

**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ
ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΘΟΚΥΑΝΙΝΩΝ ΣΕ ΣΤΑΦΙΔΕΣ»

ΜΠΕΛΕΚΟΣ ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ ΜΙΧΑΗΛ

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΝΤΕΣ ΚΑΘΗΓΗΤΕΣ:
ΑΝΔΡΙΚΟΠΟΥΛΟΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ
ΚΑΡΑΘΑΝΟΣ ΒΑΪΟΣ
ΧΙΟΥ ΑΝΤΩΝΙΑ**

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η σταφίδα αποτελεί το ξηρό προϊόν του καρπού της αμπέλου (*Vitis vinifera*). Οι ποικιλίες της σταφίδας είναι 2: η κορινθιακή σταφίδα και η σουλτανίνα. Η Ελλάδα αποτελεί σχεδόν την αποκλειστική χώρα παραγωγής κορινθιακής σταφίδας (περίπου 80% της παγκόσμιας παραγωγής). Οι υποποικιλίες της κορινθιακής σταφίδας, ανάλογα με την περιοχή προέλευσης είναι τρεις: η Vostizza, η Gulf και η Provincial.

Οι ανθοκυανίνες ανήκουν στα φλαβονοειδή. Είναι δευτερογενείς μεταβολίτες φυτών και υπεύθυνες για το έντονο βαθύ κόκκινο χρώμα πολλών από αυτά. Στην φύση βρίσκονται συνήθως ως γλυκοζίτες. Οι κύριες ανθοκυανιδίνες (αγλυκόνες των ανθοκυανινών) είναι 6: η κυανιδίνη, η μαλβιδίνη, η δελφινιδίνη, η πεονιδίνη, η πετουνιδίνη και η πελαργονιδίνη.

Ενώ το πολυφαινολικό περιεχόμενο του σταφυλιού και του κρασιού είναι ευρέως μελετημένο, κάτι τέτοιο δεν ισχύει για την σταφίδα. Οι μέχρι τώρα μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί μόνο στην σουλτανίνα. Από αυτές φαίνεται ότι στην σουλτανίνα περιέχονται μικρές ποσότητες κυανιδίνης, δελφινιδίνης και πελαγονιδίνης.

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει την αντίστροφη σχέση μεταξύ της πρόσληψης φλαβονοειδών (και ανθοκυανινών συγκεκριμένα) και της εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων και διαφόρων μορφών καρκίνου. Οι μηχανισμοί, μέσω των οποίων οι ανθοκυανίνες επιτυγχάνουν αυτή την προστατευτική δράση, ποικίλουν. Όπως έχουν δείξει κυρίως μελέτες *in vitro* και σε πειραματόζωα, η σημαντικότερη δράση των ανθοκυανινών είναι η αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Επίσης φαίνεται πως έχουν αντιφλεγμονώδη δράση, αγγειοπροστατευτική δράση, υπογλυκαιμική δράση καθώς και αντικαρκινική δράση.

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής ήταν η ανίχνευση ανθοκυανινών σε σταφίδα. Ως δείγμα χρησιμοποιήθηκε βιολογική κορινθιακή σταφίδα, τόσο επεξεργασμένη (εμπορικό προϊόν) όσο και ακατέργαστη. Τα δείγματα θερμάνθηκαν στους 100 °C: 0, 10, 15, 20, 30, 40 και 50 min. Ακολούθησε εκχύλιση με διάλυμα μεθανόλης/υδροχλωρικού οξέος 0,1%. Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε και σε δείγματα τα οποία, αφού θερμάνθηκαν, πολτοποιήθηκαν. Τα εκχυλίσματα, εν συνεχεία, αναλύθηκαν με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης για να ανιχνευθούν οι ανθοκυανίνες, που πιθανόν περιέχονται, ξεχωριστά. Ο προσδιορισμός της συνολικής περιεκτικότητας σε ανθοκυανίνες έγινε με φωτομετρικό προσδιορισμό στα 520 nm και στα 700 nm.

Τελικά η υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης έδειξε ότι σε όλα τα μελετούμενα δείγματα υπάρχουν ανθοκυανίνες. Συγκεκριμένα ανιχνεύθηκαν πεονιδίνη, μαλβιδίνη και κυανιδίνη. Η πεονιδίνη κυριαρχεί μεταξύ των ανθοκυανινών. Η συνολική περιεκτικότητα ανθοκυανινών μεταξύ των δειγμάτων ποικίλλει από 0,297 mg/100 g για την ακατέργαστη σταφίδα και 0,274 mg/100 g για την επεξεργασμένη σταφίδα, με βάση τον φωτομετρικό προσδιορισμό.

Με την παρούσα εργασία αποδεικνύεται για πρώτη φορά ότι στην κορινθιακή σταφίδα υπάρχουν ανθοκυανίνες. Αν συνυπολογιστεί το γεγονός ότι έχει πλούσιο πολυφαινόλικό περιεχόμενο, όπως έχουν δείξει άλλες μελέτες, τότε συμπεραίνεται ότι αυτό το παραδοσιακό ελληνικό τρόφιμο μπορεί να συνεισφέρει στην πρόσληψη φυτοχημικών, αντιοξειδωτικών ουσιών με προστατευτική δράση έναντι των καρδιαγγειακών νοσημάτων και διαφόρων μορφών καρκίνου.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Ανθοκυανίνες, Ανθοκυανιδίνες, Κορινθιακή σταφίδα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΑΓΓΛΙΚΑ (ENG)

Currant (*Vitis vinifera* L.) is a dried vine product that has been cultivated for hundreds of years. There are two more dried vine products: the raisins and the Sultanas. Currants are classified in 2 main categories. The highest quality category comprises 2 subcategories: Vostizza and Gulf currant. The second category is the Provincial currant.

Anthocyanins belong to the big family of flavonoids. They are secondary metabolites in plants. They are, also, responsible for the deep red colour of the plants in which they occur. In nature they occur, mainly, as glycosides. The predominant anthocyanidins (aglycones of anthocyanins) are 6: cyaniding, malvidin, delphinidin, peonidin, pelargonidin and petounidin.

Although grapes and wine have been widely studied, little research has been conducted for currants with respect to their anthocyanin content. Only Sultanas have been examined with respect to their anthocyanin content. It seems that Sultanas contain delphinidin, cyaniding and pelargonidin.

Many epidemiological studies demonstrate an inverse correlation between high flavonoid intake (and anthocyanins, in particular) and the risk of development of heart disease and various types of cancer. Anthocyanins demonstrate their protective effect due to many mechanisms of action: antioxidant activity, anti-inflammatory

activity, anti-hyperglycemic activity, vasoprotective activity and anticarcinogenic activity.

The aim of the present study was the determination of anthocyanins present in “Vostizza” currants. As sample “Vostizza” currants of biological cultivation were used. Two kinds of currants were used: unprocessed (unwashed) and processed (commercial product. The samples heated at 100 °C for 0, 10, 15, 20, 30, 40, 50 min. A solution of methanol/hydrochloric acid 0,1% was used for the extraction of anthocyanins.

Total anthocyanin content was estimated with spectrophotometry assay at 520 nm and 700 nm. Identification of individual anthocyanidins was performed by High Performance Liquid Chromatography analysis.

HPLC analysis demonstrated that currants contain malvidin, peonidin and cyaniding. The predominant anthocyanidin was peonidin. Total anthocyanin content was 0,297 mg/100 g of unprocessed currants and 0,274 mg/100 g of processed currants.

By the present work, the consumption of currants is considered to contribute to the intake of antioxidants such anthocyanins.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ (ENG): Anthocyanins, Anthocyanidins, currant, HPLC

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Η ΣΤΑΦΙΔΑ

1.1 Γενικά	σελ. 5
1.2 Κορινθιακή σταφιδάμπελος	σελ. 5
1.3 Σουλτανίνα	σελ. 8
1.4 Επεξεργασία σταφίδας	σελ. 10
1.5 Αποθήκευση σταφίδας	σελ. 12
1.6 Συστατικά της σταφίδας	σελ. 12
1.7 Η θέση της σταφίδας στην Μεσογειακή Διατροφή	σελ. 14

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΘΟΚΥΑΝΙΝΕΣ

2.1 Εισαγωγή	σελ. 15
2.2 Πηγές ανθοκυανινών	σελ. 17
2.3 Πρόσληψη ανθοκυανινών	σελ. 20
2.4 Οι ανθοκυανίνες στην σταφίδα	σελ. 24
2.5 Δράσεις ανθοκυανινών	σελ. 26
2.5.1 Αντιοξειδωτική δράση	σελ. 27
2.5.2 Αντιφλεγμονώδης δράση	σελ. 29
2.5.3 Αγγειοπροστατευτική δράση	σελ. 29
2.5.4 Υπογλυκαιμική δράση	σελ. 30
2.5.5 Ανθοκυανίνες κατά του καρκίνου	σελ. 31
2.5.6 Άλλες δράσεις ανθοκυανινών	σελ. 33

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 Υλικά και όργανα	σελ. 34
3.1.1 Όργανα	σελ. 34
3.1.2 Υλικά	σελ. 34
3.2 Δείγματα σταφίδας	σελ. 35
3.3 Θερμική επεξεργασία σταφίδας	σελ. 35
3.4 Εκχύλιση ανθοκυανινών από τα δείγματα σταφίδας	σελ. 36
3.5 Προετοιμασία δειγμάτων για την φωτομέτρηση	σελ. 36
3.6 Ανάλυση εκχυλισμάτων σταφίδας με HPLC χρωματογραφία	σελ. 37

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Φωτομετρική μέθοδος	σελ. 38
4.2 Μέθοδος υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC)	σελ. 41

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΖΗΤΗΣΗ

σελ. 45

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

σελ. 49

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

Η ΣΤΑΦΙΔΑ

1.1 Γενικά

Το γνωστό αμπέλι είναι ένα πανάρχαιο θαμνώδες φυτό που ανήκει στο γένος *Vitis* της οικογένειας των αμπελίδων (*Ampelidae*, *Vitaceae*). Το γένος περιλαμβάνει πολλά είδη με σημαντικότερο αυτών την άμπελο την οиноφόρο ή *Vitis Vinifera*, η οποία καλλιεργείται σε πολλές περιοχές του πλανήτη (55).

Η Ελλάδα καταλαμβάνει την πρώτη θέση στη παραγωγή μαύρης σταφίδας και τη τρίτη μετά τις Η.Π.Α και την Τουρκία στη παραγωγή σταφίδων γενικά. Για την παραγωγή σταφίδας οι καλλιεργούμενες ποικιλίες είναι η κορινθιακή σταφιδάμπελος και η σουλτανίνα.

Με τη λέξη σταφίδα οι αρχαίοι Έλληνες εννοούσαν γενικώς τα αποξηραμένα σταφύλια της αμπέλου. Σήμερα η λέξη σταφίδα περιλαμβάνει τους αποξηραμένους καρπούς σταφυλιών κάθε ποικιλίας. Σύμφωνα με τον Στραυρακάκη (1986), σταφίδα, υπό την ευρεία έννοια, ονομάζεται το αποξηραμένο με κάθε τρόπο, προϊόν της αμπέλου. Έχει επικρατήσει όμως διεθνώς ο ορισμός αυτός να αποδίδεται στα αποξηραμένα σταφύλια ορισμένων μόνο ποικιλιών της αμπέλου και συγκεκριμένα της σουλτανίνας, της κορινθιακής σταφίδας και του Μοσχάτου Αλεξανδρείας, που συνιστούν την ομάδα ποικιλιών της εμπορικής σταφίδας. Στη χώρα μας σταφιδοποιούνται σταφύλια των δύο πρώτων ποικιλιών

Η λέξη σταφίς ή ασταφίς έφτασε μέχρι την εποχή μας από την αρχαιότητα. Παλαιότερα ονομαζόταν οσταφίς. Η ονομασία αυτή προήλθε από το γεγονός ότι η ρίζα της αμπέλου είναι οστεώδης, με την έννοια του ξηρού και του σκληρού. Σκληρά αντικείμενα θεωρούνταν το οστό, ο αστακός και το όστρακο. Έτσι η πιθανότερη εκδοχή είναι πως με αυτό τον τρόπο πήρε την ονομασία της η σταφίδα, λόγω της ιδιότητάς της να είναι ξηρή.

1.2 Κορινθιακή σταφιδάμπελος

Τα σταφύλια τα οποία προορίζονται για σταφιδοποίηση αποκαλούνται: Κορινθιακή σταφίδα, Raisin de Corinthe (γαλλ.), Currant (αγγλ.), Passolina,

Passerina (ιταλ.). Λόγω ομοιότητας του συγκεκριμένου φρούτου με τους καρπούς ορισμένων θαμνοειδών φυτών (του γένους *Ribes*, οικογένειας *Grossulariaceae*), δόθηκε σε αυτά η αγγλική ονομασία του φυτού “currant”.

Η Κορινθιακή σταφιδάμπελος αποτελεί το πρώτο από άποψη αρχαιότητας εθνικό προϊόν. Δεν είναι γνωστό πότε ακριβώς εμφανίστηκε, ωστόσο σταφίδες, ασταφίδες και οσταφίδες αναφέρονται από αρχαιοτάτων χρόνων. Ο Ιπποκράτης αναφέρει τη σταφίδα και ασταφίδα της οποίας διακρίνει δύο είδη, τη λευκή και τη μαύρη στα β' και γ' «περί νουσών» βιβλία του και στο «περί γυναικείας φύσεως».

Η ανάπτυξη, της κορινθιακής σταφίδας χρονολογείται τον 14^ο αιώνα (1340 μ.Χ) όπου αναφέρονται ως εξαγωγικοί λιμένες της κορινθιακής σταφίδας το Κατάκωλο και η Κόρινθος. Το εμπόριο φαίνεται να ακμάζει τον 14^ο και 15^ο αιώνα οπότε και η σταφίδα είναι πλέον αναγνωρισμένο είδος εμπορίας στην Ευρώπη.

Η σταφιδάμπελος, είναι σαφές ότι προϋπήρχε στην Πελοπόννησο. Πρώτη σχετική μαρτυρία συναντάμε στα «Προβλήματα» του Αριστοτέλη, ο οποίος αναφέρει ότι πρόκειται για ατελή σταφύλια με μικρές ράγες, τα οποία στερούνται πυρήνα ή διαθέτουν πολύ μικρό σε μέγεθος πυρήνα (54).

Η Κορινθιακή σταφίδα αποτελεί ένα από τα βασικότερα αγροτικά εξαγωγικά προϊόντα της Ελλάδας. Σήμερα οι εξαγωγές σταφίδας αποτελούν το 2%-3% της αξίας των συνολικών εξαγωγών με σταθερή ή και ανερχόμενη τάση λόγω μείωσης του όγκου των συνολικών ελληνικών εξαγωγών. Κατά το τελευταίο τέταρτο του 19^{ου} αιώνα αποτέλεσε το βασικό μοχλό εκσυγχρονισμού της οικονομίας και των μεγάλων έργων (διώρυγα Κορίνθου, σιδηροδρομικό δίκτυο) επειδή αποτελούσε το 70% των ελληνικών εξαγωγών.

Η Κορινθιακή σταφίδα απολαμβάνει διεθνώς πολύ καλύτερων τιμών πώλησης από ομοειδή προϊόντα όπως η Σουλτανίνα που σήμερα καλλιεργείται πλέον στην Μικρά Ασία και το Ιράν. Η κορινθιακή σταφίδα καλλιεργείται μόνο στην Ελλάδα από την αρχαία εποχή (ακόμη και σήμερα σε ποσοστό πάνω από 80% της παγκόσμιας παραγωγής). Δυστυχώς, το προϊόν αυτό δεν έτυχε του ενδιαφέροντος πολλών επιστημόνων λόγω του περιορισμένου γεωγραφικού ενδιαφέροντός του.

Η ανάλυση των μικροσυστατικών της σταφίδας, των θετικών επιδράσεων στην υγεία των καταναλωτών αλλά και της επίδρασης της επεξεργασίας στην διατήρηση των αντιοξειδωτικών και της εν γένει θρεπτικής αξίας της σταφίδας αποτελεί βασικό εργαλείο για τη διατήρηση των ελληνικών εξαγωγών, ενώ μπορεί

να στρέψει το ερευνητικό ενδιαφέρον προς ένα αποκλειστικής ελληνικής προελεύσεως προϊόν.

Σήμερα, υπό τις συνθήκες που επικρατούν στην Ελλάδα η κορινθιακή σταφίδα καλλιεργείται στους νομούς Κορινθίας, Αχαΐας, Ηλείας, Μεσσηνίας, Ζακύνθου και Κεφαλληνίας σε έκταση 400.000 στρεμμάτων περίπου και καταλαμβάνει την πρώτη θέση μεταξύ των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπελιού στην Ελλάδα. Καλλιεργείται επίσης σε μικρή κλίμακα στην Αυστραλία και στη Ν. Αφρική. Κατά Αμερικανούς αμπελογράφους, ο πιο αντιπροσωπευτικός τύπος κορινθιακής σταφίδας απαντάται στην περιφέρεια του χωριού Παναρίτη, στη περιοχή της Αιγιαλείας (17).

Υπάρχουν τρεις υποποικιλίες κορινθιακής σταφίδας: η μαύρη, η λευκή και η κόκκινη. Σε μεγαλύτερη έκταση καλλιεργείται η μαύρη ποικιλία, η οποία είναι η πιο παραγωγική. Η λευκή απαντάται διεσπαρμένα κατά κύριο λόγο στους αμπελώνες της Ζακύνθου. Η κόκκινη που είναι μικρότερης παραγωγικότητας, σπανίζει αλλά απαντάται στη Κεφαλονιά (54).

Η κορινθιακή σταφιδάμπελος είναι ζωηρότατη και παραγωγική ποικιλία και καρποφορεί ακόμα και σε ξερό ξύλο. Η σταφυλή είναι μετρίου μεγέθους, κυλινδρική έως κυλινδροκωνική, πυκνόραγη και συνήθως διπλή. Ο ποδίσκος είναι μετρίου μεγέθους και πάχους και εύκολα αποκοπτόμενος. Το μέσο βάρος είναι περίπου 200 g και οι μικρές σφαιρικές ράγες αποτελούν το 98% του ολικού βάρους του σταφυλιού. Ο φλοιός της ράγας είναι λεπτός, χρώματος κυανόμαυρου και η σάρκα λευκή και μαλακή. Η ωρίμανση για σταφιδοποίηση γίνεται από τις αρχές Αυγούστου στα πεδινά μέχρι τέλη Σεπτεμβρίου στα ορεινά και η συγκομιδή της γίνεται με τη μορφή του σταδιακού τρυγητού (55).

Η μέση ετήσια παραγωγή μαύρης σταφίδας φτάνει τα τελευταία χρόνια τους 45000 τόνους από τους οποίους οι 55.000 εξάγονται στην Αγγλία. Επίσης ένα μέρος διατίθεται στη βιομηχανία για τη παρασκευή οينوπνεύματος. Η ποιότητα του παραγόμενου σταφιδόκαρπου διαφέρει από περιοχή σε περιοχή και χαρακτηρίζεται από την περιοχή προέλευσης: VOSTIZZA (Αιγίου) , GULF (περιοχή κορινθίας-Νεμέας-Κιάτου, ZANTE (Ζακύνθου) κ.α.

Η καλλιέργεια της κορινθιακής σταφίδας σε άλλες χώρες, δεν ευνοήθηκε. Μόνο στον ελλαδικό χώρο, όπου και διαμορφώθηκε η ποικιλία αυτή, παράγονται οι πιο εύμορφες από πλευράς χρώματος και ανάπτυξης καθώς και οι πιο εύγευστες σταφίδες.

Διαδικασία ξήρανσης της Κορινθιακής σταφίδας (55): Η ξήρανση γίνεται στον ήλιο με διάφορες μεθόδους ή στη σκιά.

Η ξήρανση στον ήλιο είναι η πιο διαδεδομένη. Γίνεται σε ακάλυπτα χωμάτινα ξηραντήρια (αλώνια) επάνω σε σταφιδόχαρτο, σε ξηραντήρια από σκυρόδεμα και σε τζιβιέρες (σιδερένια ή ξύλινα πλαίσια με συρμάτινη επιφάνεια). Επίσης μπορεί να γίνει σε χαμωτά ξηραντήρια με κάλυψη. Η διάρκεια της ξήρανσης στα ακάλυπτα ξηραντήρια κυμαίνεται από 10-12 ημέρες.

Η ξήρανση στη σκιά δίνει σταφίδα ανώτερης ποιότητας και συνίσταται συνήθως στην ανάρτηση των σταφυλιών σε σύρματα, σε μόνιμο ξηραντήριο-στέγαστρο. Παραλλαγή της είναι η ξήρανση που γίνεται υπό τη σκιά του φυλλώματος του πρεμνού. Η ξήρανση στη σκιά διαρκεί περίπου 20 ημέρες και ολοκληρώνεται με μετέπειτα έκθεση στον ήλιο για 2 ημέρες.

Μετά τη ξήρανση γίνεται το «τρίψιμο» (55), η απομάκρυνση δηλαδή των βοστρύχων και στη συνέχεια ακολουθεί το «λίχνισμα» και το κοσκίνισμα με ρίψη της σταφίδας από ορισμένο ύψος και απαλλαγή της, λόγω ρεύματος αέρος, από ξερούς μίσχους, σκόνη και ξένες ύλες, ενώ πραγματοποιείται και διαλογή του τελικού προϊόντος. Ακολουθεί ενσάκωση των σταφίδων σε σάκους από λινάτσα χωρητικότητας περίπου 80 Kg. Σήμερα η σταφίδα μεταφέρεται σε μεγάλα πλαστικά κιβώτια.

1.3 Σουλτανίνα

Η καλλιεργούμενη Σουλτανίνα καθώς και οι παραλλαγές της κατάγονται από το γεωφυτικό κέντρο της Εγγύς Ανατολής (Μικρά Ασία, Περσία). Η πρώτη αναφορά στη σουλτανίνα εντοπίζεται το 12^ο αιώνα. Η σουλτανίνα ή σουλτάνα φαίνεται να πήρα το όνομα της από την ομώνυμη επαρχία της Περσίας Σουλτανιέ από την οποία και μεταφέρθηκε στις ακτές της Ιωνίας την εποχή των Σελτζούκων Τούρκων. Αρχικά καλλιεργήθηκε στη περιοχή της Μαγνησίας της Μ. Ασίας και στη συνέχεια διαδόθηκε γρήγορα στη Σμύρνη και όλες τις παράκτιες περιοχές (54). Η παραγωγή και το εμπόριο της σουλτανίνας ήταν σχεδόν αποκλειστικά στα χέρια των Ελλήνων της Μ. Ασίας.

Η πρώτη γνωστή εισαγωγή Σουλτανίνας ανάγεται στο 1838 σε κτήματα του Ναυπλίου. Στη συνέχεια εντοπίζεται στην Ανατολική Κρήτη (1900 Πισκοκέφαλο Σητείας). Στην Ελλάδα η καλλιέργεια της επεκτείνεται μετά την εγκατάσταση των

Ελλήνων της Μ. Ασίας. Σήμερα καλλιεργείται κυρίως στο νομό Ηρακλείου Κρήτης αλλά και στους νομούς Κορινθίας, Λασιθίου, Ρεθύμνης, Χανίων, Ηλείας και Δωδεκανήσου σε έκταση 340.000 στρεμμάτων περίπου. Επίσης εκτός της Ελλάδας καλλιεργείται στην Καλιφόρνια, την Τουρκία, την Αυστραλία, το Ιράν, το Αφγανιστάν, τη Ν. Αφρική, την Κύπρο και αλλού.

Η σουλτανίνα είναι μία ποικιλία ζωνρή και παραγωγική και ευδοκίμει σε μαργώδη εδάφη καλά αποστραγγιζόμενα. Στα πλούσια εδάφη παρέχει τις καλύτερες αποδόσεις. Αβαθή και στεγνά εδάφη είναι ακατάλληλα. Χαρακτηριστικά της σταφυλής είναι το μεγάλο μέγεθος (μέσο βάρος 500 g), το κυλινδροκωνικό σχήμα και το ότι είναι μετρίως πυκνόραγη. Ο ποδίσκος της κατά την ωρίμανση ξυλοποιείται. Η ράγα είναι ελλειψοειδής, μετρίου ή μεγάλου μεγέθους. Ο φλοιός είναι μετρίου πάχους, χρώματος κίτρινου χρυσίζοντος κατά τη πλήρη ωρίμανση και η επιδερμίδα λεπτή καλυμμένη από λεπτό στρώμα άχνης. Η σάρκα είναι μετρίως ανθεκτική και χυμώδης. Πλήρης ωριμότητα για σταφιδοποίηση αποκτάται περί τα μέσα Αυγούστου **(55)**.

Τύποι σταφίδων Σουλτανίνας: Ανάλογα με τη μέθοδο ξήρανσης διακρίνονται οι παρακάτω τύποι σταφυλιών:

1. Thomson Seedless: Σταφίδες που παράγονται από σταφύλια Σουλτανίνας και ξηραίνονται με φυσικές συνθήκες χωρίς προηγούμενη εμβάπτιση σε αλκαλικά διαλύματα. Με τη μέθοδο αυτή παράγεται το 90% των σταφίδων της Καλιφόρνιας που είναι γνωστές με την ονομασία natural ή και απλά seedless.
2. Sultana: Πριν τη ξήρανση οι σταφίδες εμβαπτίζονται σε διάλυμα ανθρακικού καλίου στο οποίο προστίθεται ποσότητα ελαίου. Σε πολλές χώρες η απόκτηση του επιθυμητού χρώματος επιτυγχάνεται με τη διαδικασία της θείωσης.
3. Golden- bleached: Παράγονται με τη μέθοδο Golden- bleached.
4. Sulfur- bleached: Παράγονται με τη προηγούμενη μέθοδο με τη διαφορά ότι ξηραίνονται με απ' ευθείας έκθεση στον ήλιο και όχι σε θερμό ρεύμα αέρα.
5. Soda- oil- dipped: Τα σταφύλια πριν την ξήρανση εμβαπτίζονται σε καυστικό διάλυμα που περιέχει μικρή ποσότητα ελαιολάδου.
6. Soda- dipped: Κατά τη μέθοδο αυτή τα σταφύλια εμβαπτίζονται σε διάλυμα σόδας, σε θερμοκρασία περίπου 100 °C και ξηραίνονται στον ήλιο.

Διαδικασία ξήρανσης της Σουλτανίνας: Η ξήρανση των σταφυλιών της Σουλτανίνας στη χώρα μας γίνεται με την απ'ευθείας έκθεση τους στον ήλιο, σε ξηραντήρια διαφόρων μορφών και τύπων. Πολύ μικρές ποσότητες παράγονται με ξήρανση των σταφυλιών στη σκιά (Κορινθία).

Οι κύριοι τύποι των ξηραντηρίων που χρησιμοποιούνται για τη ξήρανση της Σουλτανίνας στη χώρα μας είναι: Τα *χαμωτά* και τα *κρεμαστά* ξηραντήρια. Τα κρεμαστά ξηραντήρια επικρατούν των χαμωτών στη εξοικονόμηση χώρου, ενώ μειονεκτούν λόγω του υψηλού κόστους κατασκευής.

Για την επιτάχυνση της διαδικασίας της ξήρανσης έχει επικρατήσει στη χώρα μας η εμβάπτιση των σταφυλιών της Σουλτανίνας σε αλκαλικά διαλύματα πριν τη ξήρανσή τους. Τα χρησιμοποιούμενα διαλύματα ονομάζονται «ψυχρά» επειδή έχουν τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Με την εμβάπτιση των σταφυλιών στα ψυχρά αλκαλικά διαλύματα ο χρόνος αποξήρανσης μειώνεται κατά 2-4 φορές σε σχέση με τα μη εμβαπτισμένα σταφύλια. Σήμερα για τη παρασκευή αλκαλικών διαλυμάτων χρησιμοποιείται κατά κανόνα το ένυδρο ανθρακικό κάλιο που κυκλοφορεί στο εμπόριο με τη μορφή κρυσταλλικής σκόνης αδιάλυτης στο νερό. Με τη χρήση αλκαλικών διαλυμάτων ο χρόνος ξήρανσης κυμαίνεται από 7 έως 10 ημέρες.

1.4 Επεξεργασία της σταφίδας

Η επεξεργασία της σταφίδας γίνεται σε ειδικούς χώρους, τα σταφιδεργοστάσια.

Πρόπλυση –Στράγγισμα:

Αποσκοπεί στην απαλλαγή της σταφίδας από ξένες ύλες, την απομάκρυνση κούφιων ραγών, τη διάσπαση των σβόλων σταφίδας και το καθαρισμό της επιφάνειας από τα σάκχαρα, που προέρχονται από τους τραυματισμούς των ραγών (55). Η Κορινθιακή σταφίδα πλένεται περίπου για ένα λεπτό ώστε να μην απορροφηθεί νερό. Απεναντίας, η ύγρανση της Σουλτανίνας είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την επιτυχημένη θείωση που ακολουθεί. Το στράγγισμα επιτυγχάνεται με ταλαντευόμενα κόσκινα και συνδυάζεται με απομάκρυνση ποσοστού μίσχων και λοιπών ξένων υλών.

1. Θείωση – πλύση – ρύθμιση υγρασίας (μόνο για τη Σουλτανίνα)

Η θείωση της σταφίδας έχει ως αποτέλεσμα τη βελτίωση του χρώματος (λεύκανση), την αύξηση του χρόνου διατήρησης και την απαλλαγή από έντομα της

αποθήκης. Το πλύσιμο που ακολουθεί απομακρύνει την περίσσεια θειώδους από την επιφάνεια της σταφίδας. Τελικά η σταφίδα οδηγείται στο ξηραντήριο. Το ξηραντήριο είναι μία συνεχής σήραγγα με κυλιόμενη συρμάτινη μεταφορική ταινία. Η θερμοκρασία μειώνεται σταδιακά από τους 85 °C στους 60 °C κατά τη διάρκεια της ξήρανσης που ποικίλει μέχρι η τελική υγρασία να ρυθμιστεί στο 15%. Στο τέλος της ρύθμισης, η σταφίδα δέχεται την επίδραση ψυχρού ρεύματος αέρα, για τη μείωση της θερμοκρασίας της.

2. Απομίσχωση – στίλπνωση

Για την απομίσχωση συνήθως χρησιμοποιούνται μηχανήματα που περιλαμβάνουν διάτρητα κόσκινα μέσα στα οποία περιστρέφονται πτερύγια και απομακρύνουν τους μίσχους. Στο στάδιο αυτό η σταφίδα υφίσταται αρκετές ζημιές που εξαρτώνται από το ποσοστό υγρασίας των σταφίδων και τις συνθήκες λειτουργίας των μηχανημάτων. Για να μειωθούν οι κακώσεις και να αποκτήσει το προϊόν κάποια στιλπνότητα χρησιμοποιούνται διάφορες ελαιώδεις ουσίες. Η χρήση των ουσιών αυτών βοηθά επίσης στη παρεμπόδιση του σβολιάσματος και στην τόνωση του χρωματισμού. Τα έλαια που χρησιμοποιούνται είναι: (α) Ελαιόλαδο ραφινέ σε πυρηνέλαιο χαμηλής οξύτητας σε ποσοστό έως 0,3%. (β) Παραφινέλαιο σε αναλογία 0,3-0,5% του ξηρού βάρους της σταφίδας. (γ) Εμπορικά σκευάσματα όπως το Sultanol, το Durkex-500, το Migryol, το Myraget κ.α. Η εφαρμογή των σκευασμάτων αυτών πρέπει να γίνεται με προσοχή, καθώς μπορεί να προκαλέσουν προβλήματα ανεπιθύμητων οσμών.

3. Τυποποίηση – Συσκευασία

Η τυποποίηση της σταφίδας γίνεται ανάλογα με το μέγεθος και επιτυγχάνεται με το πέρασμα των σταφίδων από σειρά κόσκινων με τρύπες ανάλογες των επιζητούμενων ποιοτικών τύπων. Στην Ελλάδα οι κατηγορίες Σουλτανίνας θειωμένης ή μη διακρίνονται σε:

- Σταφίδες χονδρές No 00, 0, 1, 2, 3, 4, 5
- Σταφίδες ψιλές No 21, 22, 24

Με καλύτερη ποιότητα τον τύπο 00. Η κατάταξη των ραγών λαμβάνει υπόψη το ποσοστό των ραγών καστανόμαυρου χρώματος. Τα κριτήρια χρώματος αλλάζουν αν η σταφίδα είναι θειωμένη. Η συσκευασία γίνεται σε κιβώτια 3-15 Kg ή σε μικροσυσκευασία σακιδίων από σελοφάν ή πλαστικό.

Η Κορινθιακή σταφίδα κατατάσσεται σε μία από τις εξής ποιοτικές κατηγορίες: Extra Choicest, Choicest και Choice. Η κατάταξη αυτή γίνεται βάσει του

χρώματος, της περιεχόμενης υγρασίας, των ξένων υλών και του ποσοστού ισχνών, κόκκινων βεβλαμένων, πολύ χονδρών ή πολύ ψιλών και αναπομίσχωτων ραγών. Επίσης κατατάσσεται σύμφωνα με το μέγεθος σε Bold, Medium, Small, Siltings, Ungraded. Στην εμπορική πρακτική έχουν καθιερωθεί τα τοπωνυμικά σήματα όπως Vostizza, Gulf, Zanta, Patras κ.α. Η συσκευασία γίνεται σε χάρτινα κιβώτια με πλαστικά σακουλάκια ή σε μικροσυσκευασία πλαστικών ή σελοφάν.

1.5 Αποθήκευση της σταφίδας

Η σταφίδα διατηρείται μέχρι την τελική της επεξεργασία σε αποθήκες, για εξισορρόπηση της υγρασίας της (55). Οι αποθήκες πρέπει να είναι κατάλληλων προδιαγραφών, με ευνοϊκές συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας, αερισμού και φωτισμού για την αποτροπή αλλοιώσεων. Οι κυριότερες αλλοιώσεις είναι το ζαχάρωμα, το σβόλιασμα, η αλλοίωση του χρώματος και οι προσβολές από έντομα και μύκητες. Σημαντικό ρόλο στη διατηρησιμότητα των σταφίδων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης παίζει η μέθοδος αποξήρανσης των σταφυλιών και η περιεκτικότητά τους σε υγρασία. Η υγρασία που πρέπει να έχουν οι σταφίδες ώστε να διατηρηθούν σε καλή κατάσταση κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης κυμαίνεται από 13 έως 15%. Στη χώρα μας κατά την παράδοση από τον παραγωγό στο εργοστάσιο, η εκτίμηση της περιεκτικότητας σε υγρασία γίνεται με εμπειρικά κριτήρια. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με τη μεγάλη διάρκεια αποθήκευσης, κυρίως τα τελευταία χρόνια, οδηγεί σε ποιοτική υποβάθμιση του προϊόντος.

1.6 Τα συστατικά της σταφίδας

Η σταφίδα, και ειδικά η έντονης ερυθρής αποχρώσεως Κορινθιακή σταφίδα είναι μάλλον πλούσια σε αντιοξειδωτικά συστατικά. Παράλληλα η ύπαρξη ιχνοστοιχείων, όπως του καλίου και του ασβεστίου, μικρού μοριακού βάρους σακχάρων (35% φρουκτόζη) και οι πλούσιες φυτικές ίνες (7% κ.β.) λογικά συνιστούν ένα διατροφικώς άριστο προϊόν. Δυστυχώς δεν υπάρχουν σημαντικά βιβλιογραφικά δεδομένα για την περιεκτικότητα της (Κορινθιακής) σταφίδας στα ανωτέρω συστατικά. Τα υπάρχοντα στοιχεία σε βασικά διατροφικά μακρο- και μικρο-συστατικά (κυρίως βιταμίνες και ιχνοστοιχεία) προέρχονται από τις χημικές αναλύσεις και τις προδιαγραφές προϊόντων (Παναιγιάλειος Ένωση Συνεταιρισμών, 2001). Δεν υπάρχει ένδειξη του επιπέδου διατήρησης των διαφόρων συστατικών

κατά την επεξεργασία, όπως η έψηση (π.χ. για παραγωγή μπισκότων ή αρτοσυσκευασμάτων). Αποδείχθηκε, ωστόσο, ότι η υψηλή ή και μέτρια επίδραση θέρμανσης προκαλεί αποσύνθεση κάποιων σακχάρων, όπως η φρουκτόζη ενώ η γλυκόζη πρακτικά διατηρείται (Karathanos, 1999).

Περίπου 3-4 Kg σταφυλιών αποδίδουν 1 Kg οποιασδήποτε ποικιλίας σταφίδας. Οι σταφίδες είναι πλούσιες σε απλά σάκχαρα όπως φρουκτόζη και γλυκόζη, τα οποία και αποδίδουν ενέργεια άμεσα. Η παρουσία των σακχάρων κινητοποιεί μία αλκαλική αντίδραση με την οποία πραγματοποιείται εξουδετέρωση των οξέων που σχηματίζονται στον οργανισμό μετά από τη κατανάλωση τροφών όπως το κρέας και τα αυγά.

Πίνακας 1.1 Θρεπτική αξία της σταφίδας Βοστίτσας

Κορινθιακή Σταφίδα (6)		
	Σύσταση ανά 100 g	Σύσταση ανά μικρομερίδα (18 g)
Ενέργεια (Kcal)	320	57,6
Υδατάνθρακες (g)	75	13,5
Πρωτεΐνες (g)	2,5	0,45
Λιπαρά (g)	0,4	0,07
Φυτικές ίνες (g)	6,7	1,2
Απλά σάκχαρα (g)	68	12,2
Βιταμίνη Α (μg)	√	√
Βιταμίνη Β2 (mg)	0,038	0,007
Βιταμίνη Β6(mg)	√	√
Βιταμίνη Β12(mg)	√	√
Βιταμίνη C(mg)	1,3	0,234
Βιταμίνη Ε(mg)	√	√
Κάλιο (g)	0,7	0,13
Μαγνήσιο (mg)	30	5,4
Νάτριο (mg)	2,5	0,45
Σίδηρος mg)	4	0,72
Ψευδάργυρος (mg)	0,6	0,11

Ασβέστιο (mg)	10	1,8
Μαγνήσιο (mg)	0,5	0,09
Χαλκός (mg)	0,7	0,13
Φώσφορος (mg)	180	32,4
Υγρασία	14-17%%	
Συνολικά στερεά	84-87%	

Πίνακας 1.2 Θρεπτική αξία σταφίδας τύπου raisin

Σταφίδα τύπου raisin (49)		
	Σύσταση ανά 100 g	Σύσταση ανά μικρομερίδα (18 g)
Ενέργεια (Kcal)	330	54
Υδατάνθρακες (g)	78	14,2
Πρωτεΐνες (g)	3,3	0,6
Λιπαρά (g)	0,6	0,1
Φυτικές ίνες (g)	3,9	0,7
Απλά σάκχαρα (g)	65	11,7

1.7 Η θέση της σταφίδας στη Μεσογειακή διατροφή

Η σταφίδα όπως αναφέρθηκε αποτελεί ένα προϊόν το οποίο καλλιεργείται στη λεκάνη της Μεσογείου και ιδιαίτερα σε μεγαλύτερο βαθμό στον ελλαδικό χώρο. Αυτό το γεγονός καθιστά τη σταφίδα σημαντικό συστατικό της Μεσογειακής διατροφής. Τα πρότυπα της Μεσογειακής διατροφής προτείνουν κατανάλωση 3 μικρομερίδων φρούτων την ημέρα. Μία μικρομερίδα σταφίδας ισοδυναμεί με ποσότητα ίση με 2 κουταλιές της σούπας του συγκεκριμένου προϊόντος (~18 g) (33). Συνεπώς στην περίπτωση που όλες τις προτεινόμενες μικρομερίδες φρούτων καλυφθούν από την κατανάλωση σταφίδας, ο καταναλωτής θα καταναλώσει περίπου 54 g σταφίδας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΑΝΘΟΚΥΑΝΙΝΕΣ

1.1 Εισαγωγή

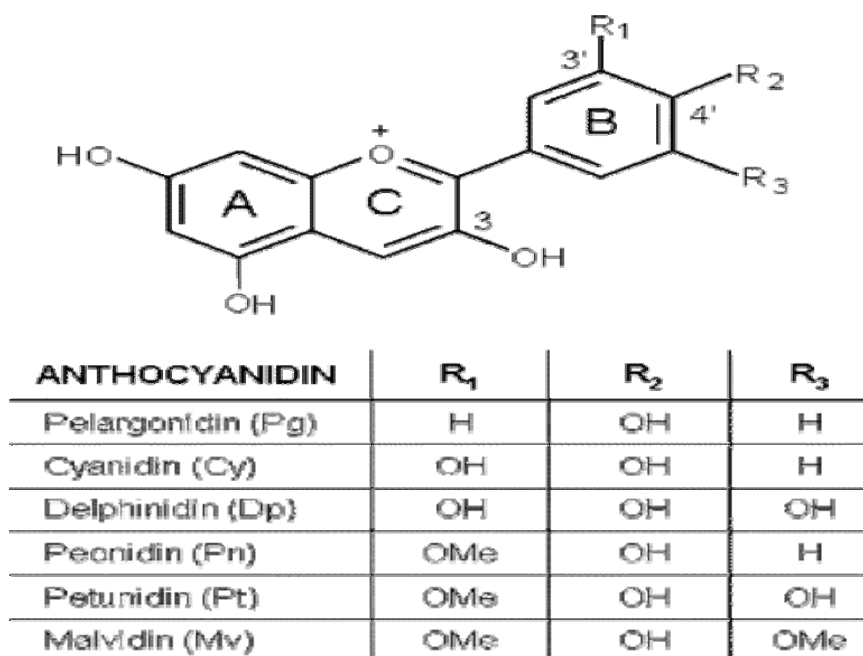
Με τον όρο πολυφαινόλες χαρακτηρίζεται μια μεγάλη ετερογενής ομάδα ενώσεων με κοινό χαρακτηριστικό ότι φέρουν ένα ή περισσότερα υδροξύλια συνδεδεμένα απ'ευθείας σε ένα ή περισσότερους αρωματικούς ή και ετεροκυκλικούς πυρήνες **(4)**. Σήμερα είναι γνωστές περισσότερες από 8000 πολυφαινόλες. Οι πολυφαινόλες παράγονται ως προϊόντα δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών. Συνήθως συναντώνται στη φύση συνδεδεμένες με υδατάνθρακες μέσω των υδροξυλίων τους. Τα συζευγμένα σάκχαρα μπορεί να είναι μονοσακχαρίτες, δισακχαρίτες ή ακόμη και ολιγοσακχαρίτες. Το πιο κοινό σάκχαρο που απαντάται είναι η γλυκόζη. Άλλα σάκχαρα είναι: γαλακτόζη, ξυλόζη, ραμνόζη, αραβινόζη, γλυκουρονικά, γαλακτορονικά οξέα κλπ.

Με βάση τη χημική δομή τους οι πολυφαινόλες κατατάσσονται σε 10 κατηγορίες: απλές φαινόλες, βενζοκινόνες, φαινολικά οξέα, ακετοφαινόλες, φαινυλοξικά οξέα, φαινυλοπροπανοειδή, (υδροξυ)κιναμμομικά οξέα, κουμαρίνες/ίσοκουμαρίνες, χρωμόνες, ναφθοκινόνες, ξανθόνες, στιλβένια, ανθρακινόνες, φλαβονοειδή, λιγνάνες/νεολιγνάνες/λιγνίνες.

Τα φλαβονοειδή αποτελούν την πιο ευρέως διαδεδομένη ομάδα πολυφαινολών και αποδίδουν στα φρούτα και τα λαχανικά ένα πολύ μεγάλο μέρος του αρώματος και του χρώματός τους. Έχουν αναφερθεί περισσότερα από 5000 διαφορετικά είδη φλαβονοειδών **(44)**. Τις έξι κυριότερες υποκατηγορίες φλαβονοειδών αποτελούν: οι *φλαβόνες* (π.χ. απιγενίνη, λουτεόλη), οι *φλαβονόλες* (π.χ. κερκετίνη, μυρισετίνη), οι *φλαβανόνες* (π.χ. ναριγκενίνη, εσπεριδίνη), οι *κατεχίνες* (π.χ. επικατεχίνη, γαλλοκατεχίνη οι οποίες αν πολυμεριστούν δημιουργούν τις ταννίνες και τις προανθοκυανιδίνες), οι *ανθοκυανιδίνες* (π.χ. κυανιδίνη, πελαργονιδίνη) και οι *ισοφλαβόνες* (π.χ. γενιστεΐνη, δαΐσδεΐνη). Τα περισσότερα από τα φλαβονοειδή που περιέχονται στα φυτά είναι συνδεδεμένα με σάκχαρα (γλυκοζίτες), παρόλο που περιστασιακά παρουσιάζονται και ως αγλυκόνες.

Οι ανθοκυανίνες, συγκεκριμένα, αποτελούν γλυκοσίδες πολυ-υδρόξυ και πολυ-μεθόξυ παραγώγων του 2-φαινυλοβενζοπυριλίου (**σχήμα 1**) και είναι υπεύθυνες για το μπλέ, μωβ και κόκκινο χρώμα πολλών φυτών.

Σχήμα 1. Χημική δομή ανθοκυανινών



Οι διαφορές που παρατηρούνται μεταξύ των διαφόρων ανθοκυανινών σχετίζονται με τον αριθμό των ομάδων υδροξυλίου, την φύση και τον αριθμό των σακχάρων που συνδέονται στο μόριο, την θέση σύνδεσης των σακχάρων καθώς και με την φύση και τον αριθμό των αλειφατικών ή αρωματικών οξέων που συνδέονται στα σάκχαρα.

Οι αγλυκόνες των ανθοκυανινών ονομάζονται ανθοκυανιδίνες. Μέχρι τώρα στην φύση έχουν ανιχνευθεί 17 διαφορετικές ανθοκυανιδίνες. Από αυτές οι 6 είναι οι πιο κοινές: η πελαργονιδίνη, η πεονιδίνη, η κυανιδίνη, η μαλβιδίνη, η πετουνιδίνη και η δελφινιδίνη.

Στην φύση οι πιο διαδεδομένες είναι οι 3 μη μεθυλιωμένες ανθοκυανιδίνες: η κυανιδίνη, η δελφινιδίνη και η πελαργονιδίνη. Είναι παρούσες στο 69% των φρούτων και στο 50% των λουλουδιών. **(25)**

Η κατανομή των των 6 συνηθέστερων ανθοκυανινών στο βρώσιμο μέρος των φυτών είναι κατά προσέγγιση: 50% κυανιδίνη, 12% πελαργονιδίνη, 12% πεονιδίνη, 12% δελφινιδίνη, 7% μαλβιδίνη και 7% πετουνιδίνη. **(25)**

Τελικά μέχρι σήμερα, στην φύση, έχουν εντοπισθεί περί τις 600 ενώσεις που ανήκουν στην κατηγορία των ανθοκυανινών.

Η σημαντικότερη λειτουργία των ανθοκυανινών είναι το ότι δίνουν χρώμα στα φυτά και τα φυτικά προϊόντα στα οποία απαντώνται. Παίζουν καθοριστικό ρόλο στην προσέλκυση ζώων από τα φυτά, και με τον τρόπο αυτό, συμβάλλουν στην μεταφορά γύρης και στην αναπαραγωγή των φυτών. Δηλαδή συνεισφέρουν σημαντικά στις αλληλεπιδράσεις φυτών-ζώων και στην γενικότερη διαδικασία της εξέλιξης των ειδών. Επιπρόσθετα προστατεύουν τα φυτά από τις υπεριώδεις ακτινοβολίες μέσω της αντιοξειδωτικής δράσης τους, αποτελούν αντιβακτηριδιακούς παράγοντες και συμβάλλουν στην άμυνα των φυτών έναντι των επιθέσεων από έντομα.

1.2 Πηγές ανθοκυανινών

Αφού οι ανθοκυανίνες είναι υπεύθυνες για το κυανό χρώμα πολλών φυτών είναι λογικό να απαντώνται σε σημαντικές συγκεντρώσεις σε φρούτα όπως τα κόκκινα σταφύλια και τα σκουρόχρωμα μούρα. Πράγματι έχει βρεθεί ότι τα επίπεδα ανθοκυανινών κυμαίνονται από 0,25 mg/100 g στα αχλάδια μέχρι 500 mg/100g στα blueberries. (28)

Το γεγονός ότι οι ανθοκυανίνες απαντώνται σε πλήθος φρούτων και λαχανικών, καθώς και το ότι πλήθος ερευνών επισημαίνει την πιθανή ευεργετική τους δράση μέσω κυρίως της αντιοξειδωτικής τους ικανότητας, κατέστησε επιβεβλημένη την ανάγκη δημιουργίας μιας βάσης δεδομένων που να παρέχει σαφείς πληροφορίες ως προς την περιεκτικότητα διαφόρων τροφίμων σε ανθοκυανίνες.

Πράγματι το 2003 ιδρύθηκε μια βάση δεδομένων για τα φλαβονοειδή (Flavonoid Data Base) και το 2004 μια ακόμα για τις προανθοκυανιδίνες (Proanthocyanidin Data Base) από το Nutrient Data Laboratory του USDA.(19)

Δυστυχώς υπάρχουν σημαντικά κενά σε αυτές τις βάσεις δεδομένων. Οφείλονται στο μεγάλο αριθμό τροφίμων που περιέχουν φλαβονοειδή, τον μεγάλο αριθμό γλυκοζυλιωμένων φλαβονοειδών και τη έλλειψη αναλυτικών προτύπων για τα περισσότερα από αυτά τα γλυκοζυλιωμένα συστατικά.

Λόγω των παραπάνω περιορισμών που παρουσιάζονται στις βάσεις δεδομένων συνεχίζεται ακόμα η διερεύνηση του ζητήματος της περιεκτικότητας των τροφίμων σε ανθοκυανίνες.

Μια πρόσφατη έρευνα το 2006 παρουσίασε αναλυτικά αποτελέσματα για την περιεκτικότητα 20 φλαβονοειδών (ως αγλυκόνες) σε περισσότερα από 60 φρούτα,

λαχανικά και ξηρούς καρπούς που συλλέχθηκαν από 4 περιφέρειες των Ηνωμένων Πολιτειών (10). Στην μελέτη αυτή, μεταξύ άλλων, μετρήθηκε η περιεκτικότητα των παραπάνω τροφίμων στις 6 σημαντικότερες ανθοκυανιδίνες (κυανιδίνη, πετουनिδίνη, μαλβιδίνη, πεονιδίνη, πελαργονιδίνη και δελφινιδίνη). Τα δείγματα πρώτα υδρολύθηκαν (για να παραλειφθούν οι αγλυκόνες) και ακολούθησε υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC). Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με τις υπάρχουσες τιμές στις βάσεις δεδομένων και παρατίθενται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 2.1 Περιεκτικότητα φρούτων σε ανθοκυανίνες (10)

Description	NNDB No	Source	Cya			Del			Mal			Pelar			Peon			Pet		
			n	Mean	s	n	Mean	s	n	Mean	s	n	Mean	s	n	Mean	s	n	Mean	s
Artichokes, ocean mist, boiled	99362	FCL	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0
		FDB																		
Avocados, raw	09037	FCL	6	0.3	0.3	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0
		FDB																		
Bananas, raw	09040	FCL	8	0.0	0.0	8	7.4	3.3	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
		FDB																		
Blackberries, raw	09042	FCL	4	81.0	30.7	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0
		FDB	51	86.1	20.5															
Blueberries, raw	09050	FCL	7	16.9	9.6	7	48.1	13.1	7	54.6	12.0	7	0.0	0.0	7	7.8	1.8	7	29.6	7.7
		FDB	13	15.8	7.3	13	29.1	7.4	12	49.2	11.9	1	0.0	0.0	12	7.0	5.3	12	11.7	3.1
Cherries, sweet, raw	09070	FCL	4	31.0	6.3	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	4.0	1.4	4	0.0	0.0
		FDB	7	111.4	34.5							7	0.8	0.6	7	5.2	3.1			
Cranberries, raw	09078	FCL	4	39.8	4.5	4	9.5	1.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	36.8	6.0	4	0.0	0.0
		FDB																		
Dates, raw	09087	FCL	6	1.7	1.6	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0
		FDB																		
Figs, raw	09089	FCL	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
		FDB																		
Grapefruit, pink & red, raw	09112	FCL	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0
		FDB																		
Kiwi fruit, fresh, raw	09148	FCL	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0
		FDB																		
Kiwi, gold, raw	97079	FCL	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0
		FDB																		
Melons, cantaloupe, raw	09181	FCL	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0
		FDB																		
Melons, honeydew, raw	09184	FCL	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0
		FDB																		
Nectarines, raw	09191	FCL	8	2.2	1.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
		FDB	10	1.3	0.7															
Peaches, raw	09236	FCL	7	1.4	1.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0
		FDB	10	1.3	0.7															
Pears, green cultivars, w peel, raw	97075	FCL	8	12.2	7.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
		FDB																		
Pineapple, all varieties, raw	09266	FCL	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0
		FDB																		
Pineapple, extra sweet, raw	09430	FCL	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0
		FDB																		
Plums, raw	09279	FCL	8	12.5	11.5	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
		FDB																		
Plums, black diamond, w peel, raw	97077	FCL	2	37.6	20.1	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0
		FDB																		
Plums, dried (prunes), uncooked	09291	FCL	7	0.3	0.9	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0
		FDB	1	2.0	0.0	1	0.2	0.0				1	0.0	0.0						
Raspberries, seedless	09298	FCL	5	0.0	0.0	5	0.0	0.0	5	0.0	0.0	5	0.0	0.0	5	0.0	0.0	5	0.0	0.0
		FDB	1	0.1	0.0	1	0.0	0.0				1	0.0	0.0						
Raspberries, raw	09302	FCL	6	25.0	2.6	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0	6	1.0	2.3	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0
		FDB	8	35.7	17.3	4	0.5	0.6	4	1.2	1.4	8	2.1	3.3						
Strawberries, raw	09316	FCL	7	2.5	1.3	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	5.4	9.3	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0
		FDB	55	2.0	1.1	1	2.6	0.0				55	37.6	11.8						
Watermelon, raw	9326	FCL	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0
		FDB																		

Description	NNDB No	Source	Cya			Del			Mal			Pelar			Peon			Pet		
			n	Mean	s	n	Mean	s	n	Mean	s	n	Mean	s	n	Mean	s	n	Mean	s
Apples, fuji, raw	97066	FCL	4	0.8	0.8	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0
		FDB	2	0.5	0.6	1	0.0	0.0				1	0.0	0.0						
Apples, gala, w peel, raw	97067	FCL	4	2.0	0.5	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0
		FDB	1	0.0	0.0							0.0			0.0					
Apples, gold del, wo peel, raw	97068	FCL	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0
		FDB																		
Apples, gold del, w peel, raw	97069	FCL	4	2.6	1.8	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0
		FDB	1	0.0	0.0															
Apples, granny smith, w peel, raw	97070	FCL	4	1.3	1.8	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0
		FDB																		
Apples, red del, wo peel, raw	97071	FCL	2	5.1	5.4	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0
		FDB	1	0.8	0.0	1	0.0	0.0				1	0.0	0.0						
Apples, red del, w peel, raw	97072	FCL	4	8.1	2.6	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0
		FDB	1	2.2	0.0	1	0.0	0.0				1	0.0	0.0						

Πίνακας 2.2 Περιεκτικότητα λαχανικών σε ανθοκυανίνες (10)

Description	NNDB No	Source	n	Cya Mean	s	n	Del Mean	s	n	Mal Mean	s	n	Pelar Mean	s	n	Peon Mean	s	n	Pet Mean	s
Broccoli, raw	11090	FCL FDB	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	6.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0
Broccoli, cooked, boiled, drained,	11091	FCL FDB	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0	4	0.0	0.0
Broccoli, raab, raw	11096	FCL FDB	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0
Broccoli, raab, cooked	11097	FCL FDB	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0
Celery, raw	11143	FCL FDB	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
Carrots, baby, raw	11960	FCL FDB	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0
Lettuce, butterhead, raw	11250	FCL FDB	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
Lettuce, green leaf, raw	11253	FCL FDB	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
Lettuce, iceberg, raw	11252	FCL FDB	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
Lettuce, red leaf, raw	11257	FCL FDB	8	0.3	0.6	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
Lettuce, cos or romaine, raw	11251	FCL FDB	3	13.7	10.8	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
Onions, sweet, raw	11294	FCL FDB	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
Potatoes, russet, w skin, raw	11353	FCL FDB	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0
Potatoes, white, w skin, raw	11354	FCL FDB	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0
Potatoes, red, w skin, raw	11355	FCL FDB	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0
Potatoes, russet, w skin, baked	11356	FCL FDB	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
Potatoes, white, w skin, baked	11357	FCL FDB	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0
Potatoes, red, w skin, baked	11358	FCL FDB	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
Radishes, raw	11429	FCL FDB	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	25.0	10.3	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0
Tomatoes, red, ripe, raw	11529	FCL FDB	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
Tomatoes, red, ripe, cooked	11530	FCL FDB	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0

Πίνακας 2.3 Περιεκτικότητα ξηρών καρπών σε ανθοκυανίνες

Description	NNDB No	Source	n	Cya Mean	s	n	Del Mean	s	n	Mal Mean	s	n	Pelar Mean	s	n	Peon Mean	s	n	Pet Mean	s
Nuts, almonds	12061	FCL FDB	8	2.46	1.63	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
Nuts, brazilnuts	12078	FCL FDB	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0
Nuts, cashew	12086	FCL FDB	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0
Nuts, hazelnuts or filberts	12120	FCL FDB	7	6.7	3.1	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
Nuts, macadamia	12131	FCL FDB	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0
Nuts, pecans	12142	FCL FDB	7	10.7	4.0	7	7.3	2.5	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0	7	0.0	0.0
Nuts, pine nuts	14149	FCL FDB	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0	2	0.0	0.0
Nuts, pistachio	12151	FCL FDB	8	7.2	3.9	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0	8	0.0	0.0
Nuts, walnuts, english	12155	FCL FDB	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0	6	0.0	0.0
Peanuts	16089	FCL FDB	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0	1	0.0	0.0

Όπως φαίνεται από τους πίνακες η συντριπτική πλειοψηφία των πειραματικών ευρημάτων συμπίπτει με αυτά των βάσεων δεδομένων. Τα τρόφιμα συλλέχθηκαν 2 διαφορετικές περιόδους για να διαπιστωθεί το κατά υπάρχουν εποχικές διακυμάνσεις. Το μόνο τρόφιμο στο οποίο παρατηρήθηκε διαφορά ήταν το blueberry (πίνακας 2.4)

Πίνακας 2.4 Εποχική διακύμανση blueberry

flavonoid	pass 1	pass 2	probability pass 1 = pass 2
cyanidin	10.0 ± 2.4 (4)	26.0 ± 6.8 (3)	0.006 ^a
delphinidin	39.2 ± 5.5 (4)	60.1 ± 9.6 (3)	0.014 ^a
malvidin	46.8 ± 2.3 (4)	65.1 ± 11.6 (3)	0.025 ^a
peonidin	6.8 ± 0.9 (4)	9.4 ± 1.6 (3)	0.038 ^a
petunidin	23.4 ± 1.1 (4)	1.7 ± 0.3 (3)	0.000 ^a
quercetin	11.0 ± 1.7 (4)	4.4 ± 4.4 (3)	0.036 ^a
epicatechin	1.4 ± 1.1 (3)	0.3 ± 0.3 (4)	0.111
epigallocatechin	1.2 ± 0.6 (3)	1.5 ± 0.5 (4)	0.530
catechin	2.8 ± 1.3 (3)	1.8 ± 0.6 (4)	0.216

^a $P < 0.05$.

Τέλος πρέπει να τονιστεί ότι στην συγκεκριμένη έρευνα παρατηρήθηκε σημαντική διακύμανση στις μετρήσεις των συγκεντρώσεων, γεγονός αναμενόμενο αφού οι συγκεντρώσεις των φλαβονοειδών μπορεί να επηρεαστούν από την ποικιλία του τροφίμου ακι τις συνθήκες επεξεργασίας και ανάπτυξης.

2.3 Πρόσληψη ανθοκυανινών

Δεδομένου του γεγονότος ότι μέχρι πρόσφατα δεν υπήρχαν στοιχεία για την περιεκτικότητα των τροφίμων σε ανθοκυανίνες (όπως αναπτύχθηκε στην προηγούμενη παράγραφο), είναι λογικό το ζήτημα της πρόσληψης ανθοκυανινών μέσω της διατροφής να παραμένει ασαφές.

Πάρα αυτά η ημερήσια πρόσληψη φλαβονοειδών στις Δυτικές χώρες εκτιμάται περίπου από 0,5 g μέχρι 1 g **(26)**. Συγκεκριμένα η ημερήσια πρόσληψη ανθοκυανινών υπολογίζεται ότι μπορεί να υπερβαίνει τα 200 mg σε άτομα που καταναλώνουν πολλά φρούτα και λαχανικά. Φυσικά η συνήθης πρόσληψη φρούτων και λαχανικών είναι μικρότερη και, επομένως, μικρότερη αναμένεται και η πρόσληψη ανθοκυανινών **(38)**. Μια άλλη μελέτη υπολογίζει ότι η ημερήσια πρόσληψη ανθοκυανινών κυμαίνεται μεταξύ των 215 mg τους καλοκαιρινούς μήνες και 180 mg τους χειμερινούς μήνες **(26)**.

Σε μια πρόσφατη μελέτη υπήρξε απόπειρα διαφωτισμού τόσο του ζητήματος της περιεκτικότητας των ανθοκυανινών, όσο και της ημερήσιας πρόσληψής τους. **(50)**. Στην μελέτη αυτή αναλύθηκαν περισσότερα από 100 τρόφιμα (φρούτα, λαχανικά,

ξερά φρούτα, μπαχαρικά) για την περιεκτικότητα τους σε ανθοκυανίνες. Τα δείγματα συλλέχθηκαν 2 διαφορετικές εποχές από 4 περιφέρειες των Ηνωμένων Πολιτειών. Η ιδιαιτερότητα της έρευνας βρίσκεται στο ότι δεν πραγματοποιήθηκε υδρόλυση των δειγμάτων πριν την ανάλυση, ώστε να παραληφθούν μόνο οι αγλυκόνες. Πάλι η μέθοδος HPLC αποτέλεσε την βάση της ανάλυσης, αλλά χρησιμοποιήθηκαν ως πρότυπα οι σχετικοί γλυκοζίτες ανθοκυανινών.

Τα αποτελέσματα καταγράφονται στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 2.5)

Πίνακας 2.5 Περιεκτικότητα διαφόρων τροφίμων σε ανθοκυανίνες (50)

		mg/100 g (of fresh wt or form consumed)							
food	moisture ^c (%)	Dp- ACN	Cy- ACN	Pt- ACN	Pg- ACN	Pn- ACN	Mv- ACN	total ACN	total ACN/ serving ^d (mg)
fruits	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1. apple	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fuji (<i>n</i> = 4 ^e)	84.2	-	1.3 ± 0.7	-	-	-	-	1.3 ± 0.7	1.8
Gala (<i>n</i> = 3)	85.8	-	2.3 ± 0.8	-	-	-	-	2.3 ± 0.8	3.2
Red Delicious (<i>n</i> = 4)	85.5	-	12.1 ± 1.8	-	-	0.2 ± 0.1	-	12.3 ± 1.9	17.0
2. blackberry	-	-	-	-	-	-	-	-	-
blackberry (<i>n</i> = 4)	86.9	-	244 ± 68.0	-	0.7 ± 0.1	T ^f	-	245 ± 68.0	353
Marion blackberry (<i>n</i> = 1)	86.9	-	297.7	-	1.7	1.1	-	300.5	433
3. blueberry	-	-	-	-	-	-	-	-	-
cultivated (<i>n</i> = 7)	85.0	120.7 ± 27.9	28.6 ± 19.8	71.9 ± 14.0	-	34.2 ± 11.9	131.3 ± 16.5	386.6 ± 77.7	529
wild (<i>n</i> = 1)	89.0	141.1	66.3	87.6	-	36.9	154.6	486.5	705
4. cherry, sweet (<i>n</i> = 4)	80.2	-	113± 19.6	-	1.4 ± 0.2	7.5 ± 1.9	-	122 ± 21.3	177
5. chokeberry (<i>n</i> = 1)	71.8	-	1478	-	2.3	-	-	1480	2147 ^g
6. cranberry (<i>n</i> = 3)	87.1	0.1 ± 0.1	66.1 ± 16.7	T	0.7 ± 0.1	72.2 ±	0.8 ± 0.9	140 ± 28.5	133

						13.6			
7. currant	-	-	-	-	-	-	-	-	-
black currant (<i>n</i> = 6)	77.5	333 ± 78.1	133 ± 38.6	7.3 ± 5.6	1.9 ± 0.5	1.0 ± 0.5	-	476 ± 115	533
red currant (<i>n</i> = 1)	78.1	0.1	12.7	-	-	-	-	12.8	14.3
8. elderberry (<i>n</i> = 1)	82.5	-	1373	-	1.8	-	-	1375	1993 ^g
9. gooseberry ^h	-	-	-	-	-	-	-	-	-
group 1 (<i>n</i> = 2)	88.0	-	10.2 ± 0.1	-	-	0.2 ± 0.1	-	10.4 ± 0.1	15.1 ^g
group 2 (<i>n</i> = 1)	88.0	-	2.1	-	-	0.1	-	2.2	3.2 ^g
group 3 (<i>n</i> = 1)	88.0	-	0.7	-	-	-	-	0.7	1.0 ^g
10. grape	-	-	-	-	-	-	-	-	-
red grape (<i>n</i> = 5)	80.4	1.1 ± 0.8	3.9 ± 1.5	1.1 ± 0.9	-	10.1 ± 4.5	10.5 ± 8.4	26.7 ± 10.9	42.7
Concord grape (<i>n</i> = 1)	80.4	70.7	23.8	14.9	T	4.8	5.9	120.1	192
11. nectarine (<i>n</i> = 7)	86.8	-	6.8 ± 1.5	-	-	-	-	6.8 ± 1.5	9.2
12. peach (<i>n</i> = 8)	88.3	-	4.8 ± 1.2	-	-	-	-	4.8 ± 1.2	4.7
13. plum	-	-	-	-	-	-	-	-	-
plum (<i>n</i> = 8)	87.4	-	19.0 ± 4.4	-	-	-	-	19.0 ± 4.4	12.5
black plum (<i>n</i> = 2)	87.9	-	124.5 ± 21.6	-	T	T	-	124.5 ± 21.6	82.2
14. raspberry	-	-	-	-	-	-	-	-	-
black raspberry (<i>n</i> = 1)	85.8	-	669	-	16.7	1.1	-	687	845
red raspberry (<i>n</i> = 5)	85.8	-	90.2 ± 19.2	-	1.9 ± 1.0	-	-	92.1 ± 19.7	116
15. strawberry	-	-	-	-	-	-	-	-	-
strawberry (<i>n</i> = 8)	91.1	-	1.2 ± 0.4	-	19.8 ± 3.1	-	-	21.2 ± 3.3	35.0
strawberry OSC ⁱ (<i>n</i> = 1)	91.1	-	9.4	1.0	31.4	-	-	41.7	69.2

vegetables	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1. black bean (n = 1)	-	18.5	-	15.4	-	-	10.6	44.5	23.1
2. eggplant (n = 1)	91.8	85.7	-	-	-	-	-	85.7	35.1
3. red cabbage (n = 4)	91.0	-	322 ± 40.8	-	-	-	-	322 ± 40.8	113
4. red leaf lettuce (n = 8)	95.6	-	2.2 ± 1.5	-	-	-	-	2.2 ± 1.5	1.5
5. red onion (n = 1)	87.7	-	46.4	-	-	2.1	-	48.5	38.8
6. red radish (n = 9)	95.6	-	T	-	100.1 ± 30.0	-	-	100.1 ± 30.0	116
7. small red bean (n = 1)	-	-	1.9	-	4.8	-	-	6.7	6.2
nuts	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1. pistachio (n = 7)	-	-	7.5 ± 1.5	-	-	-	-	7.5 ± 1.5	2.1

^a Data expressed milligrams of anthocyanin (anthocyanidin glycosides or acylglycosides) on an "as is" weight basis and presented as mean ± SD for sample number >2. ^b Abbreviations: ACN, anthocyanin; Dp, delphinidin; Cy, cyanidin; Pt, petunidin, Pg, pelargonidin; Pn, peonidin; Mv, malvidin. ^c Expressed as mean of different samples. ^d Serving size from the USDA National Nutrient Database for Standard Reference (www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp). ^e Sample number of each food. ^f T, trace. ^g No serving size data available. Estimated as a blueberry serving size, 145 g (1 cup). ^h Group 1, contained the varieties 'Whinham' and 'Lancashire'; group 2, variety was 'Dan's Mistake'; group 3, variety was 'Careless'. ⁱ OSC, Oregon Strawberry Commission.

Τελικά σε όλα τα τρόφιμα απαντήθηκαν 6 αγλυκόνες (μαλβιδίνη, δελφινιδίνη, κυανιδίνη, πελαργονιδίνη, πετουνιδίνη και πεονιδίνη). Πάρα ταύτα ο αριθμός των σακχάρων που προσδένονται σε αυτές καθώς και το μοτίβο ακυλίωσης διαφέρει μεταξύ των τροφίμων.

Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν δεδομένα πρόσληψης τροφίμων της «National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES 2001-2002)» (35) και σε συνδυασμό με την ευρεθήσα περιεκτικότητα σε ανθοκυανίνες κατέληξαν ότι η ημερήσια πρόσληψη ανθοκυανινών είναι 12,5 mg.

2.4 Ανθοκυανίνες στην σταφίδα

Το πολυφαινολικό περιεχόμενο των σταφυλιών είναι ευρέως μελετημένο. Είναι διαπιστωμένο ότι τα σταφύλια αποτελούν πλούσια πηγή πολυφαινολών (48). Οι πολυφαινόλες στα σταφύλια ποικίλουν από απλές ενώσεις (μονομερή) έως πολύπλοκες ουσίες (ολιγομερή και πολυμερή). Διάφορες τάξεις πολυφαινολών έχουν ανιχνευθεί και ποσοτικοποιηθεί στα σταφύλια όπως: φαινολικά οξέα (βενζοϊκό και υδροξυκιναμικό οξύ), παράγωγα στιλβενίων (ρεσβερατρόλη), φλαβαν-3-όλες (κατεχίνη και επικατεχίνη), φλαβονόλες (κερκετίνη, μυρισετίνη) καθώς και ανθοκυανίνες (2, 3, 21). Έχει, επίσης, μελετηθεί το πολυφαινολικό περιεχόμενο σε γίγαρτα σταφυλιών. Τα γίγαρτα των σταφυλιών περιέχουν, μεταξύ άλλων, γαλλικό οξύ, φλαβονόλες καθώς και πολυμερή φλαβονολών (9,51).

Το γεγονός ότι τα σταφύλια αποτελούν πλούσια πηγή πολυφαινολών τόσο σε ποσότητα, όσο και σε είδη, οδηγεί στον συνειρμό ότι και οι σταφίδες θα μπορούσαν να αποτελέσουν μια σημαντική πηγή πολυφαινολών. Δυστυχώς μέχρι σήμερα έχουν πραγματοποιηθεί λίγες έρευνες για την αποσαφήνιση του ζητήματος της περιεκτικότητας της σταφίδας σε πολυφαινόλες, και ιδιαίτερα σε ανθοκυανίνες.

Στη διεθνή βιβλιογραφία, υπάρχουν λίγες αναφορές στο πολυφαινολικό περιεχόμενο της σταφίδας. Μια έρευνα πραγματοποιήθηκε σε δείγματα σταφίδας με την ονομασία raisins και Thompson Seedless grapes (*Vitis vinifera* L. cv. Sultanina) από τη Καλιφόρνια των Η.Π.Α (5). Στη μελέτη αυτή ανιχνεύτηκαν:

Στα δείγματα τύπου *raisin* οι πολυφαινόλες: οξειδωμένα κινναμωμικά οξέα, υδροξυμεθυλοφουρουράλη, πρωτοκατεχικό οξύ, καφταρικό οξύ, κουταρικό οξύ, ρουτίνη, γλυκοζίτες της κερκετίνης, γλυκοζίτες της καμπερόλης

Στα δείγματα τύπου Thompson Seedless grapes οι πολυφαινόλες: cis-καυταρικό οξύ, καυταρικό οξύ, cis-κουταρικό οξύ, κουταρικό οξύ, ρουτίνη, γλυκοζίτες της κερκετίνης, γλυκοζίτες της καμπερόλης, κατεχίνη, επικατεχίνη και οι προανθοκυανιδίνες B3, B1, B4, B2, τριμερή και τετραμερή προκυανιδίνη.

Στη μελέτη αυτή ελέγχθηκε και η πιθανότητα παρουσίας ρεσβερατρόλης στη σταφίδα αφού υπάρχει σύμφωνα με τη βιβλιογραφία σε μεγάλες ποσότητες στα σταφύλια και στο κρασί. Όμως δεν ανιχνεύτηκε η συγκεκριμένη πολυφαινόλη στη σταφίδα. Το γεγονός αυτό πιθανολογείται ότι οφείλεται στο ότι τα σταφύλια

χάνουν την ικανότητά τους να παράγουν ρεσβερατρόλη κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης.

Επίσης μελετήθηκε και η πιθανότητα παρουσίας ελλαγικού οξέος. Το ελλαγικό οξύ παράγεται συχνά σε καρπούς και φρούτα όπως οι φράουλες και τα βατόμουρα. Όμως δε βρέθηκαν στην έρευνα αυτή αξιόλογες ποσότητες ελλαγικού οξέος στα δείγματα.

Σε μια πιο πρόσφατη έρευνα μελετήθηκαν οι τρεις υποποικιλίες κορινθιακής σταφίδας (Gulf, Vostizza, Provincial) ως προς το πολυφαινολικό περιεχόμενο. **(7)**. Το συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο εκτιμήθηκε με την μέθοδο Folin-Ciocalteu και κυμάνθηκε από 151 mg/100 g ως 246 mg/100 g σταφίδας. Η ανίχνευση και η ποσοτικοποίηση μεμονωμένων πολυφαινολικών συστατικών πραγματοποιήθηκε με αέρια χρωματογραφία/φασματομετρία μάζας. Μεταξύ των πολυφαινολών που μελετήθηκαν 17 ανιχνεύθηκαν στις σταφίδες Gulf και Provincial και 16 στις σταφίδες τύπου Vostizza. Το κυρίαρχο συστατικό και στις τρεις ποικιλίες ήταν το βανιλλικό οξύ με μέση συγκέντρωση 1,21 mg/100 gr σταφίδας. Επίσης σε σημαντικές συγκεντρώσεις βρέθηκαν και καφεϊκό οξύ, γαλλικό οξύ, συριγλικό οξύ, π-κουμαρικό οξύ, πρωτοκατεουχικό οξύ, φερουλικό οξύ και κερκετίνη.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει και σε ποιο μέρος του καρπού εντοπίζονται οι ανθοκυανίνες. Σε πρόσφατη έρευνα μελετήθηκαν 4 ποικιλίες κόκκινων σταφυλιών (*Vitis vinifera*) **(8)**. Με την μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης δείχθηκε ότι η επιδερμίδα και η σάρκα των σταφυλιών περιείχαν συγκρίσιμες ποσότητες γλυκόζης, φρουκτόζης, τριγλυκού οξέος, μηλονικού οξέος, σικιμικού οξέος και trans-τριγλυκού οξέος. Η σάρκα περιείχε μικρότερες ποσότητες (σε σχέση με το δέρμα) cis-κουταρικού οξέος, trans-κουταρικού οξέος, καφεϊκού οξέος και κατεχίνης. Σε ότι αφορά τις ανθοκυανίνες βρίσκονταν αποκλειστικά στην επιδερμίδα των σταφυλιών.

Στην παράγραφο «πηγές ανθοκυανινών» αναφέρθηκαν εκτενώς οι περιεκτικότητες διαφόρων τροφίμων σε ανθοκυανίνες. Σύμφωνα με τους Wu et al.(2006) οι σταφίδες τύπου raisin δεν περιέχουν ανθοκυανίνες. Παρομοίως και σύμφωνα με τους Harnly MJ et al.(2006) στις σταφίδες τύπου raisin δεν περιέχονται ανθοκυανίνες. Σύμφωνα με την βάση δεδομένων του USDA στις σταφίδες τύπου raisin περιέχεται μικρή ποσότητα ανθοκυανινών. Συγκεκριμένα περιέχεται κυανιδίνη 0,03 mg/100 g, δελφινιδίνη και πελαργονιδίνη 0,01 mg/100 g.

Εν κατακλείδι, τα παραπάνω στοιχεία οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το ζήτημα της περιεκτικότητας των σταφίδων σε ανθοκυανίνες χρήζει περισσότερης και συστηματικότερης μελέτης.

2.5 Δράσεις ανθοκυανινών

Μέχρι τώρα καταγράφηκαν τα δεδομένα που σχετίζονται με τις πηγές και την πρόσληψη των ανθοκυανινών. Οι ανθοκυανίνες, και γενικότερα η κατηγορία των φλαβονοειδών, αποτελεί εντοκείμενο εκτενούς μελέτης επιδημιολογικών ερευνών. Από τις μελέτες αυτές φαίνεται να υπάρχει μια αντίστροφη σχέση μεταξύ της πρόσληψης φλαβονοειδών και του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων **(11, 12, 23)** και καρκίνου **(12)**. Στην Zutphen Elderly Study υψηλή πρόσληψη φλαβονοειδών (περίπου 30 mg/ημέρα) σχετίστηκε με περίπου 50% μείωση της θνησιμότητας λόγω καρδιαγγειακής νόσου συγκρινόμενη με τα άτομα που είχαν χαμηλή πρόσληψη (<19 mg/ημέρα) **(11)**. Παρόμοια αποτελέσματα καταγράφηκαν και σε μια μεγάλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Φινλανδία, στην οποία συμμετείχαν 5133 άνδρες και γυναίκες ηλικίας 30-69 ετών. Στην μελέτη αυτή υψηλή πρόσληψη μήλων και κρεμμυδιών, που αποτελούν πλούσιες πηγές φλαβονοειδών, σχετίστηκε με μείωση της θνησιμότητας λόγω καρδιαγγειακών νοσημάτων. Άτομα που βρίσκονταν στο υψηλότερο τεταρτημόριο για την πρόσληψη μήλων και κρεμμυδιών είχαν 50% μειωμένη θνησιμότητα λόγω καρδιαγγειακών νοσημάτων **(23)**. Σε μια προοπτική έρευνα στην οποία συμμετείχαν 34492 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες στην Αϊόβα η ομάδα υψηλής πρόσληψης φλαβονοειδών είχε μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου (RR=0,62) **(23)**. Να σημειωθεί ότι στην Health Professional's Study δεν αναφέρθηκε σημαντική διαφορά σε ότι αφορά τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων μεταξύ των ομάδων πρόσληψης φλαβονοειδών **(42)**.

Από τα επιδημιολογικά στοιχεία συνάγεται ότι υπάρχει μεγάλη πιθανότητα οι ανθοκυανίνες να έχουν προστατευτική δράση έναντι ασθενειών όπως τα καρδιαγγειακά και ο καρκίνος, οι οποίες μαστίζουν εκατομμύρια ανθρώπων σε όλο τον πλανήτη.

Οι φυσιολογικές δράσεις μέσω των οποίων φαίνεται να επιτυγχάνουν τον προστατευτικό τους ρόλο είναι ποικίλες. Ξεχωρίζουν η αντιοξειδωτική δράση, η αντιφλεγμονώδης δράση, η προστασία και η χαλάρωση των αγγείων, η

υπογλυκαιμική δράση καθώς και η αντικαρκινική δράση. Οι παραπάνω δράσεις των ανθοκυανινών έχουν μελετηθεί κυρίως σε έρευνες *in vitro* καθώς και σε μελέτες σε πειραματόζωα.

2.5.1 Αντιοξειδωτική δράση

Η κυριότερη, και ευρύτερα μελετημένη, δράση των ανθοκυανινών είναι η αντιοξειδωτική δράση και η εξουδετέρωση των ελευθέρων ριζών. Το 1994 οι Tsuda et al. μελέτησαν την αντιοξειδωτική δράση της κυανιδίνης και του 3-O-β-γλυκοζίτη της κυανιδίνης χρησιμοποιώντας λιποσώματα, μεμβράνες ερυθροκυττάρων από λαγούς, ηπατικά κύτταρα ποντικών. Η κυανιδίνη και ο γλυκοζίτης της είχαν αντιοξειδωτική δράση σε όλα τα συστήματα. Συγκεκριμένα η κυανιδίνη παρουσίασε ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση από τον γλυκοζίτη της στα λιποσώματα και στα ερυθροκύτταρα. Η δράση αμφοτέρων ήταν ίση με αυτή της α-τοκοφερόλης. Στα ηπατικά κύτταρα ποντικών η δράση αμφοτέρων υπήρξε ισχυρότερη από αυτή της α-τοκοφερόλης. Επομένως οι ουσίες αυτές διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόληψη της οξείδωσης λιπιδίων, με βάση τα παραπάνω δεδομένα **(45)**.

Η ίδια ομάδα ερευνητών το 1996 μελέτησε την ικανότητα εξουδετέρωσης ελευθέρων ριζών και αναστολής της οξείδωσης λιπιδίων 3 ανθοκυανινών: του 3-O-β-D-γλυκοζίτη της πελαργονιδίνης, του 3-O-β-γλυκοζίτη της κυανιδίνης και του 3-O-β-γλυκοζίτη της δελφινιδίνης καθώς και των αγλυκόνων τους. Το μελετώμενο σύστημα ήταν πάλι λιποσώματα τα οποία ακτινοβολούνταν με υπεριώδη ακτινοβολία. Τελικά βρέθηκε ότι όλες οι ουσίες είχαν αντιοξειδωτική δράση και μείωσαν την παραγωγή μαλονδιαλδεύδης στα λιποσώματα μετά την έκθεσή τους σε υπεριώδη ακτινοβολία (320-290 nm) **(46)**.

Πολύ ενδιαφέρουσα ήταν η μελέτη των Gracia et al. το 1997. Οι ερευνητές ανέφεραν ότι οι ανθοκυανίνες δρουν ως αντιοξειδωτικά τόσο σε μόρια ανθρώπινης LDL όσο και σε λιποσώματα *in vitro*. Η αναστολή της οξείδωσης ήταν ανάλογη της συγκέντρωσης των ανθοκυανινών. Στο σύστημα της LDL, όταν η οξείδωση καταλύθηκε από 10 μM Cu^{2+} , καλύτερη αντιοξειδωτική δράση παρουσίασε η μαλβιδίνη και ακολουθούσαν η δελφινιδίνη, η κυανιδίνη και η πελαργονιδίνη. Όταν η κατάλυση έγινε με 80 μM Cu^{2+} η σειρά αντιοξειδωτικής ικανότητας μεταβλήθηκε σε: δελφινιδίνη>κυανιδίνη>μαλβιδίνη>πελαργονιδίνη. Στο σύστημα των λιποσωμάτων καλύτερη αντιοξειδωτική δράση παρουσίασε η μαλβιδίνη, όταν για την κατάλυση χρησιμοποιήθηκαν είτε 3 είτε 10 μM Cu^{2+} . Στην περίπτωση της

κατάλυσης από $3\mu\text{M Cu}^{2+}$ οι υπόλοιπες νθοκυανίνες επέδειξαν προοξειδωτική δράση. Στην περίπτωση της κατάλυσης από $10\mu\text{M Cu}^{2+}$ η κυανιδίνη και η δελφινιδίνη επέδειξαν προοξειδωτική δράση (24).

Σημαντικός μηχανισμός εκδήλωσης της αντιοξειδωτικής ικανότητας των ανθοκυανινών είναι ο σχηματισμός χηλικών ενώσεων με μέταλλα και η αναστολή παραγωγής ελευθέρων ριζών. Οι Sarma et al. έδειξαν ότι οι ανθοκυανίνες προλαμβάνουν την οξείδωση του ασκορβικού οξέος που προκαλείται από ιόντα μετάλλων μέσω του σχηματισμού χηλικού συμπλόκου με τα ιόντα του μετάλλου (43). Σε μια άλλη μελέτη οι Noda et al. μελέτησαν την δυνατότητα ενός γλυκοζίτη της δελφινιδίνης να εξουδετερώνει ρίζες υδροξυλίου, οι οποίες παράγονταν μέσω της αντίδρασης Fenton. Τελικά ανακάλυψαν ότι ο γλυκοζίτης της δελφινιδίνης σχηματίζει σύμπλοκο με τα ιόντα σιδήρου και ότι η εξουδετέρωση των ριζών υδροξυλίου δεν γίνεται άμεσα αλλά μέσω της αναστολής της παραγωγής τους, λόγω του σχηματισμού της χηλικής ένωσης (36).

Επιπρόσθετα, στην μελέτη των Youdim et al. εξετάστηκε το κατά πόσο ανθοκυανίνες μπορούν να ενσωματωθούν σε ενδοθηλιακά κύτταρα και τα εν δυνάμει οφέλη έναντι διαφόρων ενώσεων που προάγουν το οξειδωτικό στρες. Φάνηκε ότι ο εμπλουτισμός των επιθηλιακών κυττάρων με ανθοκυανίνες είχε ως αποτέλεσμα σημαντική προστασία από την οξείδωση που προκάλεσαν το υπεροξείδιο του υδρογόνου και ο θεϊκός σίδηρος II/ασκορβικό οξύ. (53)

Έχουν πραγματοποιηθεί και *in vivo* πειράματα σε ζώα που διερευνούν το ζήτημα της αντιοξειδωτικής ικανότητας των ανθοκυανινών. Σε μια έρευνα ποντίκια αρχικά κατανάλωσαν δίαιτα χαμηλής πρόσληψης σε βιταμίνη E για 12 βδομάδες. Εν συνεχεία τους δόθηκε δίαιτα στην οποία προστέθηκε εκχύλισμα πλούσιο σε ανθοκυανίνες. Το εκχύλισμα περιείχε γλυκοζίτες δελφινιδίνης, μαλβιδίνης, πελαργονιδίνης και κυανιδίνης. Το ποσό των ανθοκυανινών που λάμβαναν τα ποντίκια από το εκχύλισμα ήταν 1g/kg . Τελικά παρατηρήθηκε σημαντική βελτίωση στην αντιοξειδωτική ικανότητα στο πλάσμα ($P<0,001$) και σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων υδροξυυπεροξειδίων και 8-οξο-δεσοξυγουανοσίνης στο ήπαρ ($P<0,001$) (41). Σε μια άλλη μελέτη χορηγήθηκε σε ποντίκια 3-O-β-γλυκοζίτης της κυανιδίνης (2 g/kg). Στα ποντίκια δημιουργήθηκαν συνθήκες ηπατικής ισχαιμίας. Οι συνθήκες ισχαιμίας είχαν ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης TBARS (thiobarbituric acid-reactive substance). Επίσης αυξήθηκε η συγκέντρωση ενζύμων όπως η γαλακτική αφυδρογονάση, η αμινοτρανσφεράση του ασπαργινικού και η

αμινοτρανσφεράση της αλανίνης (αποτελούν δείκτες ηπατικής βλάβης). Η συγκέντρωση ασκορβικού οξέος στο ήπαρ ήταν μειωμένη και αποκαταστάθηκε ταχύτερα στην ομάδα ανθοκυανινών από ότι στην ομάδα ελέγχου. Επίσης η παραγωγή TBARS ήταν μειωμένη στην ομάδα παρέμβασης. Σημαντικό είναι και το εύρημα ότι ο ορός ποντικών της ομάδας παρέμβασης ήταν περισσότερο ανθεκτικός σε περαιτέρω υπεροξειδωση λιπιδίων που προκλήθηκε από Cu^{2+} (47).

Τέλος μελετήθηκε η επίδραση πρόσληψης ανθοκυανινών (34,5 mg/ημέρα) σε κωπηλάτες κατά την διάρκεια μηνιαίας προπονητικής περιόδου. Οι ανθοκυανίνες περιείχονταν σε χυμό chokeberry. Φάνηκε ότι στα δείγματα αίματος που συλλέγονταν 1 λεπτό μετά την δοκιμασία άσκησης, οι συγκεντρώσεις TBARS ήταν χαμηλότερες στην ομάδα παρέμβασης από αυτές της ομάδας ελέγχου. Οι ερευνητές θεώρησαν ότι οι ανθοκυανίνες ενίσχυσαν το ενδογενές αντιοξειδωτικό σύστημα των αθλητών (39).

2.5.2 Αντιφλεγμονώδης δράση

Μια από τις σημαντικές φυσιολογικές δράσεις των ανθοκυανινών είναι η αντιφλεγμονώδης δράση τους. Σε μια μελέτη αποδείχθηκε ότι η δελφινιδίνη και η κυανιδίνη αναστέλουν την έκφραση του ενζύμου COX-2. Η κυκλοξυγενάση είναι το κύριο ένζυμο παραγωγής προσταγλανδινών, των εικοσανοειδών που διαδραματίζουν κύριο ρόλο στην διαδικασία φλεγμονής. Αντίθετα η πελαργονιδίνη, η μαλβιδίνη και η πεονιδίνη δεν έχουν καμία δράση. Ο μηχανισμός αναστολής της έκφρασης της COX-2 (επαγόμενης από λιποπολυσακχαρίτες βακτηρίων) επιτυγχάνεται μέσω της απενεργοποίησης μιας πρωτεϊνικής κινάσης, της MAPK (mitogen-activated protein kinase) (16). Σε μια άλλη έρευνα βρέθηκε ότι εκχύλισμα chokeberry, το οποίο είναι πλούσιο σε ανθοκυανίνες, ανέστειλε την έκφραση της COX-2 και της συνθάσης NO σε μακροφάγα κύτταρα *in vitro*. Η δράση αυτή ήταν ανάλογη της συγκέντρωσης και είχε ως τελικό αποτέλεσμα την μείωση της παραγωγής NO, προσταγλανδίνης PGE-2 και TNF- α , και επομένως, την επιβράδυνση της φλεγμονώδους διαδικασίας (37).

2.5.3 Αγγειοπροστατευτική δράση

Σε έρευνα του Lietti φάνηκε ότι εκχύλισμα που περιείχε 25% ανθοκυανίνες είχε αγγειοπροστατευτική δράση σε πειραματόζωα. Σε κουνέλια η αύξηση της τριχοειδικής διαπερατότητας, μετά από χορήγηση χλωροφόρμιου, μειώθηκε τόσο μετά από ενδοπεριτοναϊκή (25-100 g/kg), όσο μετά από του στόματος χορήγηση (200-400 g/kg) ανθοκυανινών (27). Οι Mian et al. προτείνουν ότι οι ανθοκυανίνες

προστατεύουν τα τριχοειδικά τοιχώματα με 2 μηχανισμούς: Πρώτον σταθεροποιώντας τα φωσφολιπίδια της μεμβράνης και αυξάνοντας έτσι το φαινόμενο του ενδοθηλιακού φραγμού και δεύτερον αυξάνοντας την βιοσύνθεση βλεννοπολυσακχαριτών (32).

Πέρα από την προστασία των τριχοειδικών αγγείων οι ανθοκυανίνες φαίνεται ότι συμβάλλουν και στην χαλάρωση του αγγειακού τοιχώματος. Συγκεκριμένα εκχύλισμα πλούσιο σε ανθοκυανίνες φάνηκε να έχει ως αποτέλεσμα την χαλάρωση αγγείων, όπως φάνηκε σε έρευνα στην οποία μελετήθηκαν δακτύλιοι από αορτή ποντικών *in vitro* (34). Σε μια άλλη έρευνα με παρόμοιο σχεδιασμό μελετήθηκε η επίδραση 3 εκχυλισμάτων πλούσιων σε ανθοκυανίνες. Τα εκχυλίσματα προέρχονταν από 3 διαφορετικά είδη μούρων. Στην έρευνα αυτή χρησιμοποιήθηκαν δακτύλιοι αρτηριών από χοίρους. Αποδείχθηκε ότι τα 2 εκχυλίσματα είχαν ως αποτέλεσμα την χαλάρωση των αγγείων (1). Η παρατηρούμενη χαλάρωση είναι ενδοθηλιοεξαρτώμενη και οφείλεται στην αύξηση της παραγωγής NO από το ενδοθήλιο. Το NO αποτελεί αγγειοδιασταλτικό παράγοντα.

2.5.4 Υπογλυκαιμική δράση

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι μερικές έρευνες καταδεικνύουν την υπογλυκαιμική δράση των ανθοκυανινών μέσω διαφόρων μηχανισμών.

Οι Matsui et al. εξέτασαν φυσικά εκχυλίσματα πλούσια σε ανθοκυανίνες, με σκοπό να αποδείξουν ότι αναστέλουν την α-γλυκοσιδάση (29). Τελικά από τα διάφορα εκχυλίσματα που μελετήθηκαν 2 είχαν ισχυρή ανασταλτική δράση: το εκχύλισμα *Pharbitis nil* και το *Ipomoea batatas*. Διαπιστώθηκε ότι τα παραπάνω εκχυλίσματα ανέστειλαν την δράση της μαλτάσης μόνο, και όχι της σουκράσης. Επίσης ανέστειλαν και την δράση της α-αμυλάσης. Τα παραπάνω καταδεικνύουν ότι οι ανθοκυανίνες είναι πιθανό να καταστέλλουν την μεταγευματική υπεργλυκαιμία. Για να επιβεβαιώσουν τα παραπάνω ευρήματα αλλά και για να αποσαφηνίσουν το κατά πόσο, οι ανθοκυανίνες καταστέλλουν την μεταγευματική υπογλυκαιμία οι Matsui et al. διεξήγαγαν νέα έρευνα (30). Χρησιμοποίησαν ανθοκυανίνες που απομονώθηκαν από το φυτό *Ipomoea batatas*, οι οποίες αποδείχθηκε ότι ανέστειλαν την δράση την μαλτάσης και όχι της σουκράσης. Έτσι σε ποντίκια χορήγησαν το εκχύλισμα των ανθοκυανινών και μετά τους χορήγησαν διάλυμα μαλτόζης, σουκρόζης και γλυκόζης, για να μελετηθεί η συγκέντρωση του σακχάρου. Όταν

χορήγήθηκαν 100 mg/kg ανθοκυανινών (μέσω του εκχυλίσματος), και ακολούθησε χορήγηση 2 mg/kg μαλτόζης, η μέγιστη τιμή σακχάρου (μετά από 30 λεπτά) ήταν σημαντικά χαμηλότερη στην ομάδα παρέμβασης (-16,5%, $P < 0,01$). Για την μείωση της γλυκαιμικής ανόδου, βρέθηκε ότι ήταν απαραίτητη η χορήγηση 10 mg/kg ανθοκυανινών. Στις περιπτώσεις χορήγησης γλυκόζης και σουκρόζης δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων.

Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός για την υπογλυκαιμική δράση των ανθοκυανινών, είναι ότι επάγουν την έκκριση ινσουλίνης. Οι Jayaprakasam et al. μελέτησαν την ικανότητα διαφόρων ανθοκυανινών να διεγείρουν την έκκριση ινσουλίνης από β-κύτταρα ποντικών (20). Μελετήθηκαν η μαλβιδίνη, η πετουνιδίνη, η κυανιδίνη, η πελαργονιδίνη και η δελφινιδίνη καθώς και γλυκοζίτες αυτών. Τελικά η πελαργονιδίνη και ο γλυκοζίτης της προκάλεσαν σημαντική αύξηση της ινσουλίνης (υπό την παρουσία δ/τος γλυκόζης 4 mM). Η αύξηση ήταν της τάξης του 140%. Για τις υπόλοιπες ανθοκυανίνες παρατηρήθηκε ασήμαντη διαφορά, για συγκεντρώσεις γλυκόζης 4 και 10 mM.

2.5.5 Ανθοκυανίνες κατά του καρκίνου

Επιδημιολογικές έρευνες δείχνουν ότι οι ανθοκυανίνες δρουν προστατευτικά έναντι του καρκίνου. Το εύρημα αυτό οδήγησε στην εκτενέστερη μελέτη των πιθανών μηχανισμών μέσω των οποίων οι ανθοκυανίνες επιτυγχάνουν την αντικαρκινική τους δράση. Οι κυριότεροι μηχανισμοί είναι οι εξής (14):

- Αναστολή της διαδικασίας μετατροπής των υγείων κυττάρων σε καρκινικά (αντικαρκινογένεση)
- Καταστολή της φλεγμονώδους διαδικασίας
- Ενίσχυση της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων

Αντικαρκινογένεση

Ο AP-1 είναι παράγοντας μεταγραφής που προωθεί την καρκινογένεση (14). Σε σειρές επιδερμικών κυττάρων ποντικών JB6 ουσίες όπως ο TNF και το TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) προωθούν την μετατροπή τους σε καρκινικά μέσω της ενίσχυσης της δραστηριότητας του AP-1. Η ενίσχυση της δράσης του AP-1 πραγματοποιείται μέσω της ενεργοποίησης MAP κινασών (mitogen-activated protein kinase). Σε κύτταρα JB6 παρατηρήθηκε αναστολή της καρκινογένεσης μετά από χορήγηση TPA. Η δελφινιδίνη εμπόδισε την φωσφορυλίωση της MAPK. Μέσω της

απενεργοποίησης της MAPK ανεστάλη η δράση του AP-1 και έτσι παρατηρήθηκε μειωμένη καρκινογένεση **(15)**. Στην ίδια μελέτη παρατηρήθηκε ότι η αναστολή της καρκινογένεσης ενισχύθηκε όταν μαζί με την δελφινιδίνη δόθηκε και δισμουτάση του υπεροξειδίου, δηλαδή αντιοξειδωτική ουσία. Οι ερευνητές παρατήρησαν ότι οι ανθοκυανίνες και το ένζυμο είχαν συνεργιστική, και όχι αθροιστική δράση. Επομένως η παρατηρούμενη δράση οφείλεται εν μέρει στην εξουδετέρωση των ελευθέρων ριζών και εν μέρει στην απενεργοποίηση της MAPK.

Η κυκλοοξυγενάση είναι το περιοριστικό ένζυμο της σύνθεσης εικοσανοειδών, όπως οι προσταγλανδίνες. Απαντάνται σε τρεις ισομορφές. In vitro η COX-2 επάγεται από προφλεγμονώδη ερεθίσματα, όπως βακτηριακοί λιποπολυσακχαρίτες. Η δράση της ενισχύεται σε φλεγμονώδεις καταστάσεις καθώς και σε διάφορα καρκινώματα, γεγονός που δείχνει ότι εμπλέκεται στην διαδικασία της δημιουργίας όγκων. Οι Hou et.al. χρησιμοποίησαν κυτταρικές σειρές μακροφάγων ποντικών για να μελετήσουν την αναστολή της COX-2. Τελικά έδειξαν ότι εκχύλισμα ανθοκυανινών από bilberry και καθαρή δελφινιδίνη, αναστέλουν την έκφραση της COX-2 (επαγόμενη από λιποπολυσακχαρίτη) σε πρωτεϊνικό και μεταγραφικό επίπεδο **(14)**.

Η απόπτωση αποτελεί έναν σημαντικό μηχανισμό εξουδετέρωσης είτε κυττάρων με σοβαρή βλάβη είτε καρκινικών κυττάρων. Το DNA των κυττάρων, τα οποία θα καταλήξουν σε απόπτωση, έχει βρεθεί ότι είναι κατατμημένο. Τα κύτταρα αυτά εντοπίζονται ταχύτατα από τα μακροφάγα πριν την λύση τους, και έτσι απομακρύνονται χωρίς να προκαλέσουν φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Επομένως ουσίες που ενισχύουν την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων αποτελούν ιδανικές περιπτώσεις για την καταπολέμηση του καρκίνου. Σε μελέτη που έγινε χρησιμοποιώντας σειρές ανθρωπίνων λευχαιμικών κυττάρων, βρέθηκε ότι η δελφινιδίνη, η κυανιδίνη και η πετουνιδίνη ενισχύουν την απόπτωση **(13)**. Η μαλβιδίνη, η πελαργονιδίνη και η πεονιδίνη δεν φάνηκε να επηρεάζουν. Φαίνεται ότι οι δραστικές ανθοκυανίνες δρουν ως προοξειδωτικά, αυξάνοντας τις ελεύθερες ρίζες ενδοκυτταρικά. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την βλάβη και κατάτμηση του DNA, οδηγώντας τελικά στην απόπτωση. Η χορήγηση αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως η καταλάση, μείωσε την βλάβη του DNA και την ακόλουθη κυτταρική απόπτωση. Από αυτό συνάγεται ότι όντως η προοξειδωτική δράση των ανθοκυανινών είναι ο μηχανισμός, μέσω του οποίου πραγματοποιείται η απόπτωση.

2.5.6 Άλλες δράσεις ανθοκυανινών

Οι ανθοκυανίνες, λοιπόν, παρουσιάζουν μεγάλο εύρος δράσεων που εντοπίζεται στα πεδία των καρδιαγγειακών νοσημάτων, του διαβήτη και της καρκινογένεσης.

Υπάρχουν όμως και δράσεις των ανθοκυανινών που σχετίζονται και με άλλα πεδία. Η πρόσληψη ανθοκυανινών φαίνεται ότι ενέχεται στις λειτουργίες του εγκεφάλου. Οι Ramirez et al. έδιεξαν ότι ποντίκια στα οποία δόθηκαν λυοφυλιωμένα blueberries (3,2 g/kg ανθοκυανινών ημερησίως) παρουσίασαν βελτίωση της βραχυχρόνιας μνήμης. Η μακροχρόνια μνήμη δεν επηρεάστηκε **(40)**.

Η χορήγηση ανθοκυανινών φαίνεται ότι βελτιώνει σημαντικά την οπτική οξύτητα καθώς την νυχτερινή όραση. Αυτό φάνηκε από μελέτες σε ανθρώπους οι οποίοι προσέλαβαν ανθοκυανίνες από μούρα **(33)**. Ο μηχανισμός δράσης είναι η ενίσχυση της αναγέννησης της ροδοψίνης **(31)**.

Τέλος οι ανθοκυανίνες έχουν και αντιβακτηριδιακή δράση. Μεταξύ άλλων εμποδίζουν την πρόσδεση βακτηρίων στην ουροποιητική οδό **(18)**.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 Υλικά και όργανα

Για την πραγματοποίηση της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω υλικά και όργανα

3.1.1 Όργανα

- α) Συσκευή υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης τύπου HP 1050, DAD, FLD 10464
- β) Φυγόκεντρος Hermle Z320
- γ) Λουτρό υπερήχων Elmasonic S60
- δ) Αναλυτικός ζυγός Ohaus, ακρίβειας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων
- ε) Αναδευτήρας Vortex
- στ) Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης Specord 200
- ζ) Μικροπιπέτες Eppendorf

3.1.2 Υλικά

α) Αντιδραστήρια

Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την προετοιμασία των δειγμάτων είναι οι παρακάτω:

- Μεθανόλη (Merck, αναλυτικής καθαρότητας)
- Υδροχλωρικό οξύ (Merck, αναλυτικής καθαρότητας)
- Μυρμηγκικό οξύ (Merck, αναλυτικής καθαρότητας)
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck, αναλυτικής καθαρότητας)
- CH_3COONa (Merck, αναλυτικής καθαρότητας)
- Απιονισμένο νερό

Για την συμπύκνωση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε αέριο N_2 (καθαρότητας 99,999%) της εταιρίας Αεροσκόπιο.

β) Σκεύη

Τα σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν για την πραγματοποίηση της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής είναι τα παρακάτω:

- Δοκιμαστικοί σωλήνες των 10 ml
- Δοκιμαστικοί σωλήνες με βιδωτό πώμα των 15 ml
- Γυάλινες πιπέτες Pasteur
- Πλαστικές κυψελίδες του 1 ml για την φωτομέτρηση
- Πλαστικά tips για τις μικροπιπέτες
- Vials των 2 ml με πώμα και πλαστικό septum, κατάλληλα για τον δειγματολήπτη της συσκευής υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης
- Φιλτράκια-δίσκοι (0,45 μ) για την διήθηση των μη διαυγών δειγμάτων προς φωτομέτρηση

3.2 Δείγματα σταφίδας

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή χρησιμοποιήθηκαν 2 είδη βιολογικής σταφίδας Βοστίτσας:

- α) Μη επεξεργασμένη σταφίδα (πρώτη ύλη)
- β) Επεξεργασμένη σταφίδα (τελικό προϊόν)

3.3 Θερμική επεξεργασία σταφίδας

Λήφθηκαν 7 δείγματα από κάθε είδος σταφίδας (επεξεργασμένης και μη) περίπου 15 g έκαστο, ζυγισμένα με ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων. Τοποθετήθηκαν σε περιέκτες κατασκευασμένους από αλουμινόχαρτο και εν συνεχεία σε προθερμασμένο φούρνο, θερμαινόμενο με ρεύμα αέρα (θερμοκρασία 100 °C). Ο χρόνος παραμονής κάθε δείγματος ήταν: 0 min, 10 min, 15 min, 20 min, 30 min, 40 min, 50 min αντίστοιχα. Κατά την διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας η θερμοκρασία του φούρνου κυμάνθηκε από 98 °C μέχρι 103 °C. Μετά την θερμική επεξεργασία τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε ξηραντήρα μέχρι να φθάσουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

3.4 Εκχύλιση ανθοκυανινών από τα δείγματα σταφίδας

Για την εκχύλιση των ανθοκυανινών από τα δείγματα σταφίδας ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία:

- α) ζυγίζεται από κάθε δείγμα θερμικά επεξεργασμένης σταφίδας ποσότητα 2 g με ακρίβεια τριών δεκαδικών ψηφίων και τοποθετείται σε δοκιμαστικό σωλήνα με βιδωτό πώμα.
- β) Στο δείγμα προστίθενται 8 ml διαλύματος μεθανόλης/υδροχλωρικού οξέος 0,1%.
- γ) Ακολουθεί ισχυρή ανάδευση του δείγματος σε συσκευή Vortex για 1 min.
- δ) Το δείγμα τοποθετείται σε λουτρό υπερήχων, όπου και παραμένει για 10 min.
- ε) Ακολουθεί φυγοκέντρωση στις 3000 στροφές για 3 min.
- στ) Το υπερκείμενο υγρό παραλαμβάνεται με πιπέτα Pasteur και μεταφέρεται σε όμοιο δοκιμαστικό σωλήνα με βιδωτό πώμα.
- ζ) Το υπερκείμενο υγρό συμπυκνώνεται υπό ρεύμα αερίου N₂, μέχρι όγκου 2 ml.

Στο δείγμα σταφίδας που απέμεινε προστίθενται, εκ νέου, 5 ml διαλύματος μεθανόλης/υδροχλωρικού οξέος 0,1% και επαναλαμβάνονται τα βήματα γ-ζ.

Όλη η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιείται κατά τον ίδιο ακριβώς τρόπο, που περιγράφηκε παραπάνω, και σε δείγματα σταφίδας που επεξεργάστηκαν θερμικά και εν συνεχεία πολτοποιήθηκαν σε ιγδίο.

3.5 Προετοιμασία δειγμάτων για την φωτομέτρηση

Για την πραγματοποίηση των φωτομετρικών προσδιορισμών ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία:

- α) Σε δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετούνται 0,5 ml συμπυκνωμένου εκχυλίσματος.
- β) Εν συνεχεία, προστίθεται 1 ml ρυθμιστικού διαλύματος CH₃COONa/CH₃COOH με pH=4,5.
- γ) Ακολουθεί ανάδευση σε Vortex για 1 min.
- δ) Επειδή τα δείγματα δεν είναι διαυγή, διηθούνται με ηθμούς (φιλτράκια-δίσκοι) 0,45 μm.
- ε) Τα δείγματα τοποθετούνται σε πλαστικές κυψελίδες και ακολουθεί φωτομέτρηση στα 520 nm και στα 700nm.

Ακολουθώντας την ίδια διαδικασία πραγματοποιείται, εκ νέου, φωτομέτρηση των εκχυλισμάτων με την διαφορά ότι χρησιμοποιείται ως ρυθμιστικό διάλυμα, διάλυμα H_3PO_4/Na_2HPO_4 με $pH=1,5$.

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των ανθοκυανινών χρησιμοποιήθηκε η παρακάτω εξίσωση: $C=A/28000*529$,

Όπου $A = (Abs \text{ στα } 520 \text{ nm} - Abs \text{ στα } 700 \text{ nm με ρυθμιστικό διάλυμα pH } 1,5) - (Abs \text{ στα } 520 \text{ nm} - Abs \text{ στα } 700 \text{ nm με ρυθμιστικό διάλυμα pH } 4,5)$

Να σημειώσουμε ότι για την δημιουργία των τυφλών προστίθενται σε δοκιμαστικό σωλήνα 1 ml του αντίστοιχου ρυθμιστικού διαλύματος και 0,5 ml μεθανόλης.

3.6 Ανάλυση των εκχυλισμάτων σταφίδας με HPLC χρωματογραφία

Στα εκχυλίσματα της σταφίδας πραγματοποιήθηκε ανάλυση με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC).

Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε όπως περιγράφηκε στην παράγραφο 3.4. Από το εκχύλισμα ελήφθησαν 500 μl και τοποθετήθηκαν σε vials. Έγινε έγχυση 50 μl εκχυλίσματος και ακολούθησε η ανάλυση με την μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης.

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης με βαθμιδωτή έκλουση. Η ανίχνευση των ανθοκυανινών πραγματοποιήθηκε με ανιχνευτή σειράς φωτοδιοδίων (DAD $\lambda 360 \text{ nm}$, 520 nm , 280 nm) σε μήκος κύματος 520 nm .

Η στήλη ήταν τύπου: C18 Kromazil ($4,6 \times 125 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$)

Ως διαλύτες χρησιμοποιήθηκαν $HCOOH$ 10% (A) και μεθανόλη (B), με ροή διαλυτών 1 ml/min .

Πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης

Χρόνος (min)	A%	B%
0	90	10
1	90	10
26	50	50
29	5	95
32	5	95
35	0	100
40	0	100
43	90	10

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Φωτομετρική μέθοδος

Η μέθοδος της φωτομέτρησης περιγράφηκε αναλυτικά στην παράγραφο 3.5. Σκοπός της μεθόδου ήταν ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας της σταφίδας σε ανθοκυανίνες. Τα αποτελέσματα σε ότι αφορά την περιεκτικότητα της σταφίδας σε ανθοκυανίνες καταγράφονται στους παρακάτω πίνακες.

Δείγμα: Ακατέργαστη σταφίδα (α' εκχύλιση)

Χρόνος ψησίματος (min)	μg ανθοκυανινών (στο εκχύλισμα)	μg ανθοκυανινών/g σταφίδας	mg ανθοκυανινών/100 g σταφίδας
0*	20,24	10,02	1,002
10*	13,46	6,49	0,649
15*	26,13	12,54	1,254
20*	21,09	10,51	1,051
30	5,81	2,86	0,286
40	5,89	2,92	0,292
50	17,76	8,58	0,858

Δείγμα: Επεξεργασμένη σταφίδα (α' εκχύλιση)

Χρόνος ψησίματος (min)	μg ανθοκυανινών (στο εκχύλισμα)	μg ανθοκυανινών/g σταφίδας	mg ανθοκυανινών/100 g σταφίδας
0	-	-	-
10	2,46	1,19	0,119
15	-	-	-
20	11,39	5,60	0,560
30	5,79	2,86	0,286

40	4,82	2,32	0,232
50	0,53	0,26	0,026

Δείγμα: Ακατέργαστη σταφίδα (β' εκχύλιση)

Χρόνος ψησίματος (min)	μg ανθοκυανινών (στο εκχύλισμα)	μg ανθοκυανινών/g σταφίδας	mg ανθοκυανινών/100 g σταφίδας
0	0,76	0,37	0,037
10	0,03	0,02	0,002
15	2,42	1,16	0,116
20	5,70	2,84	0,284
30	4,50	2,22	0,222
40	4,39	2,18	0,218
50	5,70	2,75	0,275

Δείγμα: Επεξεργασμένη σταφίδα (β' εκχύλιση)

Χρόνος ψησίματος (min)	μg ανθοκυανινών (στο εκχύλισμα)	μg ανθοκυανινών/g σταφίδας	mg ανθοκυανινών/100 g σταφίδας
0	4,18	2,03	0,203
10	3,04	1,47	0,147
15	1,93	0,94	0,094
20	3,81	1,87	0,187
30	1,33	0,66	0,066
40	-	-	-
50	--	-	-

Δείγμα: Ακατέργαστη πολτοποιημένη σταφίδα

Χρόνος ψησίματος (min)	μg ανθοκυανινών (στο εκχύλισμα)	μg ανθοκυανινών/g σταφίδας	mg ανθοκυανινών/100 g σταφίδας
0	1,20	0,59	0,059
10	0,93	0,44	0,044

15	1,31	0,64	0,064
20	2,56	1,29	0,129
30	1,94	0,94	0,094
40	2,05	1,00	0,1
50	2,44	1,21	0,121

Δείγμα: Επεξεργασμένη πολτοποιημένη σταφίδα

Χρόνος ψησίματος (min)	μg ανθοκυανινών (στο εκχύλισμα)	μg ανθοκυανινών/g σταφίδας	mg ανθοκυανινών/100 g σταφίδας
0	-	-	-
10	0,81	0,39	0,039
15	0,88	0,41	0,041
20	0,30	0,14	0,014
30	-	-	-
40	0,56	0,27	0,027
50	0,42	0,21	0,021

Να σημειωθεί ότι όπου υπάρχει αστερίσκος απορρίπτονται οι περιεκτικότητες . Τούτο παρατηρήθηκε στα δείγματα ακατέργαστης βιολογικής σταφίδας για χρόνους ψησίματος 0-20 min. Αυτό συμβαίνει διότι η απορρόφηση των παραπάνω δειγμάτων στα 520 nm (με ρυθμιστικό διάλυμα pH=1,5) ήταν μεγαλύτερη του 1.

Άθροισμα περιεκτικοτήτων ακατέργαστης σταφίδας (α' + β' εκχύλιση)

Χρόνος ψησίματος (min)	μg ανθοκυανινών (στο εκχύλισμα)	μg ανθοκυανινών/g σταφίδας	mg ανθοκυανινών/100 g σταφίδας
0**	0,76	0,37	0,037
10**	0,03	0,02	0,002
15**	2,42	1,16	0,116
20**	5,70	2,84	0,284
30	10,31	5,08	0,508
40	10,28	5,1	0,51

50	23,46	11,33	1,133
----	-------	-------	-------

Άθροισμα περιεκτικότητας επεξεργασμένης σταφίδας (α' + β' εκχύλιση)

Χρόνος ψησίματος (min)	μg ανθοκυανινών (στο εκχύλισμα)	μg ανθοκυανινών/g σταφίδας	mg ανθοκυανινών/100 g σταφίδας
0	4,18	2,03	0,203
10	5,5	2,66	0,266
15	1,93	0,94	0,094
20	15,2	7,47	0,747
30	7,12	3,52	0,352
40	4,82	2,32	0,232
50	0,53	0,26	0,026

Να σημειωθεί ότι όπου υπάρχει διπλός αστερίσκος, το άθροισμα της περιεκτικότητας από τις 2 εκχυλίσσεις προκύπτει μόνο από τις τιμές της δεύτερης εκχύλισης. Οι περιεκτικότητες που προέκυψαν μετά την πρώτη εκχύλιση δεν ήταν αποδεκτές (όπως εξηγήθηκε παραπάνω)

4.2 Μέθοδος υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC)

Η μέθοδος της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης πραγματοποιήθηκε για τον διαχωρισμό και την ανίχνευση των συγκεκριμένων ανθοκυανινών που, πιθανόν, απαντώνται στην κορινθιακή σταφίδα. Τα αποτελέσματα καταγράφονται στους παρακάτω πίνακες:

Ακατέργαστη σταφίδα (α' εκχύλιση)

Χρόνος ψησίματος (min)	Κυανιδίνη	Πεονιδίνη	Μαλβιδίνη
0	0	165	140
10	0	66	27
15	71	323	88
20	84	769	128

30	55	213	0
40	0	62	0
50	85	413	321

Επεξεργασμένη σταφίδα (α' εκχύλιση)

Χρόνος ψησίματος (min)	Κυανιδίνη	Πεονιδίνη	Μαλβιδίνη
0	166	162	0
10	79	53	0
15	25	74	38
20	54	108	41
30	118	89	30
40	0	14	0
50	0	29	0

Ακατέργαστη σταφίδα (β' εκχύλιση)

Χρόνος ψησίματος (min)	Κυανιδίνη	Πεονιδίνη	Μαλβιδίνη
0	43	99	58
10	0	78	22
15	54	123	51
20	50	263	89
30	30	141	18
40	0	55	0
50	0	89	55

Επεξεργασμένη σταφίδα (β' εκχύλιση)

Χρόνος ψησίματος (min)	Κυανιδίνη	Πεονιδίνη	Μαλβιδίνη
0	118	121	0
10	154	71	0
15	0	19	0
20	49	94	0

30	69	55	0
40	0	41	0
50	0	20	0

Ακατέργαστη πολτοποιημένη σταφίδα

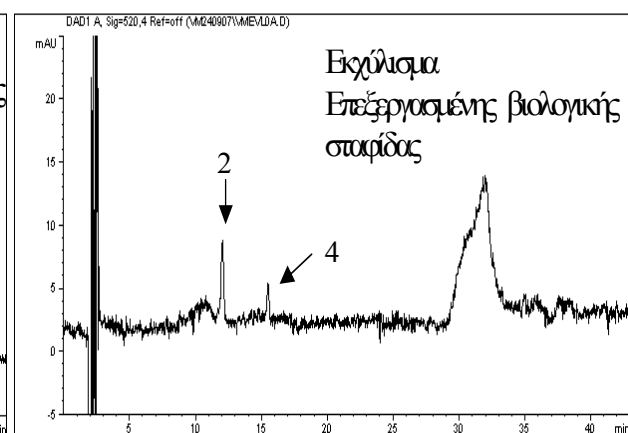
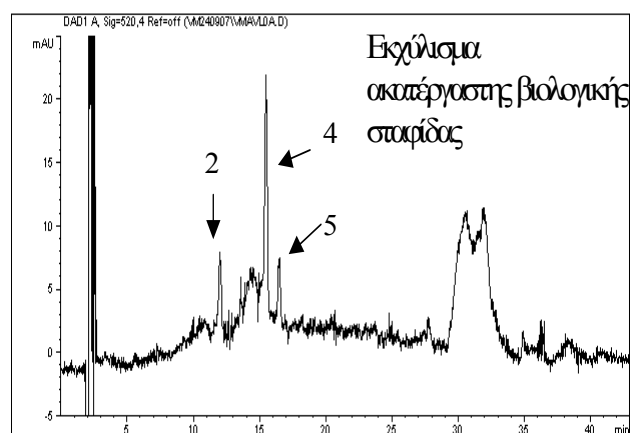
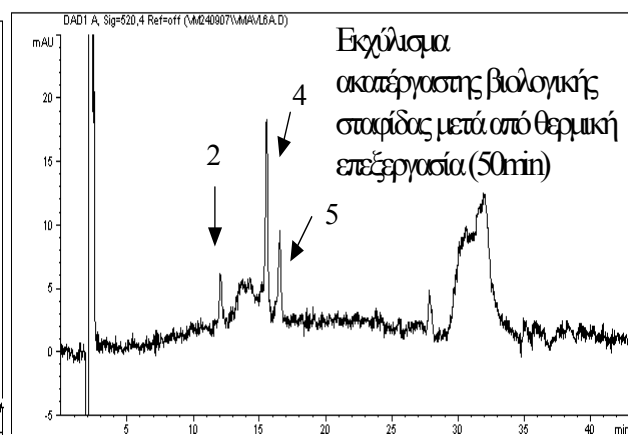
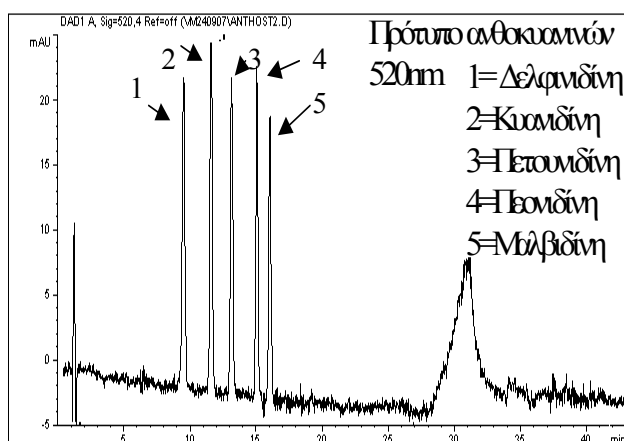
Χρόνος ψησίματος (min)	Κυανιδίνη	Πεονιδίνη	Μαλβιδίνη
0	108	273	113
10	73	140	72
15	147	358	65
20	79	182	79
30	201	462	165
40	76	194	44
50	34	182	86

Επεξεργασμένη πολτοποιημένη σταφίδα

Χρόνος ψησίματος (min)	Κυανιδίνη	Πεονιδίνη	Μαλβιδίνη
0	119	45	0
10	84	135	0
15	68	110	0
20	52	95	0
30	69	121	0
40	0	54	0
50	26	52	0

Επομένως στα δείγματα σταφίδας ανιχνεύτηκαν 3 διαφορετικές ανθοκυανίνες. Συγκεκριμένα πρόκειται για την κυανιδίνη, την πεονιδίνη και την μαλβιδίνη. Οι χρόνοι κατακράτησης (Retention Time) για κάθε μία ήταν: 11,8 min, 15,2 min, 16,3 min αντίστοιχα. Οι τιμές που αναγράφονται στους πίνακες αναφέρονται στο υποκείμενο εμβαδό κάθε κορυφής στο χρωματογράφημα. Οι αναφερόμενες κορυφές αντιστοιχούν στις προς ανίχνευση ανθοκυανίνες.

Ακολουθούν παρακάτω ενδεικτικά, κάποια από τα χρωματογραφήματα:



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής ήταν ο προσδιορισμός ανθοκυανινών σε κορινθιακή σταφίδα. Η παραγωγή της σταφίδας είναι καίριας σημασίας για την χώρα μας, αν αναλογιστούμε ότι η εγχώρια παραγωγή καλύπτει περίπου το 80% της παγκόσμιας. Επιπρόσθετα η σταφίδα είναι συστατικό της Μεσογειακής διατροφής, δηλαδή ενός διατροφικού μοντέλου που, τεκμηριωμένα, επάγει την υγεία του ανθρώπου και προστατεύει από χρόνιες νόσους όπως τα καρδιαγγειακά νοσήματα και ο καρκίνος. Συγκεκριμένα 18 g σταφίδας αντιστοιχούν σε μια μικρομερίδα φρούτων.

Πράγματι η μέθοδος της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης που χρησιμοποιήθηκε, αποκάλυψε την ύπαρξη ανθοκυανινών στην κορινθιακή σταφίδα για πρώτη φορά. Συγκεκριμένα, ανιχνεύτηκαν 3 ενώσεις που ανήκουν στην κατηγορία των ανθοκυανινών: η κυανιδίνη, η πεονιδίνη και η μαλβιδίνη. Από τις ενώσεις αυτές η πεονιδίνη εμφανίζει την σταθερότερη παρουσία σε όλα τα δείγματα που αναλύθηκαν, καθώς, και σε όλους τους χρόνους θερμικής επεξεργασίας. Σε αντιδιαστολή η μαλβιδίνη απουσίαζε τελείως από τα δείγματα της επεξεργασμένης πολτοποιημένης σταφίδας και από τα δείγματα της β' εκχύλισης επεξεργασμένης σταφίδας. Επιπλέον τόσο η κυανιδίνη, όσο και η μαλβιδίνη δεν ανιχνεύτηκαν σε πολλά από τα δείγματα τα οποία υπέστησαν θερμική επεξεργασία για 40 και 50 min, όπως φαίνεται και στο κεφάλαιο των αποτελεσμάτων. Η σταθερότατη παρουσία της πεονιδίνης, σε όλες τις συνθήκες, πιθανώς σχετίζεται με την χημική δομή της.

Σε ότι αφορά την διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας, αυτή δεν φαίνεται να επηρεάζει τις ανιχνευόμενες ανθοκυανίνες, με συγκεκριμένο τρόπο. Δηλαδή από τα αποτελέσματα δεν φαίνεται να υπάρχει κάποιου είδους μαθηματική συσχέτιση. Αυτό που πρέπει να σημειωθεί είναι ότι σε χρόνους ψήσιματος 40 και 50 min εξαφανίζονται η κυανιδίνη και η μαλβιδίνη, παρά το γεγονός ότι ανιχνεύονταν στους χρόνους μικρότερης διάρκειας ψήσιματος.

Σημαντικό είναι το γεγονός ότι σε προγενέστερες μελέτες, στις οποίες προσδιορίζονταν ανθοκυανίνες σε σταφίδα τύπου σουλτανίνας, δεν ανιχνεύονταν οι ίδιες ανθοκυανίνες. Πιο συγκεκριμένα από τον FDA ανιχνεύτηκαν κυανιδίνη,

δελφινιδίνη και πελαργονιδίνη **(5)**. Φαίνεται λοιπόν, ότι η σύνθεση των ανθοκυανινών στην κορινθιακή σταφίδα διαφέρει από αυτή της σουλτανίνας.

Με την μέθοδο της φωτομέτρησης έγινε απόπειρα ποσοτικού προσδιορισμού του ολικού ανθοκυανινικού περιεχομένου της κορινθιακής σταφίδας. Και σε αυτή την περίπτωση δεν βγαίνει σαφές συμπέρασμα για την ύπαρξη συγκεκριμένης σχέσης μεταξύ του χρόνου θερμικής επεξεργασίας και της περιεκτικότητας της σταφίδας σε ανθοκυανίνες. Αυτό συμπίπτει και με τα αποτελέσματα της ανάλυσης με HPLC. Πάντως φαίνεται ότι ακόμα και θερμική επεξεργασία διάρκειας 40 και 50 min δεν εξαφανίζει τις ανθοκυανίνες.

Ψημένη σταφίδα περιέχεται σε πολλά τρόφιμα, όπως μπισκότα και σταφιδόψωμο. Με βάση τα στοιχεία της πραγματοποιηθείσας μελέτης, φαίνεται, ότι η θερμικά επεξεργασμένη σταφίδα δεν αλλοιώνεται ως προς το περιεχόμενό της σε ανθοκυανίνες. Επομένως είναι πολύ πιθανό, τα τρόφιμα που περιέχουν ψημένη σταφίδα, να διατηρούν την περιεκτικότητά τους σε ανθοκυανίνες (τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά).

Σημαντικό είναι το γεγονός ότι τα εκχυλίσματα της β' εκχύλισης δεν είχαν διόλου ευκαταφρόνητη περιεκτικότητα σε ανθοκυανίνες. Επομένως για την παραλαβή του ολικού περιεχομένου ανθοκυανινών πρέπει οπωσδήποτε να πραγματοποιείται και δεύτερη εκχύλιση. Φυσικά από τα αποτελέσματα των φωτομετρικών προσδιορισμών φαίνεται ότι η περιεκτικότητα των εκχυλισμάτων της β' εκχύλισης είναι μικρότερη αυτής των δειγμάτων της α' εκχύλισης.

Από την παραπάνω παρατήρηση συνάγεται το συμπέρασμα ότι για να προσδιοριστεί το συνολικό περιεχόμενο των ανθοκυανινών σε σταφίδα θα ήταν καλό να προστεθεί η περιεκτικότητα των δειγμάτων α' και β' εκχύλισης. Η μέση τιμή του αθροίσματος της περιεκτικότητας των δειγμάτων α' και β' εκχύλισης ακατέργαστης σταφίδας είναι 0,297 mg/100 g σταφίδας. Αντίστοιχα η μέση τιμή για τα δείγματα επεξεργασμένης σταφίδας είναι 0,274 mg/100g σταφίδας. Η περιεκτικότητα ανθοκυανινών σε σταφίδα τύπου σουλτανίνας, σύμφωνα με τον FDA, είναι 0,05 mg/100 g σταφίδας **(5)**. Τα παραπάνω αποτελούν ισχυρή ένδειξη ότι η κορινθιακή σταφίδα τύπου Βοστίτσα έχει πολλαπλάσια περιεκτικότητα ανθοκυανινών σε σχέση με την σταφίδα τύπου σουλτανίνας.

Το ερώτημα της βιολογικής δραστηρότητας των ανθοκυανινών παραμένει. Αυτό οφείλεται στο γεγονός, ότι λίγες μελέτες in vivo έχουν πραγματοποιηθεί. Φυσικά τα δεδομένα που προέρχονται από τις πολυάριθμες in vitro μελέτες είναι

ελπιδοφόρα. Οι *in vitro* μελέτες καταδεικνύουν πλήθος μηχανισμών δράσεων. Οι κυριότερες είναι η αντιοξειδωτική δράση, η αντιφλεγμονώδης δράση, η υπογλυκαιμική δράση, η αγγειοπροστατευτική δράση και η αντικαρκινική δράση. Μέσω των παραπάνω μηχανισμών οι ανθοκυανίνες αποτελούν, εν δυνάμει, ουσίες που προστατεύουν από χρόνιες νόσους όπως τα καρδιαγγειακά νοσήματα, ο διαβήτης και ο καρκίνος.

Όμως τα θετικά συμπεράσματα από τις *in vitro* μελέτες δεν μπορούν να μεταφραστούν εκ των προτέρων σε, πιθανές ευεργετικές φυσιολογικές δράσεις. Υπάρχουν 3 κύριοι περιορισμοί. Ο πρώτος περιορισμός είναι ότι, στα φυτά, οι ανθοκυανίνες συνυπάρχουν και αλληλεπιδρούν με πληθώρα φυτοχημικών ενώσεων. Οι αλληλεπιδράσεις των συστατικών μπορούν να είναι είτε θετικές (ενισχυτικές αλληλεπιδράσεις), είτε αρνητικές (κατασταλτικές αλληλεπιδράσεις). Επομένως δεν είναι καθόλου εύκολο να αποδοθεί η, πιθανή, ευεργετική δράση (που παρατηρείται σε υψηλή κατανάλωση ενός τροφίμου) σε κάποιο μεμονωμένο συστατικό.

Κατά δεύτερο, οι ανθοκυανίνες είναι πολύ ευαίσθητες ουσίες. Μπορούν εύκολα να οξειδωθούν ή/και να αποδομηθούν παρουσία έντονου φωτός καθώς και αν παραμείνουν για πολύ ώρα στον ατμοσφαιρικό αέρα. Επομένως η χρήση των αναλυτικών μεθόδων, που χρησιμοποιούνται για την εκχύλισή τους, μπορεί να επηρεάσει την δραστηριότητά τους.

Ο τρίτος περιορισμός σχετίζεται με τον μεταβολισμό και την βιοδιαθεσιμότητα των ανθοκυανινών. Τα παραπάνω ζητήματα παραμένουν ανοιχτά, λόγω της πληθώρας μεταβολικών υποπροϊόντων που παράγονται μετά την πρόσληψη των ανθοκυανινών. Ο μεγάλος αριθμός μεταβολικών υποπροϊόντων καθιστά δύσκολη την απόπειρα μελέτης των ερωτημάτων σχετικά με το κατά πόσο απορροφώνται οι ανθοκυανίνες, με ποια χημική δομή, που συσσωρεύονται και για πόσο χρόνο.

Εν κατακλείδι, με την παρούσα διπλωματική διατριβή απαντάται το ερώτημα της ύπαρξης ή όχι ανθοκυανινών σε κορινθιακή σταφίδα τύπου Βοστίτσα. Το ερώτημα της περιεκτικότητας παραμένει. Ο φωτομετρικός προσδιορισμός που πραγματοποιήθηκε δείχνει ότι η κορινθιακή σταφίδα περιέχει πολλαπλάσιες ποσότητες ανθοκυανινών, συγκριτικά με την σταφίδα τύπου σουλτανίνας. Πάντως ασφαλέστερα και ακριβέστερα συμπεράσματα θα συνάγονταν αν, για την περιεκτικότητα της σταφίδας σε ανθοκυανίνες, πραγματοποιούνταν ποσοτικός προσδιορισμός με HPLC και χρήση κατάλληλων προτύπων.

Αν στα παραπάνω προστεθεί και το γεγονός της διαπιστωμένης ύπαρξης ποικιλίας πολυφαινολικών ενώσεων (βλέπε παράγραφο ‘ανθοκυανίνες στην σταφίδα’), τότε συνάγεται ότι η σταφίδα αποτελεί μια πλούσια πηγή φυτοχημικών ενώσεων, στα πλαίσια πάντα μιας ισορροπημένης διατροφής.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bell DR, Gochenaur K. Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. *Journal of Applied Physiology* 2006; 100: 1164-1170.
2. Bonilla F, Mayen M, Merida J, Medina M. Extraction of phenolic compounds from red grape marc for use as food lipid antioxidants. *Food chemistry* 1999; 66: 209-215.
3. Borbalan AMA, Zorro L, Guillen D, Barroso CG. Study of the polyphenol content of red and white grape varieties by liquid chromatography-mass spectrometry and its relationship to antioxidant power. *Journal of Chromatography A* 2003;1012(1): 31-38.
4. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 1998; 56:317-333
5. Camire M., Dougherty MP: Raisin Dietary Fiber Composition and in Vitro Bile Acid Binding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003,51 (3): 834 –837
6. Cordova A.C., Jackson M., Berke-Schlessel D.W., Sumpio B.E.,: The cardiovascular protective effect of red wine. *Journal of the American College of Surgeons*, 2005, 200(3): 428-438
7. Chiou A, Karagiannis VT, Mylona A, Salta FN, Preventi F, Andrikopoulos NK. Currants (*Vitis vinifera* L.) content of simple phenolics and antioxidant activity. *Food Chemistry* 2006.
8. Falchi M, Bertelli A, Lo Scalzo R, Morassut M, Morelli R, Das S, Cui J, Das DK. Comparison of cardioprotective abilities between the flesh and skin of grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006; 54:6613-6622
9. Guendez R, Kallithraka S, Makris DP, Kefalas P. determination of low molecular weight polyphenolic constituents in grape (*Vitis vinifera* sp) seed extracts: correlation with antiradical activity. *Food Chemistry* 2005; 89:1-9.
10. Harnly JM, Doherty RF, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Bhagwat S, Gebhardt S. Flavonoid content of U.S fruits, vegetables and nuts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006; 54: 9966-9977

11. Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. dietary flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen study. *Lancet* 1993; 342: 1007-1011
12. Hertog MGL, Kromhout D, Aravanis C. flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Archive of International Medicine* 1995; 155: 381-386.
13. Hou DX, Ose T, Lin S. Anthocyanidins induce apoptosis in human promyelocytic leukemia cells: structure-activity relationship and mechanisms involved. *International Journal of Oncology* 2003; 23 (3): 705-712.
14. Hou DX, Fujii M, Terahara N, Yoshimoto M. Molecular mechanisms behind the chemopreventive effects of anthocyanidins. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2004;5: 321-325.
15. Hou DX, Kai K, Li JJ. Anthocyanidins inhibit activator protein 1 activity and cell transformation: structure-activity relationship and molecular mechanisms. *Carcinogenesis* 2004; 25 (1): 29-36.
16. Hou DX, Yanagira T, Uto T, Masuzaki S, Fujii M. Anthocyanidins inhibit cyclooxygenase-2 expression in LPS-evoked macrophages: structure-activity relationship and molecular mechanisms involved. *Biochemistry and Pharmacology* 2005; 70: 417-425
17. Howard A, Chorp M, Thurnham D.I., Strain J.J, Fuhrman B., Aviram M: Red wine consumption and inhibition of LDL oxidation: what are the important components? *Medical Hypothesis* 2002, 59(1):101-104
18. Howell AB. Cranberry proanthocyanidins and the maintenance of urinary tract health. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 2002; 42 (suppl): 273s-278s
19. <http://www.ars.usda.gov/nutrientdata>
20. Jayaprakasam B, Vareed SK, Olson LK, Nair MG. Insulin secretion by bioactive anthocyanidins present in fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005; 53: 28-31
21. Kallithraka S, Mobdaly A, Makris DP, Kefalas P. determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp): association with antiradical activity. *Journal of Food Composition and Analysis* 2005; 18(5): 375-386.

22. Karadeniz F, Durst RW, Wrolstad RE. Polyphenolic composition of raisins. .
Journal of Agricultural and Food Chemistry 2000; 48: 5343-5350.
23. Knekt P, Jarvinen R, Reunanen A, Maatela J. flavonoid intake and coronary
mortality in Finland: a cohort study. BMJ; 312: 478-481.
24. Koide T, Kamei H, Hashimoto Y, Kojima T, Hasegawa M. Antitumor effect
of anthocyanin fractions extracted from red soybeans and red beans in vitro
and in vivo. Cancer Biotherapy and Radiopharmacology 1997; 12 (4): 277-
280.
25. Kong JM, Chia LS, Goh NK, Chia TF, Brouillard R. Analysis and biological
activities of anthocyanins. Phytochemistry 2003; 64: 923-933
26. Kuhnau J. The flavonoids. A class of semi-essential food components: their
role in human nutrition. World Revision of Nutrition and Diet 1976; 24: 117-
191.
27. Lietti A, Studies on Vaccinium myrtillus anthocyanosides, II: aspects of
anthocyanin pharmacokinetics in the rat. Arzneimittelforschung 1976; 26:
829-832
28. Macheix J, Fleuriet A, Billot J. Fruit phenolics. Boca Raton, FL: CRC Press,
1990
29. Matsui T, Ueda T, Oki T, Sugita K, Terahara N, Matsumoto K. α -Glucosidase
inhibitory action of natural acylated anthocyanins 1. survey of natural
pigments with potent inhibitory activity. Journal of Agricultural and Food
Chemistry 2001a; 49 (4): 1948-1951.
30. Matsui T, Ebuchi S, Kobayashi M, Fukui K, Sugita K, Terahara N, Matsumoto
K. Anti-hyperglycemic effect og diacylated anthocyanin derived from
Ipomoea batatas cultivar Ayamurasaki can be achieved through the α -
glucosidase inhibitory effect. Journal of Agricultural and Food Chemistry
2002; 50: 7244-7248.
31. Matsumoto H, Nakamura Y, Taschibanaki S, Kawamura S, Hirayama M.
Stimulatory effect of cyaniding 3-glycosides on the regeneration of rhodopsin.
Journal of Agricultural and Food Chemistry 2003; 51 (12): 3560-3563.
32. Mian E, Curri SB, Lietti A, Bombardelli E. Anthocyanosides and the walls of
the microvessels: further aspects of the mechanism of action of their protective
effect in syndromes due to abnormal capillary fragility. Minerva Medicine
1977; 68: 3565-3581.

33. Muth ER, Layrent J, Jasper P. The effect of bilberry nutritional supplementation on night visual acuity and contrast sensitivity. *Alternative Medicine Review* 2000; 5 (2): 164-173.
34. Nakamura Y, Matsumoto H, Todoki K. Endothelium-dependent vasorelaxation induced by black currant concentrate in rat thoracic aorta. *Japanese Journal of Pharmacology* 2002; 89 (1): 29-35.
35. NHANES. National Health and Nutrition Examination Survey Data; Hyattsville, MD, 2001
36. Noda Y, Kaneyuki T, Igarashi K, Mori A, Packer L. Antioxidant activity of nasunin, an anthocyanin in eggplant. *Research Communication in Molecular Pathology and Pharmacology* 1998; 102 (2): 175-187.
37. Ohgami K, Ilieava I, Shiratori K, Koyama Y, Jin XH, Yoshida K, Kase S, Kitaichi N, Suzuki Y, Tanaka T, Ohno S. Anti-inflammatory effects of Aronia extract on rat endotoxin-induced uveitis. *Investigation on Ophthalmology and Vision Science* 2005; 46: 275-281.
38. Prior RL. Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *American Journal of Clinical Nutrition* 2003; 78 (suppl): 570S-578S.
39. Pilaczynska-Szczesniak L, Skarpanska-Steinborn A, Deskur E, Basta P, Horoszkiewicz-Hassan M. The influence of chokeberry juice supplementation on the reduction of oxidative stress resulting from an incremental rowing ergometer exercise.
40. Ramirez MR, Izquierdo I, do Carmo Bassols RaseiraM, Zuanazzi JA, Barros D, Henriques AAT. Effect of lyophilized vaccinium berries on memory, anxiety and locomotion in adult rats. *Pharmacology Res* 2005; 52: 457-462
41. Ramirez-Tortosa C, Andersen OM, Gardner PT. Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E-depleted rats. *Free radical Biology and Medicine* 2001; 31: 1033-1037.
42. Rimm EB, Katan MB, Ascherio A, Stampfer MJ, Willet WC. relation between intake of flavonoids and risk for coronary heart disease in male health professionals. *Annals of Internal Medicine* 1996; 125: 384-389.
43. Sarma AD, Sreelakshmi Y, Sharma R. Antioxidant ability of anthocyanins against ascorbic oxidation. *Phytochemistry* 1997; 45: 671-674.
44. Sampson L, Rimm E. Flavonol and flavone intake in US Health Professionals. *Journal of the American Dietetic Association* 2002; 102: 1414-1420

45. Tsuda T, Watanabe M, Ohshima K, Norinobu S, Choi SW. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3-O-beta-D-glycoside and cyanidin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1994; 42(11): 2407-2410.
46. Tsuda T, Shiga K, Ohshima K, kawakishi S, Osawa T. Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from *phaseolus vulgaris* L. *Biochemical Pharmacology* 1996; 52 (7): 1033-1039
47. Tsuda T, Horio F, Osawa T. dietary cyaniding 3-O-beta-D-glycoside increases ex vivo oxidation resistance of serum in rats. *Lipids* 1998; 33 (6): 583-588.
48. Vinson JA, Su X, Zubik L, Bose P. phenol antioxidant quality and quantity in foods : fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2001; 49: 5315-5321.
49. Wheeler M.L. : Nutrient database for the 2003 exchange list for meal planning. *Journal of the American Dietetic Association*. 2003, 103 (7): 894-920
50. Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL. Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006; 54: 4069-4075.
51. Yilmaz Y, Toledo RT. Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin and gallic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2004; 52: 255-260.
52. Yochum L, Kushi LH, Meyer K, Folsom AR. Dietary flavonoid intake and risk of cardiovascular disease in postmenopausal women. *American Journal of Epidemiology* 1999; 149: 943-949.
53. Youdim KA, Martin A, Joseph JA. Incorporation of the elderberry anthocyanins by endothelial cells increases protection against oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine* 2000; 29 (1): 51-60.
54. Β.Δ.Κριμπά: Ελληνική Αμπελογραφία, Αθήνα 1943, 1^{ος} τόμος,
55. Χαλουλάκος Τζανέτος-Ιωάννης: Μελέτη μεγεθών και διεργασιών που επηρεάζουν την αποθήκευση και τη διακίνηση της Σουλτανίνας. Πτυχιακή εργασία. *Γεωργικό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Τμήμα Γεωργικών Βιομηχανιών, Εργαστήριο Μηχανικής Τροφίμων*, Αθήνα 1993.

