	1.00	4	0.53
Ηλιόσπορος	12.45	83	1143.12	4526	2.71
Κολοκυθόσπορος	6.86	46	0.76	3	2.49

a: Οι συγκεντρώσεις εκφράστηκαν σε mg/30 g

b: **RDA**: Recommended Dietary Allowance - Συνιστώμενη Διαιτητική Πρόσληψη (RDA βιταμίνης Ε για ενήλικες = 15 mg/ημέρα)

c: **ΕΗΠ**: Εκτιμώμενη Ημερήσια πρόσληψη (ΕΗΠ για πολυφαινόλες = 23-28 mg/ημέρα), (Ross JA, Kasum CM., 2002).

- Μισό φλιτζάνι του τσαγιού, δηλαδή περίπου 100 g, μαγειρεμένα όσπρια περιέχουν τις παρακάτω ποσότητες πολυφαινολικών ουσιών και ΗΡΤΑ.

Όσπρια	Πολυφαινολικές ενώσεις		Ολικά ΗΡΤΑ ^a
	Επιμέρους πολυφαινόλες ^a	% ΕΗΠ ^b	
φασόλια μικρά	0,77	3	2,11
φασόλια μεσαία	0,44	2	0,34
φασόλια μεγάλα	0,42	2	0,29
φασόλια γίγαντες	0,60	2	8,28
φασόλια ελέφαντες	0,39	2	0,40
φασόλια μαυρομάτικα	0,70	3	2,59
μπαρμπούνοφάσολα	1,02	4	2,11
φάβα πράσινη	0,28	1	0,72
φάβα κίτρινη	0,37	1	0,93
κουκιά	0,48	2	1,24
ρεβίθια	0,32	1	3,91
φακές χονδρές	2,12	8	0,87
φακές ψιλές	1,55	6	0,82

a: Οι συγκεντρώσεις εκφράστηκαν σε mg/100 g

b: **ΕΗΠ**: Εκτιμώμενη Ημερήσια Πρόσληψη (ΕΗΠ για πολυφαινόλες = 23-28 mg/ημέρα), (Ross JA, Kasum CM., 2002).

Βιβλιογραφία

Άρθρα

Albert CM, Gaziano JM, Willett WC & Manson JE. Nut consumption and decreased risk of sudden cardiac death in the Physicians' Health Study. *Arch. Intern. Med.* 2002, 162, 1382-1387.

Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N Engl J Med.* 1995, 333:276–82.

Anderson JW, Smith BM, Gustafson NJ. Health benefits and practical aspects of high-fiber diets. *Am J Clin Nutr.* 1994, 59(suppl):1242S–7S.

Anderson, K. J., Teuber, S. S., Gobeille, A., Cremin, P., Waterhouse, A. L., and Steinberg, F. M. Walnut Polyphenolics Inhibit In Vitro Human Plasma and LDL Oxidation. *J. Nutr.* 2001, 131: 2837–2842.

Andreasen M. F., Kroon P. A., Williamson G., Garcia-Conesa M. T. *Free Radic. Biol. Med.* 2001, 31, 304-314.

Andrikopoulos NK, Kalliora AC, Assimopoulou AN, Papageorgiou VP. Biological activity of some naturally occurring resins, gums and pigments against *in vitro* LDL oxidation. *Phototherapy Research* 2003, 17, 501-507.

Andrikopoulos NK, Kalliora AC, Assimopoulou AN, Papageorgiou VP. Inhibitory activity of minor polyphenolics and nonpolyphenolics constituents of olive oil against in vitro low density lipoprotein oxidation. *Journal of medicinal food* 2002, Vol.5, No1.

Anthony MS, Clarkson TB, Weddle DL, Wolfe MS. Effects of soy protein phytoestrogens on cardiovascular risk factors in rhesus monkeys. *J Nutr.* 1995,

125(suppl):803S–4S.

Aparicio-Fernandez X., Yousef GG, Lorca-Pina G., De Mejla E. 7& Ann Lila M. Characterization of Polyphenolics in the Seed Coat of Black Jamapa Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 4615-4622.

Aviram M. Interaction of oxidized low-density lipoprotein with macrophages in atherosclerosis, and the antiatherogenicity of antioxidants. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1996, 34(8): 599-608. Review.

Awad, A. B. and Fink, C. S. Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. *J Nutr.* 2000, 130:2127-2130.

Beninger CW & Hosfield GL. Antioxidant Activity of Extracts, Condensed Tannin Fractions, and Pure Flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. Seed Coat Color Genotypes. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 7879-7883

Boskou D. Olive oil composition. Olive oil. Chemistry and Technology, Boskou D (ed). AOCS Press: Champaign, IL, 52-83.

Bramley, P. M., Elmadfa, I., Kafatos, A., Kelly, F. J., Manios, Y., Roxboroug, H. E., et al. Review. Vitamin E. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2000, 80, 913–938.

Cardador-Martinez A., Albores A., Bah M., Calderon-Salinas V, Castano-Tosdato E, Guevara-Gonzalez R, Shimada-Miyasaka A. & Loarca-Pina G. Relationship Among Antimutagenic, Antioxidant and Enzymatic Activities of Methanolic Extract from Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L). *Plant Foods for Human Nutrition* 2006, 61: 161–168.

Centanni S, Santus P, Di Marco F, Fumagalli F, Zarini S, Sala A. The potential role of

tocopherol in asthma and allergies: modification of the leukotriene pathway.

BioDrugs. 2001, 15(2): 81-6.

Chen CY, Lapsley K, Blumberg J. A nutrition and health perspective on almonds. *J Sci Food Agric*. 2006, 86, 2245-2250.

Connor WE. The beneficial effects of omega-3 fatty acids: cardiovascular disease and neurodevelopment. *Curr Opin Lipidol*. 1997, 8:1-3.

Dangles O, Dufour C, Manach C, Morand C and Remesy C. Binding of flavonoids to plasma proteins. *Methods Enzymol*. 2001, 335:319-33.

de la Puerta R, Ruiz Gutierrez V and Hoult JRS. Inhibition of leukocyte 5-lipoxygenase by phenolics from virgin olive oil. *Biochem Pharmacol*. 1999, 57(4): 445-9.

de Leonardis A, Albanese T, Macciola V. Biodegradation in vivo and in vitro of chlorogenic acid by a sunflower-seedling (*Helianthus annuus*) like-polyphenoloxidase enzyme. *Eur Food Res Technol*. 2006, 223, 295-301.

de Pascual-Teresa S., Santos-Buelga C., Rivas-Gonzalo J. C. Quantitative analysis of flavan-3-ols in Spanish Foodstuffs and Beverages. *J. Agric. Food Chem*. 2000, 48, 5331-5337.

Dedoussis GVZ, Kalliora AC, Psarras S, Chiou A, Mylona A, Papadopoulos NG et al. Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis*. 2004, 174, 293-303.

Delgado-Zamarreno, M. M., Bustamante-Rangel, M., Sanchez-Perez, A., Carabias-Martinez, R. Pressurized liquid extraction prior to liquid chromatography with electrochemical detection for the analysis of vitamin E isomers in seeds and nuts. *J*.

Chromatogr. A 2004, 1056, 249-252.

Díaz-Batalla, L., Widholm, J. K., Fahey, G. C, Castaño-Tostado, E., Paredes-López, O. Chemical Components with Health Implications in Wild and Cultivated Mexican Common Bean Seeds (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 2045-2052.

Duenas M., Sun B., Hernandez T., Estrella I., Spranger MI. Proanthocyanidin composition in the seed coat of lentils (*Lens Culinaris* L.). *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 7999-8004.

Durak I, Köksal I, Kaçmaz M, Büyükköçak S, Cimen BM, Oztürk HS. Hazelnut supplementation enhances plasma antioxidant potential and lowers plasma cholesterol levels. *Clin Chim Acta.* 1999, 284(1), 113-5

Emken EA, Adlof RO, Gulley RM. Dietary linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic and linolenic acids in young adult males. *Biochim Biophys Acta.* 1994, 1213:277–88.

Flaminio Fidanza, II Conferencia SALUD Y FRUTOS SECOS, Barcelona, 2002

Frankel E. N., Meyer A. S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J. Sci. Food Agric.* 2000, 80, 1925-1941.

Fraser, G. E, Sabate, J., Beeson, W. L. Nuts, nuts good for your heart...? *Arch. Intern. Med.* 1992, 152, 2507-8 (letter).

Fukamoto LR, Mazza G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *J Agric Food Chem.* 2000, 48(8): 3597-604.

Gentile, C., Tesoriere, L., Butera, D., Fazzari, M., Monastero, M., Allegra, M., and Livrea, M. A. Antioxidant Activity of Sicilian Pistachio (*Pistacia vera* L. Var.

Bronte) Nut Extract and Its Bioactive Components. *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 643-648.

Halevy D., Thiery J., Nagel D., Arnold S., Erdmann E., Höfling B., Cremer P., Seidel D. Increased Oxidation of LDL in Patients With Coronary Artery Disease Is Independent From Dietary Vitamins E and C. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 1997, 17: 1432-1437.

Hegsted DM, Ausman LM, Johnson JA, Dallal GE. Dietary fat and serum lipids: an evaluation of the experimental data. *Am J Clin Nutr.* 1993, 57:875–83.

Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and cancer risk in the Zutphen Elderly Study. *Lancet.* 1993, 342:1007–11.

Hertog MGL, Kromhout D, Aravanis C, et al. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the Seven Countries Study. *Arch Intern Med.* 1995, 155:381–6.

Hollman PCH, van Trijp J, Buysman M, v.d. Gaag MS, Mengelers M, de Vries J and Katan MB. Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. *FEBS Lett.* 1997, 24;418(1-2):152-6.

Huang D., Ou B., Prior R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 1841-1856.

Jiang, Q., Christen, S., Shigenaga, M. K., Ames, B. N. γ -Tocopherol, the major form of vitamin E in the U.S. diet, deserves more attention. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001, 74, 714-722.

Jones PJ, MacDougall DE, Ntanios F, Vanstone CA. Dietary phytosterols as cholesterol-lowering agents in humans. *Can J Physiol Pharmacol.* 1997, 75:217–27.

Kaijser, A., Dutta, P., & Savage, G. Oxidative stability and lipid composition of macadamia nuts grown in New Zealand. *Food Chemistry* 2000, 71, 67–70.

Kalogeropoulos N, Andrikopoulos NK, Hassapidou M, Karathanos VT, Πρακτικά, 3^{ος} τόμος, 5^ο Διεθνές Συνέδριο Τεχνολογίας Τροφίμων, 2007

Kaminski WE, Jendraschak E, Kiefl R, von Schacky C. Dietary omega-3 fatty acids lower levels of platelet-derived growth factor mRNA in human mononuclear cells. *Blood.* 1993, 81:1871–9.

Key, T. J., Fraser, G. E., Thorogood, M., Appleby, P. N., Beral, V., Reeves, G., Burr, M. L., Chang-Claude, J., Frentzel-Beyme, R., Kuzma, J. W., Mann, J., McPherson, K. Mortality in vegetarians and non-vegetarians: detailed findings from a collaborative analysis of 5 prospective studies. *Am. J. Clin. Nutr.* 1999, 70 (Supl.), 516-524.

Klevay LM. Copper in nuts may lower heart disease risk. *Arch Intern Med.* 1993, 153:401–2.

Kornsteiner, M., Wagner, K., Elmadfa, I. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. *Food Chemistry* 2006, 98: 381–387.

Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, B. S., Hilpert, K. F., Griel, A. E., Etherton, T. D. Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am J Med.* 2002, 113 (9B): 71S-88S.

Kris-Etherton, P. M., Yu-Poth, S., Sabaté, J., Ratcliffe, H. E., Zhao, G., and Etherton, T. D. Nuts and their bioactive constituents: effects on serum lipids and other factors

that affect disease risk. *Am J Clin Nutr* 1999, 70(suppl): 504S–11S.

Kroon PA, Faulds CB, Ryden P, Williamson G. Solubilisation of ferulic acid from plant cell wall materials in a model human gut system. *Biochem Soc Trans*. 1996, 24 (3): 384S.

Kurowski EM, Carroll KK. Hypercholesterolemic responses in rabbits to selected groups of dietary essential amino acids. *J Nutr*. 1994, 124:364–70.

Kushi, L. H., Folsom, A. R., Prineas, R. J., Mink, P. J., Mink, P. J., Wu, Y., Bostick, R. M.. Dietary antioxidant vitamins and death from coronary heart disease in postmenopausal women. *N Engl J Med*. 1996, 334, 1156-62.

Lampe, J. W. Health effects of vegetables and fruits: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *Am. J. Clin. Nutr*. 1999, 70 (Suppl.), 174-490.

Larsson S. C., Giovannucci E., Bergkvist L., Wolk A. Br. J. Cancer 2005, 92, 1803-1807.

Lavedrine F, Ravel A, Poupard A & Alary J. Effect of geographic origin, variety and storage on tocopherol concentrations in walnuts by HPLC. *Food Chem*. 1997, 58, 135-140.

Leissner O, Korp H, Magnusson G, Hermansson G, Hermansson G, Stenmyr C, Carlsson T, Hansson R, Runesson M, Lind M, Svensson M, Hedin PO & Ungerback B (1989): *In Vegetable Oils and Fats*, eds G Magnusson & G Hermansson. Karlshamn: Karlshamn AB.

Levi F., Pasche C., La Vecchia C., Lucchini F., Franceschi S. *Br. J. Cancer* 1999, 79, 1283-1287.

MacDonald-Wicks LK., Wood LG, Garg ML. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity *in vitro*: a review. *Journal of the science of food and agriculture* 2006, 86, 2046-2056.

Maguire L. S., O'Sullivan S. M., Galvin, K., O'Connor T. P., and O'Brien N. M. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 2004, Volume 55, Number: 171-178.

Manach C, Morand C, Texier O, Favier M, Agullo G, Demigné C, Régéat F and Rémésy C. Quercetin Metabolites In Plasma of Rats Fed Diets Containing Rutin or Quercetin. *Journal of Nutrition* 1995, 125 (7), 1911-1922.

Mendes MF, Pessoa FLP & Uller AMC. An economic evaluation based on an experimental study of the vitamin E concentration present in deodorizer distillate of soybean oil using supercritical O₂. *J. Supercrit. Fluids* 2002, 23, 257-265.

Miller, E. R., Pastor-Barriuso, R., Dalal, D., Riemersma, R. A., Appel, L. J., & Guller, E. Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Annals of Internal Medicine* 2005, 142, 37–46.

Murphy, P. A.; Hendrich, S. Phytoestrogens in foods. *Adv. Food Nutr. Res.* 2002, 44, 195-246.

Nakagawa K, Okuda S, Miyazawa T. Dose-dependent incorporation of tea catechins, (-)-epigallocatechin-3-gallate and (-)-epigallocatechin, into human plasma. *Biosci Biotechnol Biochem.* 1997, 61(12): 1981-5.

NCEP, Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. *JAMA* 2001, 285, 2486-2496.

Owen RW, Giagosa A, Haubner R, Wurtele G, Spiegel-Halder B, Bartsch H. Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *Lancet Oncol.* 2000, 1: 107-112.

Owen RW, Mier W, Giacosa A, Hull WE, Spiegelhalder B & Bartsch H. Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secaridoids, lignans and squalene. *Food Chem. Toxicol.* 2000, 38, 649 _/659.

Papadopoulos, G., Boskou, D. Antioxidant effect of natural phenols in olive oil. *J Am Oil Chem Soc.* 1991, 68: 669-671.

Parcerisa, J., Richardson, D. G., Rafecas, M., Codony, R., & Boatella, J. Fatty acid, tocopherol and sterol content of some hazelnut varieties (*Corylus avellana* L.) harvested in Oregon (USA). *Journal of Chromatography A* 1998, 805, 259–268.

Pellegrini N., Sarafini M., Salvatore S., Del Rio D., Bianchi M., Brighenti F. Total antioxidant capacity of spices, pulses, cereals and sweets consumed in Italy assessed by three different *in vitro* assays. *Mol. Nutr. Food Res.* 2006, 50, 1030-1038.

Petroni A, Blasevich M, Papini N, Salami M, Sala A, Galli C. Inhibition of leukocyte leukotriene B4 production by an olive oil-derived phenol identified by mass-spectrometry. *Thromb Res.* 1997, 87(3): 315-22.

Petroni A, Blasevich M, Salami M, Papini N, Montedoro GF and Galli C. Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thromb Res.* 1995, 78(2): 151-60.

Phillippy, B. Q. Inositol phosphates in food. *AdV. Food Nutr.Res.* 2003, 45, 1-60.

Pinelo, M., Rubilar, M., Sineiro, J., & Nunez, M. J. Extraction of antioxidant phenolics

from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). *Food Chemistry* 2004, 85, 267–273.

Plumb GW, Price KR, Williamson G. Antioxidant properties of flavonol glycosides from tea. *Redox Rep.* 1999, 4(1-2):13-6.

Prior RL, Cao G. Antioxidant Capacity and Polyphenolic Components of Teas: Implications for Altering In Vivo Antioxidant status. *Soc Exper Biol Med.* 1999, 220(4):255-261.

Rainey C, Nyquist L. Nuts—nutrition and health benefits of daily use. *Nutr Today* 1997, 32:157–63.

Reiter, R. J., Manchester, L. C., Tan, D. X. Melatonin in walnuts: influence on levels of melatonin and total antioxidant capacity of blood. *Nutrition* 2005, 21, 920-924.

Rimm EB, Stampfer MJ. The role of antioxidants in preventive cardiology. *Curr Opin Cardiol.* 1997, 12:188–94.

Ross JA, Kasum CM. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Ann Rev Nutr* 2002, 22:19–34.

Ryan, E., Galvin, K., O'Connor, T. P, Maguire, A. R. & O'Brien, N. M. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of brazil, pecan, pine, pistachio and cashew nuts. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 2006, 57 (3/4): 219-228.

Sabate J. Nut consumption, vegetarian diets, ischemic heart disease risk, and all-cause mortality: evidence from epidemiological studies. *Am J Clin Nutr.* 1999, 70 (suppl): 50S-3S.

Saldeen T, Li D & Mehta JL. Differential effects of alpha and gamma-tocopherol on low-density lipoprotein oxidation, superoxide activity, platelet aggregation and arterial thrombogenesis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1999, 34, 1208-1215.

Sang, S., Lapsley, K., Jeong, W-S., Lachance, P. A., Ho, C.-T., & Rosen, R. T. Antioxidative phenolic compounds isolated from almond skin (*Prunus amygdalus* Batsch). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2002, 50, 2459–2463.

Sang, S., Lapsley, K., Rosen, R. T., & Ho, C-T. New prenylated benzoic acid and other constituents from almonds hulls (*Prunus amygdalus* Batsch). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2002, 50, 607–609.

Savage GP, Dutta PC & McNeill DL. Fatty acid and tocopherol contents and oxidative stability of walnut oils. *JAOCs* 1999, 76, 1059-1063.

Savage, G. P., McNeil, D. L., & Dutta, P. C. Lipid composition and oxidative stability of oils in hazelnuts (*Corylus avellana* L.) grown in New Zealand. *Journal of the American Oil Chemist's Society* 1997, 74(6), 755–759.

Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, et al. Association between plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid-artery stenosis. *N Engl J Med.* 1995, 332:286–91.

Setchell, K. D.; Brown, N. M.; Lydeking-Olsen, E. The clinical importance of the metabolite equol a clue to the effectiveness of soy isoflavones. *J. Nutr.* 2002, 132, 3577-3584.

Shahar E, Folsom AR, Wu KK, et al. Associations of fish intake and dietary n-3 polyunsaturated fatty acids with a hypocoagulable profile: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Arterioscler Thromb.* 1993, 13:1205–12.

Shahidi F, Alasalvar C, Liyana-Pathirana CM. Antioxidant Phytochemicals in Hazelnut Kernel (*Corylus avellana* L.) and Hazelnut Byproducts. *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 1212-1220.

Simopoulos, A. P. The Mediterranean Diets: What Is So Special about the Diet of Greece? The Scientific Evidence. *The journal of Nutrition* 2001, 131, 3065S-3071S.

Singh N, Singh R, Kaur K, Singh H. Studies of physico-chemical properties and polyphenoloxidase activity in seeds from hybrid sunflower (*Helianthus annuus*) varieties grown in India. *Food Chemistry* 1999, 66, 241-247.

Smith TJ. Squalene: potential chemopreventive agent. *Expert Opin. Investig. Drugs* 2000, 9, 1841-1848.

Stampher MJ, Rimm EB. Epidemiologic evidence for vitamin E in prevention of cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 1995, 62(6 Suppl): 1365S-1369S. Review.

Steinberg D. Clinical trials of antioxidants in atherosclerosis: are we doing the right thing? *Lancet.* 1995, 346(8966): 36-8. Review.

Stone NJ. Fish consumption, fish oil, lipids, and coronary heart disease. *Circulation* 1996, 94:2337-40.

Stratil P., Klejdus B., Kuban V. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables-evaluation of spectrophotometric methods. *J. Agric. Food Chem.* 2006, 53, 5003-5009.

Takahashi R., Ohmori R., Kiyose C., Momiyama Y., Ohsuzu F., Kondo K. Antioxidant activities of black and yellow soybeans against low density lipoprotein oxidation. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 4578-4582.

Takeoka, G. R., & Dao, L. T. Antioxidant constituents of almonds [*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb] hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2003, 51, 496–501.

Takeoka, G., Dao, L., Teranishi, R., Wong, R., Flessa, S., Harden, L., et al. Identification of three triterpenoids in almond hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2000, 48, 3437–3439.

Talcott, S. T., Passeretti, S., Duncan, C. E., & Gorbett, D. W. Polyphenolic content and sensory properties of normal and high oleic acid peanuts. *Food Chemistry* 2005, 90, 379–388.

Tapiero H, Tew KD, Nguyen Ba G, Mathe G. Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? *Biomed Pharmacother* 2002, 56: 200-7.

Tokusoglu O., Kemal-Unal M., Yemis F. Determination of the Phytoalexin Resveratrol (3,5,4'-Trihydroxystilbene) in Peanuts and Pistachios by High-Performance Liquid Chromatographic Diode Array (HPLC-DAD) and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 5003-5009.

Venkatachalam, M. and. Sathe, S. K. Chemical Composition of Selected Edible Nut Seeds. *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 4705-4714.

Vinson J. A., Dabbagh Y. A., Serry M. M., Jang J. Plant flavonoids, especially tea flavonoids, are powerful antioxidants using as in vitro oxidation model for heart disease. *J. Agric. Food Chem.* 1995, 43, 2800-2802.

Visioli F, Belloc S, Galli C. Oleuropein, the bitter principle of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. *Life Science* 1998, Vol. 62, No. 6: 541-546.

Visioli F, Galli C. Olive oil phenols and their potential effects on human health. *J. Agric. Food Chem.* 1998, 46, 4292-4296.

Wagner, K. H., Kamal-Eldin, A., & Elmadfa, I. γ -Tocopherol– an underestimated vitamin? *Annals of Nutrition and Metabolism* 2004, 48(3), 169–188.

Weisburger JH, Rivenson A, Aliaga C, Reinhardt J, Kelloff GJ, Boone CW, Steele VE, Balentine DA, Pittman B, Zang E. Effect of tea extracts, polyphenols, and epigallocatechin gallate on azoxymethane-induced colon cancer. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1998, 217(1): 104-8.

Weisburger JH. Mechanisms of Action of Antioxidants as Exemplified in Vegetables, Tomatoes and Tea. *Food Chem. Tox.* 1999, 37: 943-948.

Wijeratne, S. S. K, Abou-Zaid, M. M., Shahidi, F., Antioxidant polyphenols in almonds and its coproducts. *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 312-318.

Wiseman SA, Mathot JN, de Fouw NJ, Tijburg LB. Dietary non-tocopherol antioxidants present in extra virgin olive oil increase the resistance of low-density lipoproteins to oxidation in rabbits. *Atherosclerosis.* 1996, 120(1-2): 15-23.

Wolf G. Gamma-tocopherol: an efficient protector of lipids against nitric oxide-initiated peroxidative damage. *Nutr. Rev.* 1997, 55, 376-378.

World Health Organization. *Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases*; WHO Technical Report Series 916, WHO: Geneva, Switzerland, 2003.

Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B, Gebhardt, S. E. and Prior, R. L. Lipophilic and Hydrophilic Antioxidant Capacities of Common Foods in the United States. *J. Agric. Food Chem.* 2004, 52, 4026-4037.

Yu, J., Ahmedna, M., & Goktepe, I. Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. *Food Chemistry* 2005, 90, 199–206.

Για τα παρακάτω άρθρα υπάρχει παραπομπή στη Μεταπτυχιακή Διατριβή του Δ. Γρηγοράκη, 2004.

Block et al., 1992

Carmena et al. (1996)

Chang et al., 1998

Choudhury et al. (1995, 1997)

Clifford MN, 1999

Donelli & Robinson, 1995

Fernantez-Moyano A et al, 1997

Frankel et al., 1993

Goldberg, 1995

Herose et al, 1997

Katiyar et al. 1997

Lin et al. 1996

Lu et al.1997

Manna et al., 1996

Mattson FH et al. 1985

Mensink RP et al. 1992

Noguchi N, Niki E, 1999

Renaud and de Lorgeril, 1992

Ruiz- Gutierrez V et al. 1996

Steinmetz and Potter, 1991

Zhao et al.1997

Βιβλία

Mahan KL, Escott-Stump S. Krause's Food, Nutrition, and Diet Therapy. 11th Edition. Saunders. 2000

Ανδρικόπουλος ΝΚ, Οργανική Χημεία & Δομική Βιοχημεία, Εργαστηριακές Ασκήσεις, Τόμος ΙΙ, 1998.

Ανδρικόπουλος ΝΚ. Χημεία και Τεχνολογία Τροφίμων. Τόμος Ι. Κεφάλαια Θεωρίας. Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. Αθήνα 1998

Ανδρικόπουλος ΝΚ. Χημεία και Τεχνολογία Τροφίμων. Τόμος ΙΙ. Εργαστηριακές Ασκήσεις. Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. Αθήνα 1998

Γρηγοράκης Δ. Μικροσυστατικά προσροφημένα σε φυτικά τρόφιμα κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος και διατροφική αξιολόγηση. Μεταπτυχιακή διατριβή. Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. Αθήνα 2004.

Εγκυκλοπαίδεια Ακμή, Εκδόσεις Φάρος, Τόμος 7

Ιάτωρ, Δεκαπενθήμερη Έκδοση για τη Σύγχρονη Ιατρική Εποχή, Σάπικα Ε.

Μπόσκου Δ. Χημεία Τροφίμων. Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη 1997

Παγκόσμια Εγκυκλοπαίδεια 2002, Τόμος 20, Εκδόσεις Humanitus

Παπανικολάου Γ. Σύγχρονη Διατροφή και Διαιτολογία, 1997

Χίου ΑΠ. Σημειώσεις μαθήματος «Καινοτομικά Τρόφιμα», Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών, 2007.

Χίου ΑΠ. Φυσικοχημεία και Βιοχημεία Τροφίμων. Σημειώσεις Φροντιστηρίου.

Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. Αθήνα 2003.

Ηλεκτρονικές πηγές

http://nutrition.med.uoc.gr/GreekTables/pinakes/arxikos_pinakas.htm

<http://el.wikipedia.org>

www.betterhealth.vic.gov.au (Better Health Channel, 2005)

www.acne-resource.org (The Acne Resource Center, 2004)

(www.nutrition.med.uoc.gr/drastiriotites/oil_gr/rolos.htm)

www.nut.uoa.gr/Dafnesoftweb (DafneSoftWeb, 2006)

www.ahahealth.com (American Health Association, 2004)

www.dietary-supplements.info.nih.gov (National Institutes of Health, Office of dietary supplements, 2004)

www.cancer.org (American Cancer Society, 1998)

Βάσεις Δεδομένων

USDA, Food Search for Windows, Version 1, Database version SR19