# ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

***ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ***

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ - ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΕΙΑΣ - ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ


---

# Επίδραση της επεξεργασίας στη διατήρηση των αντιοξειδωτικών λειτουργικών συστατικών της σταφίδας


**Πτυχιακή Μελέτη:**

**Άννα Σάββα**

**Επιβλέπων Καθηγητής:**

Καραθάνος Βάιος, Αναπληρωτής Καθηγητής

**Τριμελής Επιτροπή:**
Ανδρικόπουλος Νικόλαος, Καθηγητής
Καραθάνος Βάιος, Αναπληρωτής Καθηγητής
Χίου Αντωνία, Λέκτορας

# Πρόλογος

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε από τη φοιτήτρια του τμήματος Διαιτολογίας - Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, Σάββα Άννα. Το πειραματικό μέρος της πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας - Φυσικοχημείας - Βιοχημείας Τροφίμων κατά το ακαδημαϊκό έτος 2005 – 2006 και ήταν υπό την επίβλεψη του Κου Καραθάνου Βάιου, Αναπληρωτή καθηγητή του τμήματος.

Ιδιαίτερες ευχαρίστίες οφείλω σ' αυτό το σημείο στον Κο Ν. Ανδρικόπουλο που μου έδωσε τη δυνατότητα να συνεργαστώ με το εργαστήριο Χημείας - Φυσικοχημείας - Βιοχημείας τροφίμων καθώς και για τις καθοδηγητικές του συμβουλές.

Ευχαριστώ, επίσης, τον Κο Καραθάνο που πίστεψε στις ικανότητες μου και μου εμπιστεύτηκε αυτή την πρωτότυπη και ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα εργασία. Τον ευχαριστώ, επίσης, την ηθική και ψυχολογική υποστήριξη χωρίς τα οποία δεν θα ήταν δυνατή η διεκπεραίωση αυτού του πονήματος.

Δε θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω, βέβαια, την Κα Χίου που με στήριξε ηθικά και ψυχολογικά κατά τη διάρκεια όλου αυτού του δύσκολου χρόνου. Χάρη στην καθοδήγησή της εργάστηκα αποτελεσματικά και κατέστη εφικτή η διεκπεραίωση αυτής της μελέτης. Χωρίς την πολύτιμη βοήθειά της και τη συμβολή της ως καθοδηγητής και παιδαγωγός κάτι τέτοιο δε θα ήταν δυνατό.

Επίσης, ευχαριστώ την Κα Σάλτα για την πολύ σημαντική βοήθεια της σε συγκεκριμένα σημεία της πειραματικής διαδικασίας.

Ένα ιδιαίτερο ευχαριστώ στις συναδέλφους που εργαστήκαμε μαζί στο Εργαστήριο Χημείας, Φυσικοχημείας και Βιοχημείας Τροφίμων και μοιραστήκαμε τις ανησυχίες και τις δυσκολίες της διαδικασίας δίνοντας κουράγιο η μία στην άλλη.

Ευχαριστώ, τέλος, το Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο για το επίπεδο των σπουδών που μου προσέφερε, τη διάθεση των ερευνητικών χώρων και την παραχώρηση των οργάνων για την εκτέλεση του πειραματικού μέρους καθώς και όλο του προσωπικού του εργαστηρίου που ήταν πρόθυμο να με βοηθήσει σε όποιο πρόβλημα προέκυπτε.

***Ιούλιος 2006,***

***Άννα Σάββα***

# Περίληψη

Αρκετές έρευνες έχουν ασχοληθεί με τη ευεγερτική επίδραση της κατανάλωσης τροφίμων και ποτών με πλούσιο πολυφαινολικό περιεχόμενο στον ανθρώπινο οργανισμό. Οι ερευνητές έχουν επικεντρωθεί κυρίως στο σταφύλι και το κρασί. Το προϊόν με το οποίο ασχολήθηκε η παρούσα έρευνα, η σταφίδα, έχει μελετηθεί σε μικρή κλίμακα ως προς το αντιοξειδωτικό της περιεχόμενο, ενώ η επίδραση που αυτό υφίσταται μετά από θερμική επεξεργασία δεν έχει μελετηθεί καθόλου. Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν η ταυτοποίηση συγκεκριμένων πολυφαινολών στις σταφίδες καθώς και η διερεύνηση πιθανής επίδρασης της θερμικής επεξεργασίας στις συγκεντρώσεις τους αλλά και στην αντιοξειδωτική δύναμη του προϊόντος.

Χρησιμοποιήθηκαν σταφίδες κορινθιακής ποικιλίας (Βοστίτσα) οι οποίες υπέστησαν θερμική επεξεργασία παρουσία και απουσίας ζύμης αλλά και τη διαδικασία έκπλυσης.

Οι σταφίδες αυτές εκχυλίστηκαν και τα εκχυλίσματά τους αναλύθηκαν ως προς το συνολικό πολυφαινολικό τους περιεχόμενο με τη μέθοδο Folin-Ciocalteau και ως προς το ολικό φλαβανολικό τους περιεχόμενο. Επίσης, έγινε εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1-διφαίνυλο-2-πικρύλοϋδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH*) και προσδιορισμός αναγωγικής δύναμης εκχυλίσματος σταφίδας μέσω αναγωγής $Fe^{+3}$ σε $Fe^{+2.}$ Ακόμη, πραγματοποιήθηκε ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός συγκεκριμένων πολυφαινολών με τις μεθόδους της υγρής και της αέριας χρωματογραφίας – φασματομετρίας μαζών. Προηγήθηκε απομόνωση των πολυφαινολικών συστατικών μέσω εκχύλισης στερεάς φάσης.

Στη μελέτη ανιχνεύτηκαν και προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις 17- 19 πολυφαινολικών συστατικών. Γενικά, η σταφίδα αποτελεί μία ιδιαίτερα πλούσια πηγή αντιοξειδωτικών συστατικών με αξιοσημείωτη αντιοξειδωτική ικανότητα και αναγωγική δύναμη, οι οποίες δεν φαίνεται να μειώνονται από τη θερμική επεξεργασία είτε παρουσία είτε απουσία ζύμης αλλά ούτε από τη διαδικασία έκπλυσης της πρώτης ύλης. Αντιθέτως, σε κάποιες περιπτώσεις αυτές φαίνονται να αυξάνονται, στοιχείο σημαντικό για τη συμβολή της σταφίδας στη Μεσογειακή διατροφή.

# Abstract

Several studies have revealed the beneficial health effect of polyphenol - rich food and beverages consumption in human health. Most of the researchers have focused mainly in grape and wine. The product, which the present study has been occupied with, Greek currant, has been restrictively studied, as far as the total polyphenolic content is content. The effect of the heating process on the total polyphenolic content has not been studied at all.

The objective of this study is the identification of individual polyphenols in currants and the investigation of beneficial effect of heating process at their concentrations as well as at the antioxidant capacity of the product. Currants (Corinthian variety) from Southern Greece called Vostizza were used and were sustained heating process with or without presence of dough. Also, they were sustained washing process.

Samples of currants were extracted and their total phenolic content was determined by Folin – Ciocalteau assay. Their total flavanolic content also determined. Also, their antioxidant activity was estimated by DPPH radical scavenging method and their reducing power was estimated by bringing up $Fe^{+3}$ to $Fe^{+2}$. Moreover, polyphenolic composition of the samples was determined and quantified by GC – MS after having isolated the polyphenolic components by SPE.

At this survey 17 – 19 polyphenolic components were investigated and identified. As a result, currants seem to be a quite good source of polyphenolic compounds with remarkable antioxidant activity and reducing power. Those attributes do not seem to be reduced because of heating process (with or without presence of dough) or washing process. All the above may contribute to the daily dietary intake of antioxidants, especially in Mediterranean diet.

# Περιεχόμενα


**Κεφάλαιο 1ο: Η ΣΤΑΦΙΔΑ** 8

**1.1. Γενικά** 8

**1.2. Κορινθιακή σταφιδάμπελος** 9

**1.3. Διαδικασία ξήρανσης της Κορινθιακής σταφίδας** 11

**1.4. Επεξεργασία της σταφίδας** 11

**1.5. Αποθήκευση της σταφίδας** 13

**1.6. Τα συστατικά της σταφίδας** 14

**1.7. Φυσιολογικές δράσεις της σταφίδας** 16

**1.8. Η θέση της σταφίδας στη Μεσογειακή διατροφή** 16

**Κεφάλαιο 2ο: ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ** 17

**2.1. Γενικά** 17

**2.2. Κατηγορίες και χημικοί τύποι πολυφαινολών** 17

**2.3. Πηγές πολυφαινολών** 18

**2.4. Απορρόφηση και μεταβολισμός πολυφαινολών** 19

**2.5. Βιοδιαθεσιμότητα πολυφαινολών** 20

**2.6. Φυσιολογικές δράσεις των πολυφαινολών** 21

**2.7. Αντιοξειδωτικά στη σταφίδα** 22

**2.8. Αντιοξειδωτικά στα σταφύλια** 23

**2.9. Αντιοξειδωτικά στο κρασί και φυσιολογικές δράσεις αυτών** 26

**Κεφάλαιο 3ο: ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΘΕΡΜΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ** 31

**3.1. Γενικά** 31

**3.2. Σταθερότητα πολυφαινολών κατά τη θερμική επεξεργασία** 31

**Κεφάλαιο 4ο: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ** 35

**4.1. Γενικά** 35

**4.2. Δείγματα σταφίδας** 36

**4.3. Διαδικασία έκπλυσης σταφίδας** 36

**4.4. Θερμική επεξεργασία σταφίδας** 37

4.4.1. Θερμική επεξεργασία σταφίδας απουσία ζύμης 37
4.4.2. Θερμική επεξεργασία σταφίδας μέσα σε ζύμη 37
4.4.3. Παραλαβή σταφίδας από τα δείγματα 37
4.5. Απομάκρυνση υγρασίας (Αφυδάτωση) 38
4.6. Επιλογή της μεθόδου παραλαβής πολυφαινολών από τη σταφίδα 40
4.7. Παραλαβή πολυφαινολικών συστατικών 40
4.8. Διαδικασία παραλαβής πολυφαινολών για την κατασκευή καμπύλης αναφοράς σε υπόστρωμα δείγματος 41
4.9. Εξάτμιση διαλυτών 41
4.10. Καθαρισμός πολυφαινολικών εκχυλισμάτων σταφίδας. 42
Εκχύλιση στερεής φάσης (SPE) 42
4.11. Φωτομετρικοί προσδιορισμοί 43
4.11.1. Προσδιορισμός του συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin-Ciocalteau 43
4.11.2. Προσδιορισμός ολικών φλαβανολών 44
4.11.3. Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1- διφαίνυλο-2-πικρύλοϋδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH*) 45
4.11.4. Προσδιορισμός αναγωγικής δύναμης εκχυλίσματος σταφίδας μέσω αναγωγής $Fe^{+3}$ σε $Fe^{+2}$ 46
4.12. Ανάλυση των εκχυλισμάτων σταφίδας με HPLC χρωματογραφία 47
4.13. Ανίχνευση και ποσοτικός προσδιορισμός ταυτοποιημένων πολυφαινολών με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας (GC-MS) 48
4.14. Καμπύλες αναφοράς για τον ποσοτικό προσδιορισμό πολυφαινολών 50

Κεφάλαιο 5ο: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ 61
5.1. Επεξεργασία - Προετοιμασία των δειγμάτων για ανάλυση 61
5.2. Επιλογή διαλύτη εκχύλισης 61
5.3. Προσδιορισμός ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου 62
5.4. Προσδιορισμός ολικών φλαβανολών 66
5.5. Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1 – διφαινυλο-2-πικρύλοϋδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH) 70
5.6. Προσδιορισμός αναγωγικής δύναμης εκχυλίσματος σταφίδας 74

**μέσω αναγωγής $Fe^{+3}$ σε $Fe^{+2}$**

**5.7. Ανάλυση των εκχυλισμάτων σταφίδας με GC-MS και HPLC χρωματογραφία** **78**

**Κεφάλαιο 6ο: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ** **96**

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ** **99**

# Κεφάλαιο 1ο

# 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 ιδιαίτερα σημαντικό την άμπελο την οινοφόρο ή Vitis Vinifera var. apyrena, γνωστής και ως σταφιδαμπέλου, καθώς και του καρπού της που είναι η κοινή ή μαύρη ή κορινθιακή σταφίδα, η οποία ευδοκιμεί κατά κύριο λόγο στην Ελλάδα. Κατ' επέκταση, ο όρος σταφίδα αναφέρεται και στον καρπό κάθε ποικιλίας αμπελιού, ο οποίος μπορεί να καταναλωθεί σε αποξηραμένη μορφή (59).

Κύριες σταφιδοπαραγωγικές χώρες έως τις αρχές του 20ού αιώνα ήταν η Τουρκία και η Ελλάδα. Στα μέσα του 20ού αιώνα, ωστόσο, οι ΗΠΑ έγιναν η πρώτη παραγωγός χώρα με δεύτερες την Αυστραλία και την Τουρκία και Τρίτη την Ελλάδα.

Οι αρχαίοι Έλληνες αναφέρονταν στις σταφίδες ως ασταφίδες, σταφυλίδες και οσταφίδες (Διοσκορίδης Ε, 4). Απ' αυτή την τελευταία προήλθε η σύγχρονη λέξη. Η ρίζα είναι "οστέινη" με την έννοια του σκληρού, του ξηρού: οστούν, οστακός, αστακός. Πιθανολογείται, λοιπόν, ότι η σταφίδα έλαβε το όνομά της απ' αυτή την ιδιότητά της ως ξηρή (58).

Οι σημαντικότερες ποικιλίες σταφιδάμπελων είναι: η Σουλτανίνα, γνωστή και ως Thompson Seedless (Καλιφόρνια), με ρόγα άσπερμη, ωχροκίτρινη· το Μοσχάτο της Αλεξάνδρειας, γνωστό επίσης ως Gordo Blanco (Αυστραλία) ή White Hanepoot (Νότια Αφρική), με ρόγα που περιέχει μεγάλα σπέρματα και η Κορινθιακή με μικρή, μαύρη, άσπερμη ρόγα. Στην Ελλάδα σταφιδάμπελα για παραγωγή Κορινθιακής σταφίδας καλλιεργούνται στη βόρεια και δυτική Πελοπόννησο και σε νησιά του Ιονίου (Κεφαλονιά, Ζάκυνθος)

## 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". Υπάρχουν τρεις υποποικιλίες: η μαύρη, η λευκή, και η ερυθρά, σε μεγαλύτερη, όμως, έκταση καλλιεργείται η μαύρη Κορινθιακή, η οποία είναι η πιο παραγωγική. Η λευκή απαντάται διάσπαρτα κατά κύριο λόγο στους αμπελώνες της Ζακύνθου. Η κόκκινη, που είναι μικρότερης παραγωγικότητας, σπανίζει αλλά απαντάται στη Κεφαλονιά (58).

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. Πάντως, οι πρώτες γραπτές μαρτυρίες που κάνουν λόγο για την ύπαρξη της Κορινθιακής σταφιδαμπέλου χρονολογούνται από τις αρχές του 14ού αιώνα, οπότε και 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 (58).

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 (58).

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 κυρίως στην Μικρά Ασία και το Ιράν, ενώ μικρές ποσότητες παράγονται και στην

Ελλάδα (Πελοπόννησος, Κρήτη). Η κορινθιακή σταφίδα καλλιεργείται σχεδόν αποκλειστικά στην Ελλάδα από την αρχαία εποχή (ακόμη και σήμερα σε ποσοστό πάνω από 90% της παγκόσμιας παραγωγής). Σήμερα, η Κορινθιακή σταφίδα 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 (58). Δυστυχώς, το προϊόν αυτό δεν έτυχε του ενδιαφέροντος πολλών επιστημόνων λόγω του περιορισμένου γεωγραφικού ενδιαφέροντός της παραγωγής του (60).

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.

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 μέτριου 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.

Η κατάσταση που επικρατεί από τις αρχές της δεκαετίας του 1990 στην παραγωγή και εμπορία της Κορινθιακής σταφίδας δεν παρουσιάζει σοβαρά προβλήματα εξαιτίας της έλλειψης ισχυρού ανταγωνισμού. Η μέση ετήσια παραγωγή μαύρης σταφίδας φτάνει τα τελευταία χρόνια τους 40.000 τόνους από τους οποίους οι 25.000 εξάγονται στην Αγγλία. 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), PROVINCIAL (επαρχιακή ή λοιπή Πελοπόννησος: Πάτρα, Ηλεία, Μεσσηνία) κ.α. Το προϊόν χρησιμοποιείται: 1) στην αρτοποιία και τη ζαχαροπλαστική, που είναι και η βασική χρήση του (ποσοστό άνω του 80% της

ποσότητας), 2) στην παρασκευή κρασιού που είναι γνωστό ως σταφιδίτης, 3) στην παρασκευή συμπυκνωμένου γλεύκους που χρησιμοποιείται στη ζαχαροπλαστική και στη βιομηχανία, 4) στην παραγωγή σταφιδοσάκχαρου που χρησιμοποιείται ως υποκατάστατο της ζάχαρης, 5) στην παρασκευή οινοπνεύματος, 6) στην παρασκευή ξυδιού.

## 1.3. Διαδικασία ξήρανσης της Κορινθιακής σταφίδας

*Η ξήρανση γίνεται 1) στον ήλιο με διάφορες μεθόδους ή 2) στη σκιά:*

1) 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.

2) 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», 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 το οποίο έχει χρώμα καστανωπό έως σκούρο καστανό, είναι μαλακό και ήπιας γεύσης. Ακολουθεί ενσάκωση των σταφίδων σε σάκους από λινάτσα χωρητικότητας περίπου 80 Kg. Σήμερα η σταφίδα μεταφέρεται σε μεγάλα πλαστικά κιβώτια.

## 1.4 Επεξεργασία της σταφίδας

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

*1) Πρόπλυση –Στράγγισμα*

Αποσκοπεί στην απαλλαγή της σταφίδας από ξένες ύλες, την απομάκρυνση κούφιων ραγών, τη διάσπαση των σβόλων σταφίδας και τον καθαρισμό της επιφάνειας από τα σάκχαρα, που προέρχονται από τους τραυματισμούς των ραγών. 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.

2) *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 των αποθηκών. 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 $^{o}$C στους 60 $^{o}$C κατά τη διάρκεια της ξήρανσης που ποικίλει μέχρι η τελική υγρασία του προϊόντος να ρυθμιστεί στο 15%. Στο τέλος της ρύθμισης, η σταφίδα δέχεται την επίδραση ψυχρού ρεύματος αέρα, για τη μείωση της θερμοκρασίας της.

3) *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.

4) *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 Νο 00, 0, 1, 2, 3, 4, 5
- Σταφίδες ψιλές Νο 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. 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 η προσβολή από έντομα και μύκητες. Σημαντικό ρόλο στη διατήρηση 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 (33) | | |
|---|---|---|
| | Σύσταση ανά 100 g | Σύσταση ανά μικρομερίδα (18 g) |
| Ενέργεια (Kcal) | 320 | 57,6 |

| | | |
|---|---|---|
| Υδατάνθρακες (g) | 75 | 13,5 |
| Απλά σάκχαρα (g) | 68 | 12,2 |
| Πρωτεΐνες (g) | 2,5 | 0,45 |
| Λιπαρά (g) | 0,4 | 0,07 |
| Φυτικές ίνες (g) | 6,7 | 1,2 |
| 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 (34) | | |
|---|---|---|
| | Σύσταση ανά 100 g | Σύσταση ανά μικρομερίδα (18 g) |
| Ενέργεια (Kcal) | 330 | 54 |
| Υδατάνθρακες (g) | 78 | 14,2 |
| Απλά σάκχαρα (g) | 65 | 11,7 |
| Πρωτεΐνες (g) | 3,3 | 0,6 |

| | | |
|---|---|---|
| Λιπαρά (g) | 0,6 | 0,1 |
| Φυτικές ίνες (g) | 3,9 | 0,7 |

## 1.7. Φυσιολογικές δράσεις της σταφίδας

Για τα άλλα προϊόντα αμπέλου (raisins, Sultanas) υπάρχουν συγκριτικά πολύ περισσότερες ερευνητικές εργασίες από εκείνες που ασχολούνται με την Κορινθιακή σταφίδα. Σύμφωνα με διάφορες έρευνες, πάντως, μικροσυστατικά του σταφυλιού, όπως η ρεσβερατρόλη, τα φλαβονοειδή και οι ανθοκυανίνες συμβάλλουν σημαντικά στη διατροφή του ανθρώπου και στην πρόληψη υγείας (θετική επίδραση στο καρδιαγγειακό σύστημα, βελτίωση ενδοθηλιακής λειτουργίας, θετική επίδραση σε καρκινικές καταστάσεις, παρεμπόδιση της οξείδωσης LDL χοληστερόλης) (60).

Επίσης, η σταφίδα φαίνεται να έχει αντιοξειδωτικές δράσεις οι οποίες οφείλονται στο πολυφαινολικό της περιεχόμενο. Περισσότερες λεπτομέρειες θα παρατεθούν στο 2$^{ο}$ και 3$^{ο}$ Κεφάλαιο.

## 1.8. 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 και μάλιστα αποτελεί καρπό υψηλής βιολογικής αξίας καθώς εμπεριέχει στοιχεία όπως οι δομικοί πολυσακχαρίτες και τα φυσικά αντιοξειδωτικά. Αυτά τα στοιχεία αποτελούν βασικά χαρακτηριστικά της Μεσογειακής διατροφής. Τα πρότυπα της Μεσογειακής διατροφής προτείνουν κατανάλωση 3 μικρομερίδων φρούτων την ημέρα (61). Μία μικρομερίδα σταφίδας ισοδυναμεί με ποσότητα ίση με 2 κουταλιές της σούπας του συγκεκριμένου προϊόντος (~30 g). Συνεπώς στην περίπτωση που όλες τις προτεινόμενες μικρομερίδες φρούτων καλυφθούν από την κατανάλωση σταφίδας, ο καταναλωτής θα χρειαστεί καταναλώσει περίπου 90 g σταφίδας ημερησίως.

# Κεφάλαιο 2ο

# ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ

## 2.1. Γενικά

Με τον όρο πολυφαινόλες χαρακτηρίζεται μια μεγάλη ετερογενής ομάδα ενώσεων με ένα ή περισσότερα υδροξύλια συνδεδεμένα απ' ευθείας σε ένα ή περισσότερους αρωματικούς ή και ετεροκυκλικούς δακτυλίους. Σήμερα είναι γνωστές περισσότερες από 8000 πολυφαινόλες, οι οποίες αποτελούν προϊόντα δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών. Η δομή των πολυφαινολών ποικίλει. Μπορεί να είναι από εξαιρετικά απλή (π.χ. δομή φαινολικών οξέων) έως ιδιαίτερα πολύπλοκη και πολυμερής (π.χ. δομή ταννινών).

Οι πολυφαινόλες 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 συνδεδεμένο με πολυφαινόλες είναι η γλυκόζη. Άλλα σάκχαρα είναι: γαλακτόζη, ξυλόζη, ραμνόζη, αραβινόζη, γλυκουρονικά, γαλακτορουνικά οξέα κλπ.

## 2.2 Κατηγορίες και χημικοί τύποι πολυφαινολών

Με βάση τη χημική δομή τους οι πολυφαινόλες κατατάσσονται σε 10 κατηγορίες: απλές φαινόλες, βενζοκινόνες, φαινολικά οξέα, ακετοφαινόνες, φαινυλοξικά οξέα, φαινυλοπροπανοειδή, (υδροξυ)κιναμμωμικά 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 της γεύσης και του χρώματός τους. Έχουν αναφερθεί περισσότερα από 5000

διαφορετικά είδη φλαβονοειδών. 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 ή φλαβανόλες* (π.χ. επικατεχίνη, γαλλοκατεχίνη οι οποίες αν πολυμεριστούν δημιουργούν τις ταννίνες και τις προανθοκυανιδίνες), οι *ανθοκυανιδίνες* (π.χ. κυανιδίνη, πελαργονιδίνη), τα *ισοφλαβονοειδή* (π.χ. γενιστεϊνη, δαϊσδεϊνη), οι *φλαβανοδιόλες*, οι *διϋδροφλαβονόλες*, οι *χρυσόνες*, οι *χαλκόνες*, οι *διϋδροχαλκόνες* και τα *διφλαβονοειδή/προανθοκυανιδίνες/συμπυκνωμένες ταννίνες*.

Τα περισσότερα από τα φλαβονοειδή που περιέχονται στα φυτά είναι συνδεδεμένα με σάκχαρα (γλυκοζίτες), παρόλο που περιστασιακά παρουσιάζονται και ως αγλυκόνες και έχουν να επιδείξουν σημαντική αντιοξειδωτική ικανότητα. Η τελευταία οφείλεται κυρίως στον αριθμό και τη θέση των υδροξυλομάδων πάνω στο μόριο (45). Το ενδιαφέρον για τις ενδεχόμενες ευεργετικές τους ιδιότητες έχει αυξηθεί λόγω τις πιθανής αντιοξειδωτικής τους δράσης η οποία τους αποδίδεται μέσω της ικανότητάς τους να δεσμεύουν ελεύθερες ρίζες, όπως έχει παρατηρηθεί in vitro αλλά και in vivo, κυρίως σε πειραματόζωα (14). Δεδομένα από μελέτες σε ανθρώπους δείχνουν ότι η απορρόφηση και η βιοδιαθεσιμότητα μερικών φλαβονοειδών είναι μεγαλύτερη από αυτή που αρχικά είχε εκτιμηθεί. Παρόλα αυτά οι επιδημιολογικές έρευνες που μελετούν το ρόλο των φλαβονοειδών στην υγεία του ανθρώπου δεν μας οδηγούν σε ασφαλή συμπεράσματα και, μάλιστα, κάποια απ' αυτά είναι αντικρουόμενα. Ωστόσο, στην πλειοψηφία τους υποστηρίζουν έρευνες πως η κατανάλωση τροφών πλούσιων σε φλαβονοειδή έχουν προστατευτικές ιδιότητες έναντι των καρδιαγγειακών παθήσεων και του καρκίνου, ενώ κάποιες απ' αυτές αναφέρουν δράσεις και ενάντια στο πεπτικό έλκος και σε δερματολογικές ανωμαλίες (26).

## 2.3. <u>Πηγές πολυφαινολών</u>

Οι πολυφαινόλες είναι αρκετά διαδεδομένες στα φυτικά τρόφιμα (λαχανικά, δημητριακά, όσπρια, ξηροί καρποί, φρούτα κλπ.) και στα ποτά (κρασί, μπύρα, τσάι, κακάο, χυμός μήλου κλπ.). Τα επίπεδα των πολυφαινολών παρουσιάζουν πολλές διακυμάνσεις ακόμη και μεταξύ καλλιεργειών του ίδιου είδους, καθώς ο

σχηματισμός γλυκοζιτών φλαβονών φλαβονολών εξαρτάται πολύ από το φως. Η παρουσία των πολυφαινολών στα φυτικά τρόφιμα εστιάζεται στα φύλλα και τα εξωτερικά τμήματα των φυτών και επηρεάζεται από γενετικούς παράγοντες και από τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Άλλοι παράγοντες όπως ο βαθμός ωρίμανσης, η ποικιλία, η επεξεργασία και η αποθήκευση επηρεάζουν το περιεχόμενο των φαινολικών παραγώγων των φυτών.

Οι πολυφαινόλες είναι εν μέρει υπεύθυνες για τις αντιτροφικές ιδιότητες των φυτών. Η στυφή και πικρή γεύση των τροφίμων και των ποτών εξαρτάται από τη περιεκτικότητά τους σε πολυφαινόλες. Η οξείδωση των πολυφαινολών κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και της αποθήκευσης έχει ως αποτέλεσμα είτε ωφέλιμα, είτε ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά στα τρόφιμα.

Στα όσπρια και τα δημητριακά οι κυριότερες πολυφαινόλες είναι φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα και ταννίνες. Στα όσπρια τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες έχουν οι σκούρες ποικιλίες, όπως κόκκινα και μαύρα φασόλια και τα μαύρα ρεβίθια. Τα όσπρια περιέχουν επίσης ισοφλαβόνες, ενώ τα λαχανικά περιέχουν κυρίως φλαβονοειδείς γλυκοζίτες. Αυτοί εμφανίζονται στα εξωτερικά τμήματα των φυτών. Απ' την άλλη, η περιεκτικότητα των δημητριακών σε πολυφαινόλες είναι συνήθως λιγότερη από το 1% της ξηρής ύλης. Οι ρίζες και οι βολβοί έχουν κατά κανόνα χαμηλές συγκεντρώσεις φλαβονοειδών, με εξαίρεση κάποια φυτά όπως τα κρεμμύδια και τη γλυκόριζα. Τα μούρα χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε ανθοκυανιδίνες, ενώ φρούτα όπως τα μήλα και διάφορα εσπεριδοειδή περιέχουν κατά κύριο λόγο φαινολικά οξέα και φλαβονοειδή αντίστοιχα. Τέλος, οι επικρατέστερες πολυφαινολικές ενώσεις στα φρούτα είναι οι φλαβονόλες οι οποίες συναντώνται κυρίως στο φλοιό ενώ στους ξηρούς καρπούς επικρατούν οι ταννίνες.

## 2.4. <u>Απορρόφηση και μεταβολισμός πολυφαινολών</u>

Τα τελευταία χρόνια οι πολυφαινόλες έχουν βρεθεί στο επίκεντρο του ερευνητικού ενδιαφέροντος λόγω της ικανότητας τους να δρουν ως «δεσμευτές» ελευθέρων ριζών και, κατ' επέκταση, ως μέσο πρόληψης διαφόρων εκφυλιστικών καταστάσεων (καρκίνος, καρδιαγγειακές παθήσεις). Προκειμένου, όμως, οι πολυφαινόλες να επιδείξουν τις προστατευτικές τους δράσεις πρέπει να

προσληφθούν από τον οργανισμό και τελικά η δράση τους εξαρτάται από τη διαιτητική πρόσληψη και τη βιοδιαθεσιμότητά τους. Για ένα μεγάλο χρονικό διάστημα η απορρόφηση των φλαβονοειδών από τη προσλαμβανόμενη τροφή θεωρούνταν αμελητέα αφού αυτά, με εξαίρεση της κατεχίνες, τα φλαβονοειδή, είναι συνδεδεμένα με σάκχαρα με τη μορφή γλυκοζιτών. Μόνο ελεύθερα φλαβονοειδή με τη μορφή αγλυκονών θεωρείτο ότι μπορούσαν να διαπεράσουν το εντερικό τοίχωμα, αφού επικρατούσε η πεποίθηση ότι κανένα ένζυμο που θα μπορούσε να σπάσει τους β- γλυκοζιτικούς δεσμούς δεν εκκρίνεται στο έντερο ή εδράζεται στο εντερικό τοίχωμα. Όμως τα τελευταία χρόνια έρευνες που πραγματοποιήθηκαν αρχικά στα ποντίκια και αργότερα στον ανθρώπινο οργανισμό απέδειξαν ότι πολυφαινόλες όπως η κερκετίνη απορροφώνται από το λεπτό έντερο ακόμη και σε ποσοστό 52%.

Μετά την απορρόφησή τους από το έντερο ο επακόλουθος μεταβολισμός των πολυφαινολών είναι γνωστός κυρίως από έρευνες σε ζώα και σε πολύ μικρότερο βαθμό από έρευνες στους ανθρώπους. Ομάδες υδροξυλίων υφίστανται σύζευξη με γλυκορουνικά οξέα ή σουλφονικές ομάδες στο ήπαρ. Επίσης η έκκριση γλυκουρονιδίων ή σουλφατιδίων στη χολή φαίνεται να είναι σημαντική. Βακτήρια στο κόλον υδρολύουν συμπλέγματα ή γλυκοζίτες αυξάνοντας με αυτό τον τρόπο την απορρόφηση των αγλυκονών ενώ συγχρόνως λαμβάνουν χώρα αντιδράσεις αποσύνθεσης του πολυφαινολικού σκελετού προς απλούστερες ενώσεις. Τα φαινολικά οξέα αποβάλλονται από τον οργανισμό με τη μορφή ουρίας.

## 2.5. Βιοδιαθεσιμότητα πολυφαινολών

Το κατά πόσον θα απορροφηθεί και θα μεταβολιστεί μία πολυφαινόλη από τον οργανισμό εξαρτάται από παράγοντες όπως, η χημική της δομή (βαθμός γλυκοζυλίωσης/ ακυλίωσης), βασική της δομή (βενζολικός ή φλαβονοειδικός πυρήνας), η σύζευξή της με άλλες πολυφαινόλες, η μοριακή της μάζα, ο βαθμός πολυμερισμού της και η διαλυτότητά της. Έτσι, γίνεται σαφές ότι η βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών διαφέρει αρκετά ανάμεσα στα διάφορα είδη.

## 2.6. Φυσιολογικές δράσεις των πολυφαινολών

- *Αντιοξειδωτική δράση*

  Διάφορες έρευνες δείχνουν ότι οι ελεύθερες ρίζες που δημιουργούνται στον ανθρώπινο οργανισμό προκαλούν οξειδωτικές διαδικασίες σε διάφορα μόρια όπως τα λιποειδή, οι πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα. Τα μόρια αυτά συμμετέχουν στην αρχική φάση ορισμένων εκφυλιστικών ασθενειών. Τα αντιοξειδωτικά έχουν την ικανότητα να εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες και, επομένως, μπορούν να παίξουν σημαντικό ρόλο στην πρόληψη ορισμένων ασθενειών όπως καρκίνος, καρδιαγγειακά νοσήματα, καταρράκτης, ασθένειες του εγκεφάλου, ρευματοειδής αρθρίτιδα, δερματολογικές ανωμαλίες και πεπτικό έλκος (26), (14), (45).

  Τα φρούτα και τα λαχανικά περιέχουν διάφορα αντιοξειδωτικά συστατικά όπως οι βιταμίνες C και E και τα καροτενοειδή, των οποίων οι ιδιότητες έχουν εδραιωθεί τα τελευταία χρόνια. Όμως τα μόρια αυτά δεν είναι τα μοναδικά που συνεισφέρουν στην αντιοξειδωτική δράση των φρούτων και των λαχανικών. Στη διαδικασία αυτή συμμετέχουν και οι πολυφαινόλες (45).

- *Επίδραση στη πέψη των μακροθρεπτικών συστατικών:*

  Κυρίως οι πολυμερισμένες ταννίνες συνδέονται και καταβυθίζουν πρωτεΐνες με αποτέλεσμα τη καθυστέρηση της απορρόφησής τους.

- *Επίδραση στην απορρόφηση μεταλλικών κατιόντων*:

  Κυρίως τα φλαβονοειδή, συμπλέκονται με μεταλλικά κατιόντα και προκαλούν μείωση της απορρόφησης Fe, Cu, Zn, Na, Al υπό τη δημιουργία συμπλόκων.

- *Επίδραση στα επίπεδα σακχάρου και χοληστερόλης στο αίμα*

  Μείωση κυρίως από ταννίνες και πολυφαινόλες του ελαιολάδου.

- *Προστασία επιθηλιακών κυττάρων του αναπνευστικού συστήματος*
- *Αύξηση των επιπέδων της HDL και μείωση των επιπέδων LDL*

  Κυρίως από ταννίνες.
- *Αντικαρκινική δράση*

Κυρίως στο παχύ έντερο και συμβολή στην απόπτωση των καρκινικών κυττάρων.

- *Αντιμικροβιακή και αντιβακτηριακή δράση*
- *Αντιαλλεργικές ιδιότητες*

  Παρεμπόδιση συσσώρευσης αιμοπεταλίων.
- *Αγγειοδιασταλτική δράση.*

  Διαμέσου της παραγωγής ενδοκυτταρικού NO
- *Προστασία του DNA από ενδοκυτταρικές προσβολές*

Πέρα από τις ευεργετικές για την υγεία ιδιότητες τους, τα φλαβονοειδή παρουσιάζουν πρόσθετο ενδιαφέρον για τη μαγειρική, την κοσμετική και τη φαρμακοβιομηχανία, αφού μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως υποκατάστατα συνθετικών αντιοξειδωτικών (45).

## 2.7. Αντιοξειδωτικά στη σταφίδα

Μελέτες σχετικές με την παρουσία αντιοξειδωτικών στην Κορινθιακή σταφίδα δεν έχουν πραγματοποιηθεί. Μόνο μία εκτενής αναφορά στο πολυφαινολικό περιεχόμενο της σταφίδας (1) υπάρχει διεθνώς η οποία πραγματοποιήθηκε σε δείγματα σταφίδας τύπου Raisins και Tompson Seedless grapes (Vitis vinifera L. cv. Sultanina) παραγόμενα στην Καλιφόρνια των Η.Π.Α. Στη μελέτη αυτή (1), ανιχνεύθηκαν οξειδωμένα κινναμωμμικά οξέα, πρωτοκατεχικό οξύ, trans-καφταρικό οξύ, trans-κουταρικό οξύ, ρουτίνη, γλυκοζίτες της κερκετίνης, γλυκοζίτες της καμπφερόλης, γλυκοζίτες της μυρισετίνης, ενώ επιπλέον ανιχνεύθηκε και ποσοτικοποιήθηκε υδροξυμεθυλοφουρφουράλη.

Στα δείγματα τύπου Tompson Seedless grapes οι πολυφαινόλες: cis-καφταρικό οξύ, καφταρικό οξύ, cis-κουταρικό οξύ, κουταρικό οξύ, ρουτίνη, γλυκοζίτες της κερκετίνης, γλυκοζίτες της καμπφερόλης, κατεχίνη, επικατεχίνη και οι προανθοκυανιδίνες B3, B1, B4, B2, διμερή, τριμερή και τετραμερή προκυανιδίνης.

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. Στην έρευνα αυτή οι ποσότητες ελλαγικού οξέος στα δείγματα κρίθηκαν μειωμένες συγκρινόμενες με την ποσότητα του εν λόγω οξέος σε δείγματα σταφυλιών.

Στην ίδια μελέτη διαπιστώθηκε αύξηση των ποσοτήτων υδροξυ-κινναμωμικών οξέων στα δείγματα σταφίδας και παράλληλη οξείδωσή τους ενώ σημαντική μείωση προέκυψε στις τιμές προκυανιδινών και φλαβαν-3-ολών, συγκρινόμενες πάντα με τις αντίστοιχες τιμές που διαπιστώθηκαν σε δείγματα σταφυλιού.

Μια απλή αναφορά σχετικά με το πολυφαινολικό περιεχόμενο της σταφίδας έχει γίνει σε πρόσφατη έρευνα (2) όπου αναφέρεται ότι η σταφίδα τύπου Raisin αποτελεί πλούσια πηγή των ισοφλαβονών δαϊσδεΐνη και γενιστεΐνη σε ποσότητα ίση με 1840 mg /Kg νωπού τροφίμου και ότι περιέχει πολύ υψηλές ποσότητες υδρόξυ-κινναμωμμικού οξέος (περίπου 100 ppm).

Πολύ πρόσφατα δημοσιεύτηκε μια μελέτη που αφορά στο πολυφαινολικό περιεχόμενο κορινθιακής σταφίδας (62). Στη συγκεκριμένη έρευνα ανιχνεύθηκαν 17-19 πολυφαινολικά συστατικά με κυριότερο το βανιλλικό οξύ (μέση συγκέντρωση 1,21 ± 0,23 mg/ 100 g σταφίδας), ενώ το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο κυμάνθηκε από 151 έως 246 mg/ 100 g σταφίδας.

## 2.8. Αντιοξειδωτικά στα σταφύλια

Σε αντίθεση με τη βιβλιογραφία που αφορά το πολυφαινολικό περιεχόμενο της σταφίδας, εκείνη που αφορά το αντίστοιχο περιεχόμενο των σταφυλιών έχει να επιδείξει μια πληθώρα ερευνητικών μελετών.

Στη μελέτη των Baydar et al. (3) γίνεται αναφορά στην εισαγωγή στο πολυφαινολικό περιεχόμενο που έχει εντοπιστεί από άλλους ερευνητές στα κουκούτσια και στο κατάλοιπο αποχύμωσης (όχι κουκούτσια και χυμός) του σταφυλιού και αυτό περιλαμβάνει μεγάλες ποσότητες κατεχίνης, επικατεχίνης, επιγαλλοκατεχίνης, διμερών, τριμερών και τετραμερών προκυανιδινών,

ρεσβερατρόλη. Η μελέτη των Nawaz et al (8) προσθέτει στα παραπάνω την ύπαρξη κιναμμωμικών οξέων (κουμαρικό, καφεϊκό, φερουλικό, χλωρογενικό, νεοχλωρογενικό) και οι έρευνες των Yilmaz et al (39) και Guendez et al (11) την ύπαρξη του γαλλικού οξέος.

Γενικά σε μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά με τα αντιοξειδωτικά των σταφυλιών έχουν βρεθεί πολλές και διαφορετικής δομής πολυφαινόλες (16), (5), (45), (22). Συγκεκριμένα, τις πιο απλές δομές αποτελούν μόνο-, δι- και τρι-φαινόλες όπως η πυροκατεχόλη, η ρεσορκινόλη, η βανιλλίνη, p-υδροξυ-βενζαλδεϋδες, φαινολικά οξέα όπως το γαλλικό, το βανιλλικό, το σαλικυλικό και το συριγγικό οξύ. Ακόμη περιέχονται υδρόξυ-κιναμωμμικά οξέα όπως το καφεϊκό, το φερουλικό και το p-κουμαρικό καθώς και εστέρες p-κουμαρικού οξέος που σχηματίζονται μετά από αντίδραση με το τρυγικό οξύ. Κάποιες περισσότερο πολύπλοκες πολυφαινόλες των σταφυλιών έχουν δύο ή περισσότερους αρωματικούς δακτυλίους. Τέτοιες είναι οι κουμαρίνες, οι βενζοπυρόνες και τα κατιόντα φλαβυλίου οι οποίες και σχηματίζουν φλαβανόνες (λουτεολίνη), φλαβονόλες (γλυκοζίτες καμπφερόλης, ρουτίνης, κερκετίνης και μυρισετίνης) και ανθοκυανιδίνες. Οι γλυκοζίτες της καμπφερόλης, της κερκετίνης και της μυρισετίνης, στα κόκκινα κρασιά αντιδρούν με τις ανθοκυανιδίνες προς το σχηματισμό ταννινών οι οποίες είναι οι κύριες υπεύθυνες για το χρώμα των σταφυλιών και των κρασιών. Οι ανθοκυανιδίνες διαθέτουν στη δομή τους κατιόν φλαβυλίου σαν βασικό σκελετό. Αυτό είναι υπεύθυνο για το κόκκινο χρώμα τόσο του σταφυλιού όσο και του κρασιού. Επιπλέον, στα σταφύλια εντοπίζονται και οι φλαβανοτριόλες κατεχίνη, γαλλοκατεχίνη, επικατεχίνη και επιγαλλοκατεχίνη. Τέλος οι κυριότερες ανθοκυανίνες που περιέχονται στο κρασί είναι οι γλυκοζίτες της δελφινιδίνης, της μαλβιδίνης, της πετουνιδίνης και της κυανιδίνης.

Σε άλλη έρευνα (23) γίνεται λόγος για την επιπλέον παρουσία: *Φλαβονολών:* γλυκορουνίδια και γλυκοζίτες της κερκετίνης. *Παραγώγων υδρόξυ-κιναμωμμικών οξέος:* καφεϋλοτριγύκο (καφταρικό) και p-κουμαρόϋλοτριγικό (κουταρικό) οξύ. *Στιλβενίων:* cis-, trans-ρεσβερατρόλη. Πρέπει να σημειωθεί ότι τα στιλβένια χρειάζονται αρκετό χρόνο ώστε να σχηματιστούν και γι αυτό είναι λογικό να παρουσιάζεται έλλειψη σε σταφύλια που αναλύθηκαν πολύ γρήγορα μετά τη συγκομιδή. Επίσης, ειδικά η ρεσβερατρόλη αποτελεί συστατικό του σταφυλιού που δεν εντοπίζεται ακολούθως και στη σταφίδα

Σε έρευνα στην οποία μελετήθηκε το πολυφαινολικό περιεχόμενο κόκκινων και λευκών επιτραπέζιων σταφυλιών (15), βρέθηκάν και στις δύο ποικιλίες τα εξής πολυφαινολικά συστατικά: *Ανθοκυανιδίνες:* γλυκοζίτες της δελφινιδίνης, της κυανιδίνης, της πετουνιδίνης, της πεονιδίνης και της μαλβιδίνης. Σε όλες της ποικιλίες η πεονιδίνη βρέθηκε σε μεγαλύτερη ποσότητα από τις υπόλοιπες ανθοκυανιδίνες. Σε αντίθεση, η κύρια ανθοκυανιδίνη στις ποικιλίες οινοποιίας είναι η μαλβιδίνη. Άλλες ανθοκυανιδίνες που βρίσκονται σε αφθονία είναι οι γλυκοζίτες της μαλβιδίνης και της κυανιδίνης. Η δελφινιδίνη και η πετουνιδίνη είναι οι λιγότερο εμφανιζόμενες ανθοκυανιδίνες με συνεισφορά 2-3% στο συνολικό ανθοκυανιδικό περιεχόμενο. Παρόμοια συγκριτική μελέτη μεταξύ κόκκινων και λευκών επιτραπέζιων σταφυλιών (7) αναφέρει την ύπαρξη και στις δύο κατηγορίες κατεχίνης, επικατεχίνης, επιγαλλοκατεχίνης, καφταρικού οξέος, cis- και trans-κουταρικού οξέος, γλυκοζιτών της κερκετίνης και γλυκουρονιδίων της λουτεολίνης. Επίσης, γίνεται λόγος για ύπαρξη γλυκοζίτη της μυρισετίνης στις κόκκινες ποικιλίες και βιτεξίνης στις λευκές.

Σε μελέτη (Kallithraka et al) που πραγματοποιήθηκε σε ελληνικές ποικιλίες σταφυλιών με σκοπό το προσδιορισμό του περιεχομένου τους σε ανθοκυανιδίνες (42), βρέθηκε ότι το επικρατές συστατικό ήταν οι γλυκοζίτες της μαλβιδίνης, ακολουθούν τα κουμαρικά παράγωγά της, οι γλυκοζίτες της πεονιδίνης, της πετουνιδίνης και της δελφινιδίνης. Αντίθετα, οι γλυκοζίτες της κυανιδίνης εμπεριέχονται σε πολύ μικρότερο ποσοστό. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο βαθμός ωρίμανσης των σταφυλιών επηρεάζει και το περιεχόμενό τους σε ανθοκυανίνες, γι αυτό και οι ποσότητες των ανθοκυανινών που προκύπτουν μπορεί να διαφέρουν σε σταφύλια της ίδιας ποικιλίας αλλά και διαφορετικού βαθμού ωρίμανσης.

Γενικά από τις παραπάνω συγκριτικές έρευνες γίνεται σαφές ότι τα κόκκινα σταφύλια έχουν μεγαλύτερο πολυφαινολικό περιεχόμενο από τα λευκά. Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης δε φαίνεται σαφώς κάποια αλλαγή της πολυφαινολικής σύστασης. Ανάμεσα σε κόκκινα και λευκά σταφύλια τα οποία είχαν τον ίδιο συνολικό πολυφαινολικό δείκτη (χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Folin-Ciocalteau) βρέθηκαν μεγάλες διαφορές ως προς την αντιοξειδωτική ικανότητα με σαφή υπεροχή των κόκκινων.

| **Πίνακας 2.1. Ποσοτική ανάλυση πολυφαινολών σε κόκκινες και λευκές ποικιλίες σταφυλιών (mg/ Kg σταφυλιών)** | | |
|---|---|---|
| | Κόκκινες ποικιλίες | Λευκές ποικιλίες |
| Κατεχίνη | 23 - 587 | 6 - 87 |
| Επικατεχίνη | 12 - 137 | 1 - 14 |
| Επιγαλλοκατεχίνη | 1 - 42 | 0,5 – 20 |
| Καφταρικό οξύ | 0,5 - 29 | 0,2 – 40 |
| c-Κουταρικό οξύ | 0,1 - 15 | Ίχνη – 2 |
| t-Κουταρικό οξύ | 0,2 - 5 | Ίχνη - 8 |
| Κερκετίνη | 5 - 37 | |
| Καμπφερόλη | Ίχνη - 12 | |
| Δελφινιδίνη | 1,1 – 109 | |
| Κυανιδίνη | N.D. - 66 | |
| Πετουνιδίνη | N.D. – 73 | |
| Πεονιδίνη | 21 – 193 | |
| Μαλβιδίνη | 9 - 1203 | |

N.D.: μη ανιχνευθέν

## 2.9. Αντιοξειδωτικά στο κρασί και φυσιολογικές δράσεις αυτών

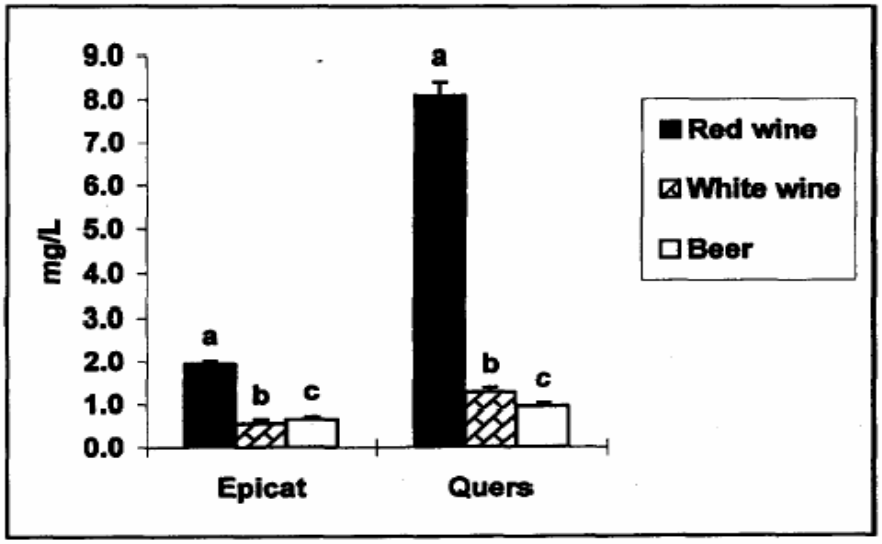
Πολλές εργασίες έχουν υποστηρίξει την ευεργετική επίδραση της λελογισμένης κατανάλωσης κρασιού, ιδιαίτερα του κόκκινου, στην υγεία (*French paradox*), (58).

Τα κυριότερα αντιοξειδωτικά που περιέχονται στο κρασί είναι φλαβονόλες (κερκετίνη, μυρισετίνη, απιγενίνη), φλαβανόλες (κατεχίνη, επικατεχίνη, επιγαλλοκατεχίνη), στιλβένια (ρεσβερατρόλη, παλλιδόλη), ταννίνες, πολυμερή ανθοκυανινών, φαινολικά οξέα (γαλλικό οξύ, p-, βανιλλικό οξύ, συριγγικό οξύ, πρωτοκατεχικό οξύ), υδροξυ-κιναμμωμικά οξέα (καφταρικό οξύ, φερουλικό οξύ, κουμαρικό οξύ, καφεϊκό οξύ), στιλβένια (ρεσβερατρόλη) αλλά και απλές φαινόλες, όπως η υδροξυτυροσόλη (4), (9), (41), (18), (4), (22). Σε πολλές ποικιλίες κρασιών έχει μελετηθεί το περιεχόμενό τους σε ανθοκυανιδίνες. Οι κυριότερες

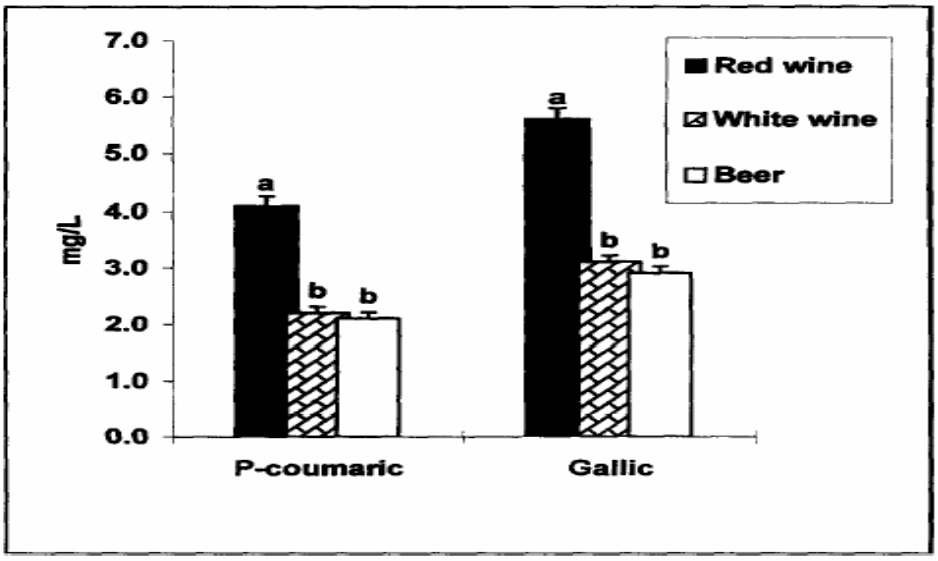
ανθοκυανιδίνες που απαντώνται είναι η μαλβινιδίνη, η πεονιδίνη, η πετουνιδίνη, η κυανιδίνη και η δελφινιδίνη (15) υπό μορφή γλυκοζιτών (ανθοκυανίνες).

Όσον αφορά σε επιδράσεις της κατανάλωσης κόκκινου κρασιού στην ανθρώπινη υγεία έχει δειχθεί ότι το κόκκινο κρασί παρεμποδίζει την οξείδωση της LDL και μάλιστα σε μεγαλύτερο βαθμό απ' ότι το λευκό (4). Το κατά πόσο το αλκοολικό περιεχόμενο του κρασιού βοηθά στην απορρόφηση των πολυφαινολών του κόκκινου κρασιού δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί.

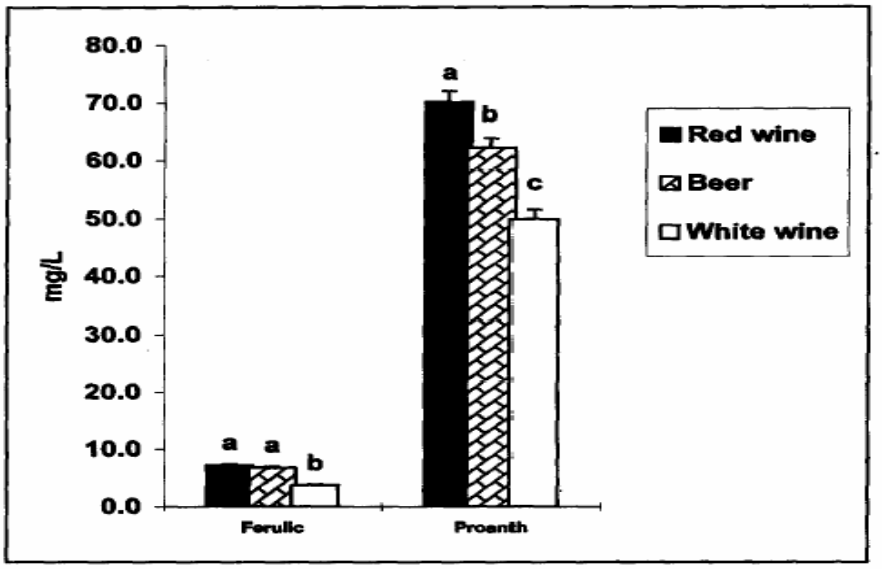
Σε πρόσφατη έρευνα αναλύθηκε το πολυφαινολικό περιεχόμενο του λευκού και του κόκκινου κρασιού καθώς και της μπύρας (56). Διαπιστώθηκε σαφώς μεγαλύτερο συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο στα κόκκινα κρασιά, αλλά και μεγαλύτερο περιεχόμενο αυτών σε επιμέρους πολυφαινόλες. Οι πολυφαινόλες που βρέθηκε να περιέχονται σε αυτά τα ποσά παρατίθενται στα παρακάτω σχήματα.




**Σχήμα 2.1. Σύγκριση ποσοτήτων επικατεχίνης και κερκετίνης στα λευκά και τα κόκκινα κρασιά και στη μπύρα.**




**Σχήμα 2.2. Σύγκριση ποσοτήτων p-κουμαρικού και γαλλικού οξέος στα λευκά και τα κόκκινα κρασιά και στη μπύρα.**




**Σχήμα 2.3. Σύγκριση ποσοτήτων φερουλικού οξέος και προανθοκυανιδινών στα λευκά και τα κόκκινα κρασιά και στη μπύρα.**

| **Πίνακας 2.3. Ποσοτική ανάλυση πολυφαινολών σε κόκκινες και λευκές ποικιλίες κρασιού (mg/L κρασιού)** | | |
|---|---|---|
| | Κόκκινες ποικιλίες | Λευκές ποικιλίες |
| Κατεχίνη | 1,4-85,1 | 2,3-28,7 |
| Επικατεχίνη | N.D-195,1 | 0,2-71,7 |
| Κερκετίνη | 1,5-12,8 | 1,29 |
| Απιγενίνη | <0,2-4,7 | |
| Μυρισετίνη | 1,5-8,0 | |
| Αστιλβίνη | 6,4-15,6 | 0,6-4,4 |
| 3-O- ραμνοζίτης της διυδρομυρισετίνης | 20,9-69,1 | 1,8-6,0 |
| Αστριγκίνη | N.D.-38,1 | N.D-8,5 |
| Trans-πισεϊδη | 0,1-26 | N.D-2,9 |
| Cis- πισεϊδη | N.D.-24,1 | N.D-0,9 |
| Trans-ρεσβερατρόλη | 0,9-3,8 | N.D-0,2 |
| Cis-ρεσβερατρόλη | N.D.-0,9 | N.D-0,1 |
| Παλλιδόλη | 0,5-4,8 | N.D |
| Επιγαλλοκατεχίνη | | |
| Γαλλικό οξύ | 5,6-70,0 | 3,1 |
| Καφεϊκό οξύ | 2,5-17,9 | |
| καφεοϋλοτρυγικό (καφταρικό) | 2,8-37,7 | |
| p- κουμαρικό | 0,9-16,0 | 2,2 |
| p-κουμαρόϋλοτριγικό (κουταρικό) | 1,3-10,9 | |
| 2,5 δι-S-γλουταθειόνυλο -καφταρικό | 2,2-9,2 | |
| Φερουλικό οξύ | 7,2 | 3,9 |
| Πολυφαινολικό Περιεχόμενο (Μέθοδος Folin-Ciocalteau εκφρασμένο σε mg/ L γαλλικού οξέος) | 364,2-4000 | 77,1-436,2 |
| Αντιοξειδωτική Ικανότητα ( μέθοδος DPPH* εκφρασμένη σε mM Trolox) | 0,73-1,37 | |

Σημαντικές είναι, επίσης, οι μεταβολές που πραγματοποιούνται στην ποσότητα και στο είδος του πολυφαινολικού περιεχομένου του κρασιού κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, όπως προέκυψε από αναλύσεις με χρωματογραφία HPLC. Με βάση τέτοιες έρευνες κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης έχει διαπιστωθεί σημαντική μείωση γαλλικού οξέος, αύξηση πολυμερούς κατεχίνης, - πολυμερούς επικατεχίνης, p-κουμαρικού οξέος, τυροσόλης και κερκετίνης. Απ' την άλλη, μέσω της ίδιας μεθόδου (χρωματογραφία HPLC) διαπιστώθηκε σημαντική αύξηση στις τιμές καφεϊκού οξέος, βανιλλικού οξέος, συριγγικού οξέος και φερουλικού οξέος. Αξιοσημείωτη είναι, επίσης, η εμφάνιση οξειδωμένων ή πολυμερών κινονών, προκυανιδινών, ταννινών.

Τέλος, πολύ σημαντικές και άξιες λόγου είναι και οι φυσιολογικές δράσεις των πολυφαινολών του κρασιού. Η σημασία του κόκκινου κρασιού στη διατροφή και η ευεργετική επίδρασή του στην υγεία έχει τονιστεί σε αρκετές δημοσιεύσεις. Σε μία έρευνα (46) έχει δειχθεί ότι η κατανάλωση κόκκινου κρασιού βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία και μειώνει τα επίπεδα ινωδογόνου σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι τα αντιοξειδωτικά που περιέχονται στο κρασί, προερχόμενα από τα σταφύλια, παρεμποδίζουν την οξείδωση των LDL (in vitro και in vivo) μέσω διαφόρων μηχανισμών (40). Το κόκκινο κρασί, φαίνεται ακόμα ότι συμβάλλει στην αύξηση των επιπέδων των HDL, προωθεί την αγγειοδιαστολή, παρεμποδίζει το πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων και την αγγειακή υπερπλασία.

Σε πολλές έρευνες έχει κατά καιρούς μελετηθεί η πιθανή αντικαρκινική δράση των πολυφαινολών του κόκκινου κρασιού (38), (57), (26). Συχνά, η δράση αυτή έχει αποδοθεί σε βιοχημικούς μηχανισμούς όπως η προώθηση της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων, η διακοπή της ανάπτυξης των κυττάρων σε ένα ή περισσότερα στάδια του κύκλου ζωής τους, η παρεμπόδιση της σύνθεσης του DNA τους και η διαμόρφωση μονοπατιών μεταφοράς μηνυμάτων μέσω της αλλαγής ένζύμων-κλειδιών όπως οι κυκλοξυγενάσες και οι πρωτεϊνικές κινάσες.

# Κεφάλαιο 3ο

# ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΘΕΡΜΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

## 3.1. Γενικά

Έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί τα τελευταία 20 χρόνια σε διαφορετικά είδη τροφίμων (φρούτα, λαχανικά κυρίως) έχουν δείξει ότι αυτά τα προϊόντα είναι ικανά να προάγουν την ανθρώπινη υγεία σε σημαντικό βαθμό. Στα βιολογικά δραστικά συστατικά που συμβάλλουν στα παραπάνω συμπεριλαμβάνεται και το πολυφαινολικό περιεχόμενο των τροφίμων. Παρόλα αυτά, τα τρόφιμα πλούσια σε πολυφαινολικό περιεχόμενο δεν καταναλώνονται πάντα φρέσκα από τον άνθρωπο. Φρούτα όπως τα σταφύλια ή τα δαμάσκηνα καταναλώνονται ευρέως ως αποξηραμένα (σταφίδα, ξερά δαμάσκηνα) ή /και αφού έχουν υποστεί θερμική επεξεργασία. Παρόμοια θερμική επεξεργασία προϋποθέτει και η διαδικασία παραγωγής μαρμελάδας, πελτέ και άλλων παρόμοιων προϊόντων.

## 3.2. Σταθερότητα πολυφαινολών κατά τη θερμική επεξεργασία

Μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί πρόσφατα ασχολήθηκαν με τη σταθερότητα ή μη των πολυφαινολών διαφόρων φρούτων και λαχανικών μετά από ενδεχόμενη θερμική επεξεργασία.

*Δαμάσκηνα*

Σημαντικό μέρος της βιβλιογραφίας που ασχολείται με το θέμα της επίδρασης της θερμικής επεξεργασίας στο πολυφαινολικό περιεχόμενο τροφίμων αφορά στα δαμάσκηνα και τις διαφορές που εντοπίζονται ανάμεσα στο φρέσκο και το αποξηραμένο προϊόν ως προς το πολυφαινολικό τους περιεχόμενο. Σε

πρόσφατη έρευνα των Piga et al. (33) όπου εξετάστηκαν δύο διαφορετικές θερμοκρασίες ξήρανσης (60$^{o}$C, 85$^{o}$C) διαπιστώθηκαν τα εξής: Σημαντική μείωση των *υδροξυ-κιναμμωμικών οξέων* (νεοχλωρογενικό οξύ, χλωρογενικό οξύ) παρατηρήθηκε στα δείγματα που είχαν υποστεί ξήρανση στους 60$^{o}$C ενώ η μείωση αυτή δεν εντοπίστηκε στα δείγματα που είχαν ξηρανθεί στους 85$^{o}$C. Εικάζεται ότι η μείωση που παρατηρήθηκε στη χαμηλή θερμοκρασία προκλήθηκε ως ένα βαθμό από την ενζυμική δράση της πολυφαινολοξειδάσης (polyphenoloxidase enzymatic activity). Επίσης, εντοπίστηκε η παρουσία p-κουμαρικού οξέος η οποία πιθανολογείται ότι οφείλεται στην υδρόλυση κινναμωμικού οξέος κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ξήρανσης. Διαφορετική συμπεριφορά επέδειξαν στα δείγματα οι *ανθοκυανίνες* όπου διαπιστώθηκε ολική απώλεια των γλυκοζιτικών παραγώγων ανθοκυανινών. Συγχρόνως απώλεια παρατηρήθηκε σε παράγωγα ρουτίνης σε όλα τα δείγματα, καθώς και καταστροφή της κατεχίνης στην υψηλή θερμοκρασία. Θεωρείται ότι η υψηλή θερμοκρασία και οι υψηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου σε συνδυασμό με τη διαδικασία θέρμανσης (θέρμανση μέσω θερμού αέρα) οδηγούν σε ταχύτατη και ολική απώλεια ανθοκυανινών. Όσον αφορά τις *φλαβανόλες*, η μείωση στις τιμές τους απεδείχθη σημαντική μόνο στα δείγματα που ακολούθησαν διαδικασία ξήρανσης στους 85$^{o}$C. Η μείωσή τους πάντως, προκλήθηκε από διαφορετικό μηχανισμό σε σχέση με εκείνον που έδρασε στην περίπτωση των φαινολικών οξέων. Γενικά, έγινε σαφές ότι παρουσιάστηκε σημαντική μείωση στο συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο, πράγμα το οποίο παρουσιάζεται και σ' άλλες έρευνες (35, ξήρανση στους 60$^{o}$C), (44). Εξαιρετικά σημαντικά συμπεράσματα εξήγαγε η έρευνα όσον αφορά την *αντιοξειδωτική ικανότητα* των δειγμάτων μετά τη θερμική επεξεργασία. Παρά τη σημαντική μείωση του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου, η τιμή της αντιοξειδωτικής ικανότητας που παρατηρήθηκε κατά την ξήρανση 85$^{o}$C ήταν έως και δύο φορές υψηλότερη από την αρχική. Το γεγονός αυτό αποδίδεται σε προϊόντα της αντίδρασης Maillard που εντοπίζονται σε μεγάλες ποσότητες σε τέτοιου είδους αποξηραμένα φρούτα. Για να γίνει σαφές το παραπάνω αρκεί να σημειωθεί ότι ενδιάμεσο προϊόν της αντίδρασης Maillard είναι η HMF (υδροξυμεθυλοφουρφουράλη) που έχει μέγιστη απορρόφηση στα 280-290 nm και που η απορρόφηση σ' αυτό το μήκος κύματος συνδέεται σημαντικά με την τιμή αντιοξειδωτικής ικανότητας. Στα ίδια συμπεράσματα όσον αφορά τις αλλαγές στο συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο και την αντιοξειδωτική ικανότητα με τα παραπάνω κατέληξε και η έρευνα των Caro et al.

(51) σε δύο διαφορετικές ποικιλίες δαμάσκηνων. Υψηλότερες συγκεντρώσεις υδροξυ – κιναμμωμικών οξέων (νεοχλωρογενικό οξύ, χλωρογενικό οξύ) παρατηρήθηκαν στα δείγματα που είχαν υποστεί ξήρανση στους 85 $^{o}$C σε σύγκριση με αυτά που υπέστησαν ξήρανση στους 65 $^{o}$C και στις δύο περιπτώσεις. Εικάζεται ότι οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις που παρατηρήθηκαν στη χαμηλή θερμοκρασία προκλήθηκε ως ένα βαθμό από τη δράση της πολυφαινολοξειδάσης η οποία παραμένει δραστική σε θερμοκρασία 55 $^{o}$C, ενώ δραστικότητα φαινολοξειδάσης μπορεί να εμφανιστεί ακόμη και σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 75 $^{o}$C. Γενικά, έχει δειχθεί ότι οι ανθοκυανίνες αποικοδομούνται γρήγορα κατά την έκθεση τους σε υψηλές θερμοκρασίες και ατμοσφαιρικό οξυγόνο. Το p – κουμαρικό και το καφεϊκό οξύ επέδειξαν διαφορετική συμπεριφορά στη θερμική επεξεργασία για τις δύο ποικιλίες ενώ οι περιεχόμενες ανθοκυανίνες επηρεάστηκαν σημαντικά από τη θερμοκρασία.

*Φράουλες/ βατόμουρα/ μούρα προς παρασκευή μαρμελάδας*

Το πρωτόκολλο διαδικασίας παρασκευής μαρμελάδας απαιτεί θέρμανση της πρώτης ύλης σε υψηλές θερμοκρασίες. Στην έρευνα των Zafrilla et al. (47) γίνεται λόγος για διαδοχική θέρμανση στους 78$^{o}$C, 92$^{o}$C και 88$^{o}$C. Διαπιστώθηκε ότι οι γλυκοζίτες του ελλαγικού δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από τη διαδικασία θέρμανσης που ακολουθήθηκε, όμως η μείωση ήταν αξιοσημείωτη μετά από διάστημα αποθήκευσης 3-6 μηνών. Απ' την άλλη, οι γλυκοζίτες των φλαβονολών (κερκετίνης, καμπφερόλης) επέδειξαν μείωση της τάξεως του 15-20% η οποία έφτασε έως και το 40-50% μετά από αποθήκευση 6 μηνών του προϊόντος, σε θερμοκρασία δωματίου. Παρόμοια στοιχεία για τις φλαβονόλες επέδειξε και η έρευνα των Hakkinen et al. (55). Σε μια αντίστοιχη έρευνα των Klopotek et al. (49) σημειώθηκε, επίσης, μείωση του συνολικού πολυφαινολικού περιεχομένου όχι όμως σε εξαιρετικά υψηλά ποσοστά. Αξιοσημείωτα είναι, πάντως, τα στοιχεία που αφορούν τις ανθοκυανίνες καθώς αυτές δεν έδειξαν να επηρεάζονται παρά ελάχιστα από διαδικασία παραγωγής της μαρμελάδας. Γενικά, πάντως, φαίνεται ότι το πολυφαινολικό περιεχόμενο επηρεάζεται πολύ περισσότερο από το χρονικό διάστημα αποθήκευσης του προϊόντος παρά από τη θερμική επεξεργασία που αυτό υφίσταται. Απ' την άλλη, έρευνα των Amakura et al. (53) συνέκρινε τις τιμές του συνολικού πολυφαινολικού περιεχομένου και της αντιοξειδωτικής δράσης μεταξύ φρέσκων, παρασκευασμένων σε μαρμελάδα και υδρολυμένων δειγμάτων.

Οι ερευνητές διαπίστωσαν μείωση του συνολικού πολυφαινολικού περιεχομένου κατά τη θέρμανση προς παρασκευή μαρμελάδας αλλά ελαφριά αύξηση της τιμής στα υδρολυμένα δείγματα. Τέλος, όσον αφορά την αντιοξειδωτική ικανότητα, αξιοσημείωτη είναι η αύξηση της τιμής της που παρατηρείται στα δείγματα μαρμελάδας και στα υδρολυμένα δείγματα, συγκρινόμενη με την αντίστοιχη τιμή των φρέσκων δειγμάτων.

*Λαχανικά*

Έρευνες έχουν, επίσης, πραγματοποιηθεί για την πιθανή μεταβολή του πολυφαινολικού περιεχομένου κατά τη θερμική επεξεργασία δειγμάτων ντομάτας σε θερμοκρασία 88$^{o}$C και 90$^{o}$C (52), (48). Ειδικά στην έρευνα των Dewanto et al. (48) οι τιμές μετρήθηκαν και σε διαφορετικούς χρόνους επεξεργασίας (2, 15, 30 min). Γενικά, δε διαπιστώθηκε σημαντική αλλαγή στο συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων με εξαίρεση μια ελαφριά αύξηση στο δείγμα που θερμάνθηκε για 30 min. Μια αξιοσημείωτη αύξηση παρατηρήθηκε στις τιμές του cis- και trans- λυκοπενίου ενώ το πιο σημαντικό εύρημα αφορά στην αντιοξειδωτική ικανότητα. Αυτή επέδειξε σημαντική αύξηση κατά τη θερμική επεξεργασία, γεγονός που οι ερευνητές αποδίδουν στην αύξηση των επιπέδων λυκοπενίου αλλά και στη συνεργιστική δράση που αυτό παρουσιάζει με άλλες φυτικής προέλευσης ενώσεις, όπως τα φλαβονοειδή.

Παρόμοια συμπεράσματα όσον αφορά τη μείωση του πολυφαινολικού περιεχομένου εξήχθησαν και από έρευνα που εξέτασε την επίδραση της θερμικής επεξεργασίας σε δείγματα λάχανου. Στα επιμέρους, σημαντική σταθερότητα έδειξε η κυανιδίνη, σημαντικότερη από εκείνη της καμπφερόλης και της κερκετίνης. Η αλλαγή της τιμής της αντιοξειδωτικής ικανότητας επέδειξε διακύμανση ανάμεσα στα συγκεκριμένα δείγματα αλλά συνέχισε να είναι ισχυρά εξαρτώμενη από το πολυφαινολικό περιεχόμενο και όχι τόσο με την τιμή της Βιταμίνης C, όπως εικαζόταν, αφού αυτή μειώνεται αισθητά.

# Κεφάλαιο 4ο

# ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## 4.1. Γενικά

Σ' αυτή την παράγραφο καταγράφονται όλοι οι διαλύτες, όλα τα αντιδραστήρια και όλα τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα πτυχιακή εργασία:

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Λυοφιλοποιημένα δείγματα σταφίδας Βοστίτσας και σταφυλιού Βοστίτσας

Μεθανόλη αναλυτικής καθαρότητας

Ακετόνη αναλυτικής καθαρότητας

Δις απεσταγμένο νερό

Στήλες εκχύλισης στερεάς φάσης (SPE): Isolute C8 (EC), 500 mg, 3 mL

Οξικός αιθυλεστέρας

Εκχυλίσματα (μεθανόλη/ ακετόνη/ νερό, 7:2:1) σταφίδας Βοστίτσας συμπυκνωμένα μέχρι ξηρού, αναδιαλυμένα σε δις απεσταγμένο νερό. (βλ. πορεία 4.7., προετοιμασία δείγματος)

Εκχυλίσματα (μεθανόλη/ ακετόνη/ νερό, 7:2:1) σταφίδας Βοστίτσας αναδιαλυμένα σε μεθανόλη (βλέπε πορεία 4.7., προετοιμασία δείγματος)

Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteau (FC, 2N)

Κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου ($Na_2CO_3$, 35%w/v)

Διάλυμα υδροχλωρικού οξέος (HCl, 0,24N σε MeOH)

Αντιδραστήριο διμεθυλοκιναμαλδεϋδης (DMACA, 0,2% σε MeOH)

Διάλυμα 1,1- διφαίνυλο-2-πικρύλοϋδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH) 0,06 mM. Από το διάλυμα DPPH 1mM ελήφθησαν 3 mL και προστέθηκε μεθανόλη μέχρι τελικού όγκου 50 mL (DPPH, 0,06 mM)

Αντιδραστήριο χλωριούχου σίδηρου ($FeCl_3$)

Αντιδραστήριο 2,4,6 – τριπυριδυλο – s - τριαζίνης (TPTZ, 1mM)

ΟΡΓΑΝΑ

Αναλυτικός ζυγός (OHAUS), ακρίβειας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων

Αναδευτήρας VORTEX

Λουτρό υπερήχων (BRANSON 2210)

Επιτραπέζια φυγόκεντρος (HermLe 2320)

Περιστροφικός εξατμιστήρας κενού (rotary evaporator)

Φυγοκεντρικός εξατμιστήρα κενού (speed vacuum, LABCONCO), “speed vac”

Μαγνητικός αναδευτήρας

Συσκευή SPE

Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης Kontron

Δοκιμαστικοί σωλήνες με βιδωτό πώμα χωρητικότητας 10mL

Δοχεία σταθερού όγκου τύπου Eppendorf χωρητικότητας 1mL

## 4.2. Δείγματα σταφίδας

Χρησιμοποιήθηκαν 2 είδη δειγμάτων σταφίδας Βοστίτσας:

α) Μη επεξεργασμένη σταφίδα (πρώτη ύλη)

β) Συσκευασμένη σταφίδα εμπορίου (τελικό προϊόν)

Επίσης, χρησιμοποιήθηκε σταφύλι (πρώτη ύλη για την παρασκευή σταφίδας)

## 4.3. Διαδικασία έκπλυσης σταφίδας

α) Πρώτη ύλη (~ 50 gr με ακρίβεια 4 δεκαδικών) τοποθετήθηκε σε λεκάνη η οποία περιείχε νερό. Πραγματοποιήθηκε ανάδευση για περίπου 1 λεπτό.

β) Έγινε απόχυση του νερού και επαναπροσθήκη της ίδιας ποσότητας. Επαναλήφθηκε η διαδικασία για ίδια ποσότητα σταφίδας.

γ) Τα δείγματα αφέθηκαν να στεγνώσουν σε διηθητικό χαρτί για ~ 1 ώρα.

δ) Η διαδικασία έλαβε χώρα εις διπλούν.

## 4.4. Θερμική επεξεργασία σταφίδας

### *4.4.1. Θερμική επεξεργασία σταφίδας απουσία ζύμης*

8 δείγματα σταφίδας (τελικό προϊόν) περίπου 10 gr έκαστο ζυγισμένα με ακρίβεια 4 δεκαδικών ψηφίων τοποθετήθηκαν σε περιέκτες κατασκευασμένους από αλουμινόχαρτο. Ακολούθως τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε προθερμασμένο φούρνο, θερμαινόμενο με ρεύμα αέρα (100 $^{o}$C) για διαφορετικούς χρόνους το καθένα: 5 min, 10 min, 15 min, 20 min, 25 min, 30 min, 40 min, 50 min. Μετά τη θερμική επεξεργασία κάθε δείγμα τοποθετήθηκε σε ξηραντήρα μέχρι να φθάσει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Κατά τη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας η θερμοκρασία του φούρνου κυμάνθηκε από 98-102 $^{o}$C.

### *4.4.2. Θερμική επεξεργασία σταφίδας μέσα σε ζύμη*

α) Παρασκευάστηκε ζύμη ( μίγμα από αλεύρι «για όλες τις χρήσεις» και νερού σε αναλογία ~ 3:1).

β) Από τη ζύμη αυτή ελήφθησαν 14 δείγματα βάρους περίπου 18 gr ζυγισμένα με ακρίβεια 4 δεκαδικών ψηφίων τα οποία πλάθονται με περίπου 2 gr σταφίδα (τελικό προϊόν) το καθένα. Η διαδικασία αυτή είχε ως σκοπό την προσομοίωση παραγωγής μπισκότου. Τα «μπισκότα» ψήνονται στους ~ 180 $^{o}$C, για 23 min σε φούρνο θερμαινόμενο με ρεύμα αέρα.

γ) Από την ίδια ζύμη ελήφθησαν 4 δείγματα βάρους περίπου 90 gr ζυγισμένα με ακρίβεια 4 δεκαδικών ψηφίων τα οποία πλάθονται με περίπου 10 gr σταφίδα (τελικό προϊόν) το καθένα. Η διαδικασία αυτή είχε ως σκοπό την προσομοίωση παραγωγής σταφιδόψωμου. Το «σταφιδόψωμο» ψήνεται στους ~ 80 $^{o}$C, για 48 min σε κοινή οικιακή κουζίνα.

### *4.4.3. Παραλαβή σταφίδας από τα δείγματα*

Η παραλαβή της σταφίδας από το ψημένο προϊόν έγινε με χρήση λαβίδας κατά τέτοιο τρόπο ώστε να λαμβάνεται ολόκληρο κάθε τεμάχιο σταφίδας. Από τα δείγματα παραλήφθηκε το σύνολο των σταφίδων.

Από τα 14 δείγματα που αφορούσαν στην προσομοίωση παραγωγής μπισκότου, συλλέχθηκαν μαζί οι σταφίδες που περιέχονταν στα δείγματα 1-4, 5-8, 9-12.

Από τα 4 δείγματα που αφορούσαν στην προσομοίωση παραγωγής σταφιδόψωμο, συλλέχθηκαν μαζί οι σταφίδες που περιέχονταν στα δείγματα 8-7, 6-5.

## 4.5. Απομάκρυνση υγρασίας (Αφυδάτωση)

Προκειμένου να γίνει επεξεργασία και ανάλυση των δειγμάτων σταφίδας έγινε πολτοποίηση σε ιγδίο και στη συνέχεια λυοφιλοποίηση ώστε να απομακρυνθεί η υγρασία. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε συσκευή λυοφιλοποίησης. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή το δείγμα της σταφίδας ψύχεται στους -40 $^{o}$C για περίπου 48 ώρες και στη συνέχεια τοποθετείται στο λυοφιλοποιητή και εφαρμόζεται στο δείγμα Θ=-45 $^{o}$C και P=1-2*$10^{-1}$ mBarr. Κάθε δείγμα σταφίδας που υποβλήθηκε στη διαιδκασία αυτή ήταν προζυγισμένο με ακρίβεια 4 δεκαδικών ψηφίων. Στη συνέχεια το ξηρό δείγμα ζυγίστηκε και η περιεχόμενη υγρασία του υπολογίστηκε από τη σχέση: %Y = (W-D)/W*100, όπου W: βάρος δείγματος πριν την επεξεργασία, D: βάρος λυοφιλοποιημένου δείγματος. Η διαδικασία λυοφιλοποιήσης για κάθε δείγμα έλαβε χώρα εις διπλούν. Τα δείγματα που παρασκευάστηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στα πλαίσια αυτής της εργασίας, η κωδικοποίηση τους, καθώς και η περιεχόμενη υγρασία που υπολογίστηκε καταγράφονται στον ακόλουθο πίνακα:

**Πίνακας 4.1.**

| A/A | Είδος δείγματος | Κωδικός | Υγρασία % |
|---|---|---|---|
| 1 | Σταφιδα από «μπισκότο» | BST14_1 | 22,3 |
| 2 | Σταφιδα από «μπισκότο» | BST14_2 | 22,3 |
| 3 | Σταφιδα από «μπισκότο» | BST58_1 | 19,9 |
| 4 | Σταφιδα από «μπισκότο» | BST58_2 | 19,9 |
| 5 | Σταφιδα από «μπισκότο» | BST912_1 | 20,4 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 6 | Σταφιδα από «μπισκότο» | BST912_2 | 20,4 |
| 7 | Σταφίδα από «σταφιδόψωμο» | PST87_1 | 20,0 |
| 8 | Σταφίδα από «σταφιδόψωμο» | PST87_2 | 20,0 |
| 9 | Σταφίδα από «σταφιδόψωμο» | PST65_1 | 20,0 |
| 10 | Σταφίδα από «σταφιδόψωμο» | PST65_2 | 20,0 |
| 11 | Σταφίδα ψημένη σκέτη, 5 min | ST5_1 | 4,0 |
| 12 | Σταφίδα ψημένη σκέτη, 5 min | ST5_2 | 4,0 |
| 13 | Σταφίδα ψημένη σκέτη, 10 min | ST10_1 | 3,2 |
| 14 | Σταφίδα ψημένη σκέτη, 10 min | ST10_2 | 3,2 |
| 15 | Σταφίδα ψημένη σκέτη, 15 min | ST15_1 | 3,3 |
| 16 | Σταφίδα ψημένη σκέτη, 15 min | ST15_2 | 3,3 |
| 17 | Σταφίδα ψημένη σκέτη, 20 min | ST20_1 | 2,1 |
| 18 | Σταφίδα ψημένη σκέτη, 20 min | ST20_2 | 2,1 |
| 19 | Σταφίδα ψημένη σκέτη, 25 min | ST25_1 | 2,3 |
| 20 | Σταφίδα ψημένη σκέτη, 25 min | ST25_2 | 2,3 |
| 21 | Σταφίδα ψημένη σκέτη, 30 min | ST30_1 | 2,1 |
| 22 | Σταφίδα ψημένη σκέτη, 30 min | ST30_2 | 2,1 |
| 23 | Σταφίδα ψημένη σκέτη, 40 min | ST40_1 | 2,1 |
| 24 | Σταφίδα ψημένη σκέτη, 40 min | ST40_2 | 2,1 |
| 25 | Σταφίδα ψημένη σκέτη, 50 min | ST50_1 | 1,9 |
| 26 | Σταφίδα ψημένη σκέτη, 50 min | ST50_2 | 1,9 |
| 27 | Σταφίδα πρώτη ύλη | DST1 | 6,5 |
| 28 | Σταφίδα πρώτη ύλη | DST2 | 6,5 |
| 29 | Σταφίδα μετά από έκπλυση | WST1_1 | 11,9 |
| 30 | Σταφίδα μετά από έκπλυση | WST1_2A | 11,0 |
| 31 | Σταφίδα μετά από έκπλυση | WST1_2 | 11,0 |
| 32 | Σταφίδα μετά από έκπλυση | WST2_1 | 11,6 |
| 33 | Σταφίδα μετά από έκπλυση | WST2_2 | 12,2 |
| 34 | Σταφίδα τελικό προϊόν | ST1 | 4,6 |
| 35 | Σταφίδα τελικό προϊόν | ST2 | 4,6 |
| 36 | Σταφύλι | GRAP2 | 71,8 |
| 37 | Σταφύλι | GRAP3 | 71,5 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 38 | Σταφύλι | GRAP4 | 71,1 |
| 39 | Σταφύλι | GRAP5 | 71,8 |

## 4.6. Επιλογή της μεθόδου παραλαβής πολυφαινολών από τη σταφίδα

Προκειμένου να καταλήξουμε στη μέθοδο παραλαβής του πολυφαινολικού περιεχομένου της σταφίδας χρησιμοποιήθηκαν 2 διαφορετικά συστήματα εκχύλισης:

α) Εκχύλιση με Μεθανόλη

β) Εκχύλιση με Μεθανόλη / Ακετόνη / Νερό (7:2:1).

Με κάθε ένα από τα παραπάνω συστήματα εκχύλισης συλλέχθηκαν μαζί τα εκχυλίσματα από 4 διαδοχικές εκχυλίσεις, ενώ μια 5$^{η}$ εκχύλιση συλλέχθηκε χωριστά για τον έλεγχο της πλήρους παραλαβής των πολυφαινολών με το κάθε σύστημα εκχύλισης.

## 4.7. Παραλαβή πολυφαινολικών συστατικών

1. Σε δοκιμαστικό σωλήνα με βιδωτό πώμα ζυγίζεται από κάθε δείγμα σταφίδας, ποσότητα ίση με 0,5 g με ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων.
2. Στο δείγμα προστίθεται μεθανόλη /ακετόνη /νερό (7:2:1) (5 mL).
3. Ο δοκιμαστικός σωλήνας πωματίζεται και ακολουθεί ισχυρή ανάδευση σε συσκευή Vortex για 1 min.
4. Ακολουθεί ανάδευση του δείγματος σε μαγνητικό αναδευτήρα για μια νύχτα.
5. Επαναλαμβάνεται ισχυρή ανάδευση σε συσκευή Vortex για 1 min
6. Το δείγμα τοποθετείται στη συσκευή υπερήχων για 10 min.
7. Το δείγμα φυγοκεντρείται για 5 min στις 3000 στροφές.
8. Το υπερκείμενο παραλαμβάνεται με πιπέτα Pasteur και μεταφέρεται σε άλλο, όμοιο σωληνάκι και αυτό τοποθετείται για συμπύκνωση στο speed vac.
9. Στο απομένον δείγμα του σταδίου 8 προστίθεται μεθανόλη (5 mL) και επαναλαμβάνονται τα στάδια 5-8

10. Η διαδικασία 9 επαναλαμβάνεται για 4 ακόμη φορές (εκχύλιση 5 φορές επί συνόλου).
11. Το δείγμα συμπυκνώνεται μέχρι μικρού όγκου (περίπου 0,3 mL) και αναδιαλύεται μέχρι τελικού όγκου 1 mL με νερό δις απεσταγμένο. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται με τη βοήθεια ενός όμοιου σωλήνα με το σωλήνα συλλογής, τον οποίο γεμίζουμε με 1 mL $H_2O$ και συγκρίνουμε τους όγκους. Ακολουθεί ισχυρή ανάδευση στο Vortex και χρήση υπερήχων μέχρι το δείγμα να ομογενοποιηθεί.
12. Η ανωτέρω διαδικασία (στάδια 1-11) επαναλαμβάνεται 2 φορές για κάθε δείγμα (εις διπλούν). Για τα δείγματα σταφυλιού η διαδικασία επαναλήφθηκε 4 φορές.

## 4.8. Διαδικασία παραλαβής πολυφαινολών για την κατασκευή καμπύλης αναφοράς σε υπόστρωμα δείγματος

Για τη διαδικασία κατασκευής καμπύλης αναφοράς πολυφαινολών στο υπόστρωμα σταφίδας ζυγίζονται 0,5 gr σταφίδας από 4 διαφορετικές λυοφιλοποιήσεις, εις διπλούν (επί συνόλου 8 δείγματα). Ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφεται στην § 4.7 (στάδια 1 – 10) με τη διαφορά ότι τα εκχυλίσματα συλλέγονται σε σφαιρική φιάλη 500 mL και ακολουθεί συμπύκνωση σε συσκευή rotary evaporator μέχρι μικρού όγκου. Ακολούθως λαμβάνεται χώρα μεταφορά σε δοκιμαστικό σωλήνα με βιδωτό πώμα, εξάτμιση του διαλύτη μέχρι μικρού όγκου (~ 2 mL) και αναδιάλυση σε τελικό όγκο 8 mL.

## 4.9. Εξάτμιση διαλυτών

1. Εξάτμιση σε συσκευή speed vac: Το δείγμα μεταφέρεται στη συσκευή εξάτμισης speed vac όπου και εξατμίζεται μέχρι ξηρού υπό θερμοκρασία 47 $^{o}$C.
2. Εξάτμιση σε περιστροφικό εξατμιστήρα: Η σφαιρική φιάλη που περιέχει το εκχύλισμα τοποθετείται στη συσκευή rotary evaporator, όπου ισχύουν οι εξής συνθήκες: Θ= 40 $^{o}$ C, P=300 mBar. Όταν στη σφαιρική φιάλη

απομείνουν ~2-3 mL εκχυλίσματος, γίνεται μεταφορά σε δοκιμαστικό σωλήνα με βιδωτό πώμα. Ακολουθεί έκπλυση της φιάλης με 4x2 mL μεθανόλης τα οποία μεταφέρονται στο δοκιμαστικό σωλήνα συλλογής και το σωληνάκι συμπυκνώνεται κι αυτό μέχρι ξηρού στη συσκευή εξάτμισης speed vac.

## 4.10. Καθαρισμός πολυφαινολικών εκχυλισμάτων σταφίδας. Εκχύλιση στερεής φάσης (SPE)

Προετοιμασία της στήλης:

- Η στήλη C-8 τοποθετείται στη συσκευή SPE

-Γίνεται *καθαρισμός* και ενεργοποίηση της στήλης με τη χρήση οργανικών διαλυτών (3mL EtOAc και 3 mL MeOH)

-Ακολουθεί *εξισορρόπηση* της στήλης με απιονισμένο νερό (5 mL), αφού το δείγμα που τοποθετούμε στη συνέχεια στη στήλη είναι διαλυμένο σε νερό. Η στήλη είναι έτοιμη για χρήση όταν το νερό φθάσει οριακά στο προσροφητικό υλικό (δεν αφήνουμε τη στήλη να στεγνώσει).

Ανάλυση δείγματος:

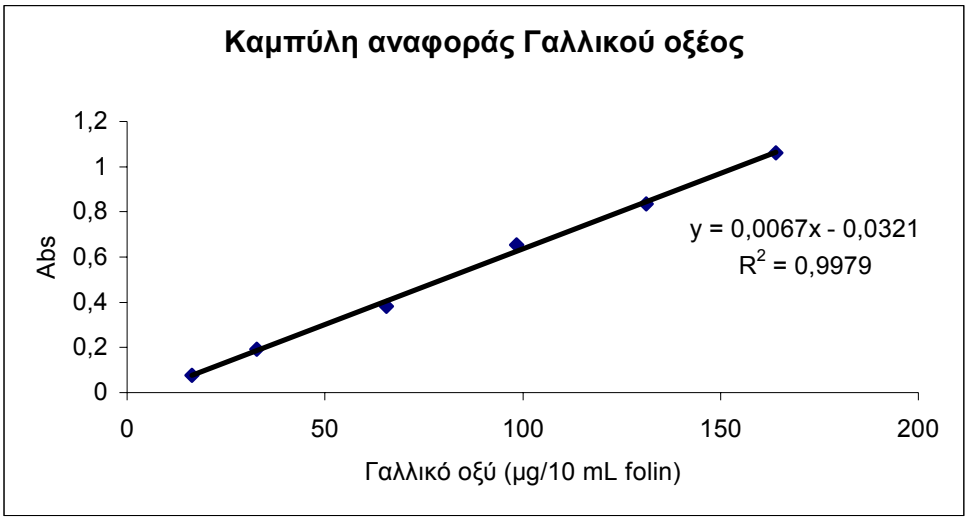
1. Εκχύλισμα σταφίδας (0,5 mL) που έχει παρασκευαστεί και κατεργαστεί όπως περιγράφεται στην § 4.7, τοποθετείται στη στήλη πάνω από σωλήνα συλλογής.
2. Αφήνεται να διέλθει εξ ολοκλήρου από τη στήλη
3. Εφαρμόζεται στη συσκευή κενό μέσω αντλίας ξήρανσης ώστε να στεγνώσει εντελώς η στήλη και να απομακρυνθούν όλα τα μη προσροφημένα συστατικά.
4. Τοποθετείται νέος σωλήνας συλλογής και προστίθεται οξικός αιθυλεστέρας (3 mL) προκείμενου να παραληφθούν τα πολυφαινολικά συστατικά.
5. Η διέλευση του οξικού αιθυλεστέρα από τη στήλη γίνεται αρχικά με την επίδραση της βαρύτητας και στη συνέχεια με χρήση κενού (αντλία ξήρανσης). Το δείγμα μεταφέρεται σε νέους δοκιμαστικούς σωλήνες, ενώ οι δοκιμαστικοί σωλήνες συλλογής εκπλένονται με 2*1 mL EtOAc.
6. Ακολουθεί συμπύκνωση του διαλύτη σε speed vac. και αναδιάλυση σε μεθανόλη (0,5 mL)

## 4.11. Φωτομετρικοί προσδιορισμοί

Για την πραγματοποίηση των φωτομετρικών προσδιορισμών χρησιμοποιήθηκαν 100 μL υδατικού διαλύματος του δείγματος (βλέπε § 4.7, στάδιο 11) τα οποία τοποθετήθηκαν σε vial. Το περιεχόμενο του vial συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού υπό ρεύμα αζώτου και στη συνέχεια έλαβε χώρα αναδιάλυση σε μεθανόλη (500 μL) (αραίωση του δείγματος της § 4.7 1:5). Το δείγμα μετά από ανάδευση σε Vortex αποδείχτηκε θολό γι' αυτό και προχωρήσαμε σε διήθηση του δείγματοςαπό ηθμούς 0,20 μm πριν τη χρήση του.

### 4.11.1. Προσδιορισμός του συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin-Ciocalteau

1. Σε δοκιμαστικό σωλήνα των 10 mL τοποθετούνται 100 μL (§ 4.7) αραιωμένου δείγματος και προστίθεται απιονισμένο νερό (5 mL) και αντιδραστήριο Folin-Ciocalteau (0,5 mL). Ανακινούμε καλά και αναμένουμε 3 min.
2. Προστίθεται κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου ($Na_2CO_3$, 35%w/v, 1 mL) και το όλο συμπληρώνεται μέχρι τελικού όγκου 10 mL με απιονισμένο νερό (3,4 mL απιονισμένο νερό).
3. Τα δείγματα παραμένουν στο σκοτάδι για 1 ώρα.
4. Ακολουθεί ανάδευση των δειγμάτων, τοποθέτηση σε κυψελίδες και φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 725 nm.
5. Η συγκέντρωση των πολυφαινολών στο δείγμα υπολογίζεται με τη χρήση καμπύλης αναφοράς γαλλικού οξέος και εκφράζεται ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος (Gallic Acid Equivalent, GAE).

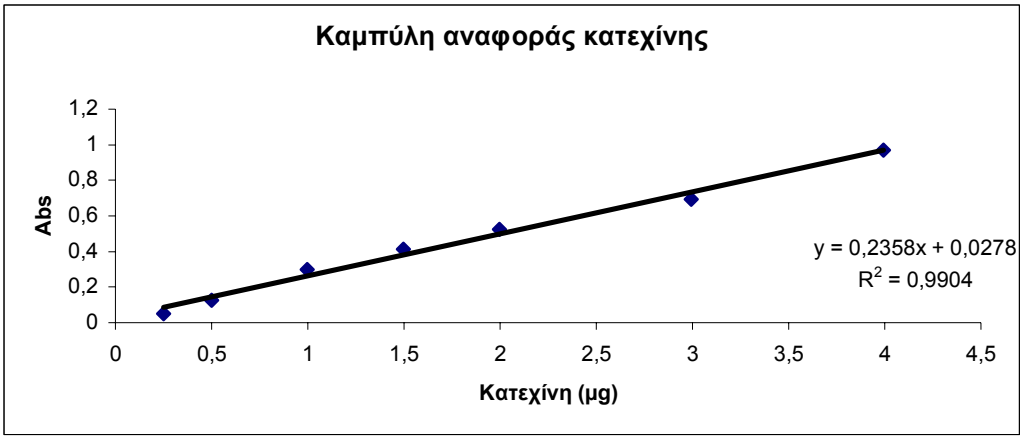



**Σχήμα 4.1. Καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος**

*Σημείωση:* Παράλληλα με τη παραπάνω επεξεργασία των δειγμάτων, πραγματοποιείται τυφλός προσδιορισμός, ακολουθώντας τα στάδια 2-5, με τη διαφορά ότι στο στάδιο 1 προστίθεται μεθανόλη (100 μL) αντί του δείγματος. Πριν ξεκινήσουμε τη διαδικασία της φωτομέτρησης μηδενίζουμε το φωτόμετρο με δύο τυφλά στις δύο θέσεις. Αφού μηδενίσουμε, αφαιρούμε το μπροστινό τυφλό δείγμα και σε εκείνη τη θέση τοποθετούμε το δείγμα που θέλουμε να φωτομετρήσουμε.

### 4.11.2. <u>Προσδιορισμός ολικών φλαβανολών</u>

1. Σε ένα Eppendorf αναμιγνύονται 100 μL αραιωμένου δείγματος (1:5 της § 4.7) και 100 μL MeOH αναλυτικής καθαρότητας. Ακολουθεί ανάδευση στο Vortex.
2. Από το παραπάνω εκ νέου αραιωμένο δείγμα λαμβάνουμε 100 μL σε ένα νέο vial και προσθέτουμε σ' αυτό 500 μL διαλύματος HCl και 500 διαλύματος μL DMACA.
3. Αφήνουμε το δείγμα να αντιδράσει για 5 min στο σκοτάδι. Παρουσία φλαβανολών το διάλυμα χρωματίζεται πράσινο.
4. Φωτομετρούμε στα 640 nm.
5. Η συγκέντρωση φλαβανολών στο δείγμα υπολογίζεται με χρήση καμπύλης αναφοράς κατεχίνης και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mg ισοδυνάμων κατεχίνης/ 100 gr νωπού βάρους.

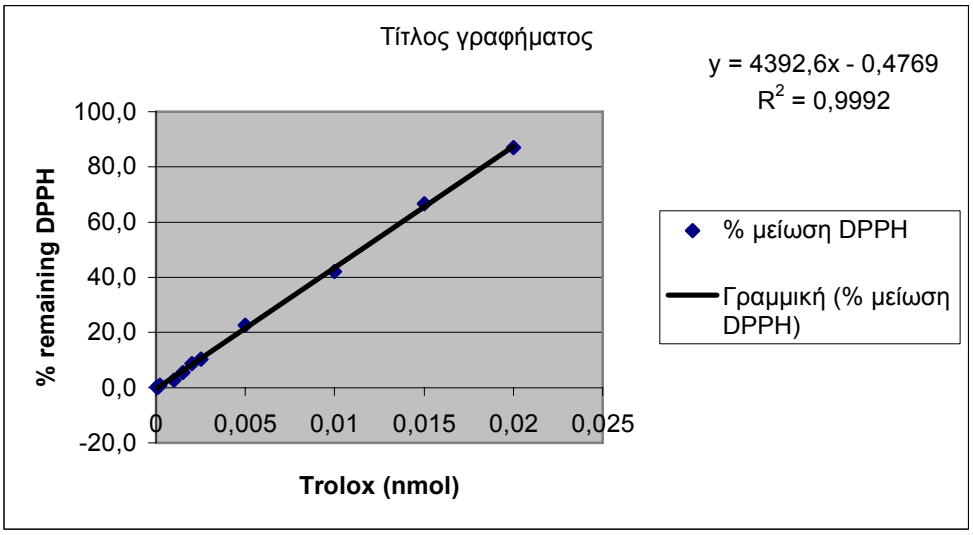



**Σχήμα 4.2. Καμπύλη αναφοράς κατεχίνης**

*Σημείωση:* Πριν προχωρήσουμε στη φωτομέτρηση μηδενίζουμε το φωτόμετρο με δύο τυφλά δείγματα. Στα τυφλά δείγματα αντί δείγματος προσθέτουμε 100 μL MeOH (δηλαδή, συνολικά 200 μL MeOH). Τα υπόλοιπα συστατικά του δείγματος παραμένουν τα ίδια. Αφού μηδενίσουμε, αφαιρούμε το μπροστινό τυφλό δείγμα και σε εκείνη τη θέση τοποθετούμε το δείγμα που θέλουμε να φωτομετρήσουμε.

### 4.11.3. <u>Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1- διφαίνυλο-2-πικρύλοϋδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH*)</u>

1. Το αραιωμένο δείγμα της § 4.7 αραιώνεται 1:1 με μεθανόλη (25 μL από το δείγμα και προσθέτουμε 25 μL μεθανόλη). Ακολουθεί ανάδευση σε Vortex.
2. Σε νέο δοχείο Eppendorf τοποθετούνται με πιπέττα όγκου 25 μL από το αραιωμένο δείγμα του προηγούμενου δείγματος. Από το διάλυμα αυτό λαμβάνονται 25 μL και τοποθετούνται σε νέο Eppendorf. Ακολουθεί προσθήκη 975 μL DPPH 0,06 mM και ανάδευση στο Vortex.
3. Το δείγμα αφήνεται ν' αντιδράσει για 30 min στο σκοτάδι.
4. Τοποθετούμε τα δείγματα σε κυψελίδες και φωτομετρούμε στα 515 nm.
5. Παράλληλα κατασκευάζεται καμπύλη αναφοράς Trolox (ανάλογο της Βιταμίνης Ε με ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH) και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα Trolox.



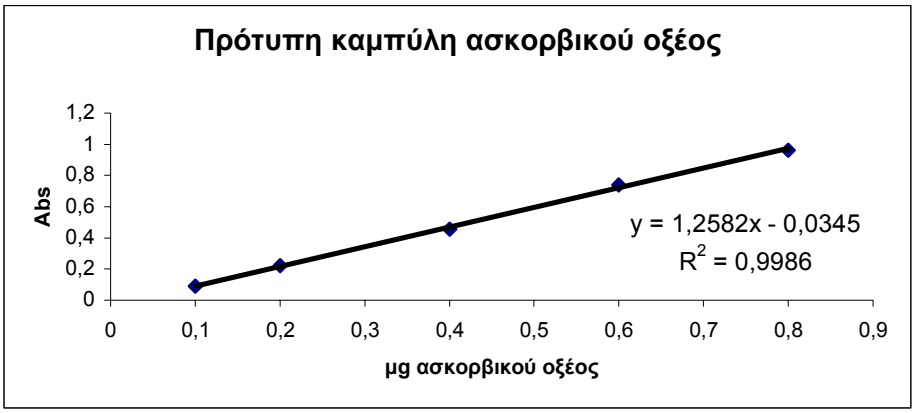

**Σχήμα 4.3.**

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

### 4.11.4. Προσδιορισμός αναγωγικής δύναμης εκχυλίσματος σταφίδας μέσω αναγωγής $Fe^{+3}$ σε $Fe^{+2}$

1. Σε ένα Eppendorf αναμιγνύονται 50 μL δείγματος και 50 μL MeOH αναλυτικής καθαρότητας. Ακολουθεί ανάμιξη στο Vortex.
2. Σε ένα νέο Eppendorf λαμβάνονται 50 μL από το αραιωμένο δείγμα του προηγούμενο βήματος και σ' αυτά προστίθενται 50 μL $FeCl_3$.
3. Το μίγμα επωάζεται για 30 min σε υδατόλουτρο 37$^{o}$C.
4. Στο επωασμένο δείγμα προστίθενται 900 μL TPTZ 1mM. Ο $Fe^{+2}$ που έχει προκύψει δημιουργεί έγχρωμο (μπλε) σύμπλοκο με το TPTZ.
5. Το δείγμα παραμένει για 10 min στο σκοτάδι και ακολουθεί μέτρηση της απορρόφησης στα 620 nm.

6. Παράλληλα κατασκευάζεται καμπύλη αναφοράς Βιταμίνης C (η Βιταμίνη C ανάγει το $Fe^{3+}$ σε $Fe^{2+}$) και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα ασκορβικού οξέος.




**Σχήμα 4.4. Πρότυπη καμπύλη ασκορβικού οξέος 1**

*Σημείωση:* Παρασκευάζουμε δύο τυφλά για κάθε δείγμα. Στα τυφλά δείγματα αντί για 50 μL $FeCl_3$ προσθέτουμε 50 μL απεσταγμένο νερό. Η αραίωση γίνεται 1:1 με μεθανόλη όπως και στα δείγματα προς ανάλυση (50 μL δείγμα και 50 μL MeOH. Vortex. 50 μL απ' αυτό για το πρώτο τυφλό, τα υπόλοιπα 50 μL για το δεύτερο τυφλό). Πριν προχωρήσουμε στη φωτομέτρηση ενός δείγματος μηδενίζουμε το φωτόμετρο με τα δύο τυφλά δείγματα του. Αφού μηδενίσουμε, αφαιρούμε το μπροστινό τυφλό δείγμα και σε εκείνη τη θέση τοποθετούμε το δείγμα που θα φωτομετρήσουμε.

## 4.12. Ανάλυση των εκχυλισμάτων σταφίδας με HPLC χρωματογραφία

Στα δείγματα σταφίδας και σταφυλιού που μελετήθηκαν έγινε ανάλυση με χρωματογραφία HPLC. Τα δείγματα ελήφθησαν όπως περιγράφεται στην § 4.7 και πριν την ανάλυση διηθήθηκαν από φίλτρο 0,20 mM.

Μέθοδος Ανάλυσης HPLC: Χρωματογραφία HPLC αναστρόφου φάσεως με βαθμιδωτή έκλουση.

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

Ανιχνευτής: UV-Vis σειράς φωτοδιοδίων (DAD 214, 280, 254, 330 nm) και φθορισμομετρικός ανιχνευτής (0-23min: λex=275 nm, λem=360 nm, 23-37min:

λex=260 nm, λem=420 nm, 37-45min: λex=295 nm, λem=330 nm, 45-62min: λex=281 nm, λem=316 nm, 62-90min: λex=265 nm, λem=420 nm)

Ροή διαλυτών: 1 mL/min

Πρόγραμμα Βαθμιδωτής Έκλουσης:

| **Χρόνος (min)** | **%A** | **%B** |
|---|---|---|
| Αρχικές συνθήκες | 90 | 10 |
| 10 | 82 | 18 |
| 20 | 72 | 28 |
| 25 | 72 | 28 |
| 42.5 | 69 | 31 |
| 45 | 66 | 34 |
| 55 | 66 | 34 |
| 60 | 60 | 40 |
| 62.5 | 60 | 40 |
| 70 | 30 | 70 |
| 80 | 20 | 80 |
| 90 | 90 | 10 |

A = υδατικό διάλυμα ορθοφωσφορικού οξέος με pH=3

B = Μεθανόλη,

Όγκος δείγματος έγχυσης: 10 μL.

### 4.13. <u>Ανίχνευση και ποσοτικός προσδιορισμός πολυφαινολών με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας – φασματομετρίας μάζας (GC-MS)</u>

Για την ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε το σύστημα αέριου χρωματογράφου- φασματομέτρου μαζών (GC-MSD) της Agilent (Wallborn, Germany) HP 6890-MSD 5973. Το φασματοφωτόμετρο μαζών που

χρησιμοποιήθηκε ως ανιχνευτής ήταν ηλεκτρονικού ιονισμού στα 70 eV. Επίσης για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν εισαγωγέας split-splitess και αυτόματος δειγματολήπτης HP 7683.

1. Πριν την ανάλυση, από τα εκχυλίσματα σταφίδας που ελήφθησαν όπως περιγράφεται στην § 4.10 λαμβάνονται σε vial 100 μL και προστίθενται 50 μL πρότυπου διαλύματος πολυφαινολών IS (παρασκευής 28/11/2005). Το όλο συμπυκνώνεται υπό ρεύμα αζώτου μέχρι ξηρού.
2. Ακολουθεί παραγωγοποίηση των δειγμάτων με προσθήκη BSTFA (250 μL), και θέρμανση σε υδατόλουτρο στους 70 $^{o}$C για 20 λεπτά (σιλυλίωση).
3. Ποσότητα του παραπάνω διαλύματος ίση με 1 μL εγχύεται στον αέριο χρωματογράφο σε λόγο σχάσης 1:20.
4. Το δείγμα διαχωρίζεται με τη χρήση τριχοειδούς στήλης HP-5 MS (5% φαίνυλο- 95% μέθυλο σιλοξάνιο, 30 m x 0,25 mm x 250 μ).
5. Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε ήλιο με ροή 0,6 mL / min.
6. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα και της γραμμής μεταφοράς ρυθμίστηκε στους 280 $^{o}$C και 300$^{o}$C αντίστοιχα.
7. Το πρόγραμμα της θερμοκρασίας του φούρνου ρυθμίστηκε ως εξής: Αρχικά εφαρμόζεται θερμοκρασία 70 $^{o}$C για 5 λεπτά. Ακολουθεί αύξηση από τους 70$^{o}$C στους 130 $^{o}$C με ρυθμό 15 $^{o}$C / λεπτό, από τους 130 $^{o}$C στους 170 $^{o}$C με ρυθμό 4 $^{o}$C / λεπτό οποία και διατηρείται για 15 λεπτά και τελικά ακολουθεί αύξηση από τους 170 $^{o}$C στους 300 $^{o}$C με ρυθμό 10 $^{o}$C / λεπτό, η οποία και διατηρείται για 15 λεπτά.
8. Για το προσδιορισμό των 25 πολυφαινολικών συστατικών και των τερπενοϊδών που ελέγχονται χρησιμοποιείται η μέθοδος selective ion monitoring (SIM) GC / MS.

Ο προσδιορισμός των πολυφαινολών βασίζεται στη παρουσία 2 ή 3 ιόντων για κάθε πολυφαινόλη σε χρόνο κατακράτησης ±0,05 του χρόνου κατακράτησης του αντίστοιχου προτύπου. Το ιόν στο οποίο βασίστηκε ο ποσοτικός προσδιορισμός συμβολίζεται με Τ ενώ τα ιόντα που καταγράφονται για την επιβεβαίωση της παρουσίας κάθε πολυφαινόλης στο δείγμα συμβολίζονται με Q1 και Q2. Τα ιόντα που παρακολουθούνται (Τ, Q1, Q2) για καθεμία από τις 20 πολυφαινολικές ενώσεις είναι τα παρακάτω: βανιλλίνη: 194, 209, κινναμωμικό οξύ: 205, 220, τυροσόλη:179, 267, 282, p-υδροξυβενζοϊκό οξύ:267, 223, 193, p-υδροξυφαινυλοξικό: 252, 296, 281, βανιλλικό οξύ: 297, 267, 312, πρωτοκατεχικό

οξύ: 193, 355, 370, ομοβανιλλικό οξύ:326, 267, 311, p-κουμαρικό οξύ: 308, 293, 147, γαλλικό οξύ: 281, 458, 443, φερουλικό οξύ: 338, 323, 308, συριγγικό οξύ: 327, 342, 312, καφεϊκό οξύ: 396, 219, 381, ρεσβερατρόλη: 444, 445, 443, επικατεχίνη: 368, 355, 474, κατεχίνη:368, 355, 474, καμπφερόλη: 599, 560, χλωρογενικό οξύ: 345, 307, 324, κερκετίνη: 647, 559, 575. Η 3-(4-υδρόξυφαινυλ)-1- προπανόλη χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικό πρότυπο στο κύριο ιόν m/ z 206 και βοηθητικά ιόντα τα m/ z 191 και 179. Επίσης πραγματοποιήθηκε ο εντοπισμός και ο προσδιορισμός ενός τερπενοειδούς, του ολεανολικού οξέος: 203, 320, 482.

## 4.14. Καμπύλες αναφοράς για τον ποσοτικό προσδιορισμό πολυφαινολών

Προκειμένου να πραγματοποιηθεί ο ποσοτικός προσδιορισμός των πολυφαινολών που ταυτοποιήθηκαν με GC - MS, χρησιμοποιήθηκαν καμπύλη αναφοράς πολυφαινολών οι οποίες κατασκευάστηκαν με προσθήκη 5 διαφορετικών συγκεντρώσεων πολυφαινολών σε υπόστρωμα εκχυλίσματος σταφίδας. Καθώς για τον καθαρισμό του εκχυλίσματος σταφίδας από παρεμποδίζοντα συστατικά έλαβε χώρα εκχύλιση SPE, τα διαλύματα των προτύπων πολυφαινολών υποβλήθηκαν και αυτά στην ανωτέρω διαδικασία. Το δείγμα εκχυλίσματος σταφίδας που χρησιμοποιήθηκε ήταν αυτό της § 4.8. Παρασκευάστηκε πρότυπο διάλυμα μίγματος πολυφαινολών σε μεθανόλη το οποίο περιείχε τις πολυφαινόλες - στόχους στις συγκεντρώσεις που φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

**Πίνακας 4.2. Ποσότητες πολυφαινολών που ζυγίστηκαν και συγκεντρώσεις διαλυτών που παρασκευάστηκαν. (Ως Α χαρακτηρίστηκε διάλυμα του μίγματος πολυφαινολών από το οποίο ελήφθησαν κατάλληλοι όγκοι για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς)**

| Πολυφαινόλη | m (mg) | C (mg/mL) | A (μg/mL) |
|---|---|---|---|
| **1) Βανιλίνη** | 4,8 | 0,96 | 1,92 |
| **2) Κινναμωμικό οξύ** | 5,0 | 1,00 | 2,00 |
| **3) Τυροσόλη** | 4,8 | 0,96 | 0,96 |
| **4) Ρ-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ** | 5,1 | 1,02 | 2,04 |
| **5) Ρ υδροξυ-φαινολικό οξύ** | 5,5 | 1,10 | 2,20 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| **6) Ομοβανιλική αλκοόλη** | 4,8 | 0,96 | 0,96 |
| **7) Φλωρετικό οξύ** | 5,1 | 1,02 | 1,02 |
| **8) Βαννιλικό οξύ** | 5,9 | 1,18 | 11,8 |
| **9) Ομοβαννιλικό οξύ** | 4,9 | 0,98 | 1,96 |
| **10) Ο-κουμαρικό οξυ** | 4,8 | 0,96 | 1,92 |
| **11) Πρωτοκατεχικό οξύ** | 4,8 | 0,96 | 4,80 |
| **12) 3-4, - Δι-υδροξυ-φαινολικό οξύ** | 5,4 | 1,08 | 1,08 |
| **13) Συριγγικό οξύ** | 5,6 | 1,12 | 5,60 |
| **14) p-Κουμαρικό οξύ** | 5,1 | 1,02 | 5,10 |
| **15) Γαλλικό οξύ** | 5,0 | 1,00 | 5,00 |
| **16) Φερουλικό οξύ** | 5,3 | 1,06 | 5,30 |
| **17) Καφεϊκό οξύ** | 5,1 | 1,02 | 5,10 |
| **18) Σιναπικό οξύ** | 5,1 | 1,02 | 2,04 |
| **19) Ρεσβερατρόλη** | 4,8 | 0,96 | 0,96 |
| **20) Επικατεχίνη** | 6,6 | 1,32 | 6,60 |
| **21) Κατεχίνη** | 4,7 | 0,94 | 4,70 |
| **22) Καμπφερόλη** | 4,9 | 0,98 | 0,98 |
| **23) Χλωρογενικό οξύ** | 4,9 | 0,98 | 9,80 |
| **24) Κερκετίνη** | 4,9 | 0,98 | 4,90 |
| **25) Μυρισετίνη** | 5,3 | 1,06 | 5,30 |
| **26) 3-4, δι-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ** | 5,3 | 1,06 | 2,12 |

Από το εκχύλισμα σταφίδας (βλέπε § 4.7) παραλήφθηκαν 10 δείγματα όγκου 0,5 mL τα οποία τοποθετήθηκαν σε 10 δοκιμαστικούς σωλήνες με βιδωτό πώμα. Ακολούθησε προσθήκη προτύπου διαλύματος μίγματος πολυφαινολών σε όγκους που αναγράφονται στον Πίνακα 4.2 ούτως ώστε να αντιστοιχούν σε 5 διαφορετικές ποσότητες πολυφαινολών (ng), όπως φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

**Πίνακας 4.3. Ποσότητες πολυφαινολών που προστέθηκαν σε υπόστρωμα σταφίδας για την κατασκευή καμπύλης αναφοράς (Η ανάλυση έλαβε χώρα στο 1/5 του δείγματος. Έτσι, η ποσότητα κάθε πολυφαινόλης που χρησιμοποιήθηκε ήταν υποπενταπλάσια αυτής που φαίνεται στον πίνακα)**

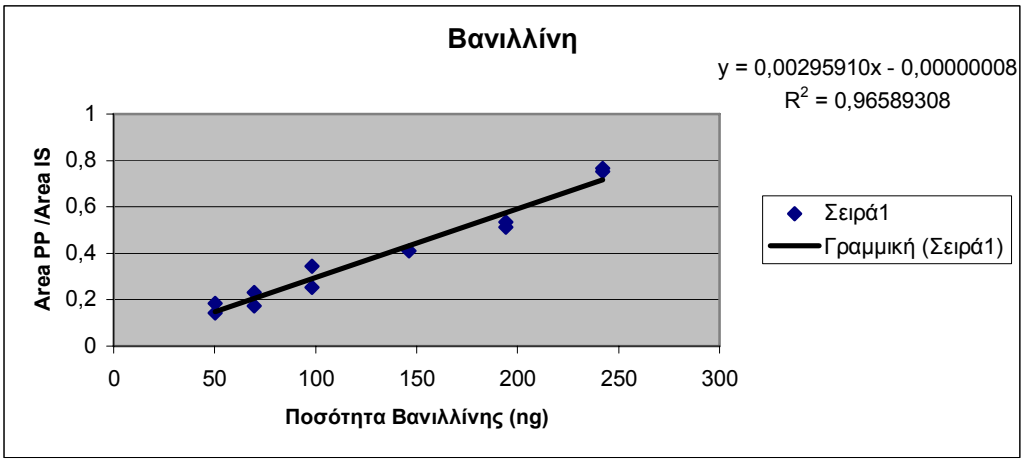
| Πολυφαινόλη | 1c (ng) | 2c (ng) | 3c (ng) | 4c (ng) | 5c (ng) |
|---|---|---|---|---|---|
| **1) Βανιλίνη** | 96 | 240 | 480 | 720 | 960 |
| **2) Κινναμωμικό οξύ** | 100 | 250 | 500 | 750 | 1000 |

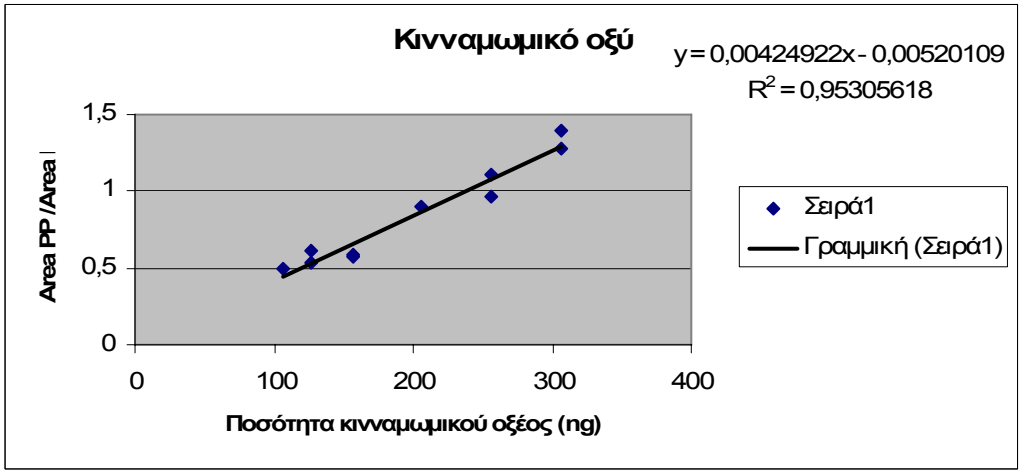
| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **3) Τυροσόλη** | 48 | 120 | 240 | 360 | 480 |
| **4) Ρ-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ** | 102 | 255 | 510 | 765 | 1020 |
| **5) Ρ υδροξυ-φαινολικό οξύ** | 110 | 275 | 550 | 825 | 1100 |
| **6) Ομοβανιλική αλκοόλη** | 48 | 120 | 240 | 360 | 480 |
| **7) Φλωρετικό οξύ** | 51 | 127,5 | 255 | 382,5 | 510 |
| **8) Βαννιλικό οξύ** | 590 | 1475 | 2950 | 4425 | 5900 |
| **9) Ομοβαννιλικό οξύ** | 98 | 245 | 490 | 735 | 980 |
| **10) Ο-κουμαρικό οξυ** | 96 | 240 | 480 | 720 | 960 |
| **11) Πρωτοκατεχικό οξύ** | 240 | 600 | 1200 | 1800 | 2400 |
| **12) 3-4, δι-υδροξυ-φαινολικό οξύ** | 54 | 135 | 270 | 405 | 540 |
| **13) Συριγγικό οξύ** | 280 | 700 | 1400 | 2100 | 2800 |
| **14) Ρ-κουμαρικό οξύ** | 255 | 637,5 | 1275 | 1912,5 | 2550 |
| **15) Γαλλικό οξύ** | 250 | 625 | 1250 | 1875 | 2500 |
| **16) Φερουλικό οξύ** | 265 | 662,5 | 1325 | 1987,5 | 2650 |
| **17) Καφεϊκό οξύ** | 255 | 637,5 | 1275 | 1912,5 | 2550 |
| **18) Σιναπικό οξύ** | 102 | 255 | 510 | 765 | 1020 |
| **19) Ρεσβερατρόλη** | 48 | 120 | 240 | 360 | 480 |
| **20) Επικατεχίνη** | 330 | 825 | 1650 | 2475 | 3300 |
| **21) Κατεχίνη** | 235 | 587,5 | 1175 | 1762,5 | 2350 |
| **22) Καμπφερόλη** | 49 | 122,5 | 245 | 367,5 | 490 |
| **23) Χλωρογενικό οξύ** | 490 | 1225 | 2450 | 3675 | 4900 |
| **24) Κερκετίνη** | 245 | 612,5 | 1225 | 1837,5 | 2450 |
| **25) Μυρισετίνη** | 265 | 662,5 | 1325 | 1987,5 | 2650 |
| **26) 3-4, δι-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ** | 21,2 | 53 | 106 | 159 | 212 |

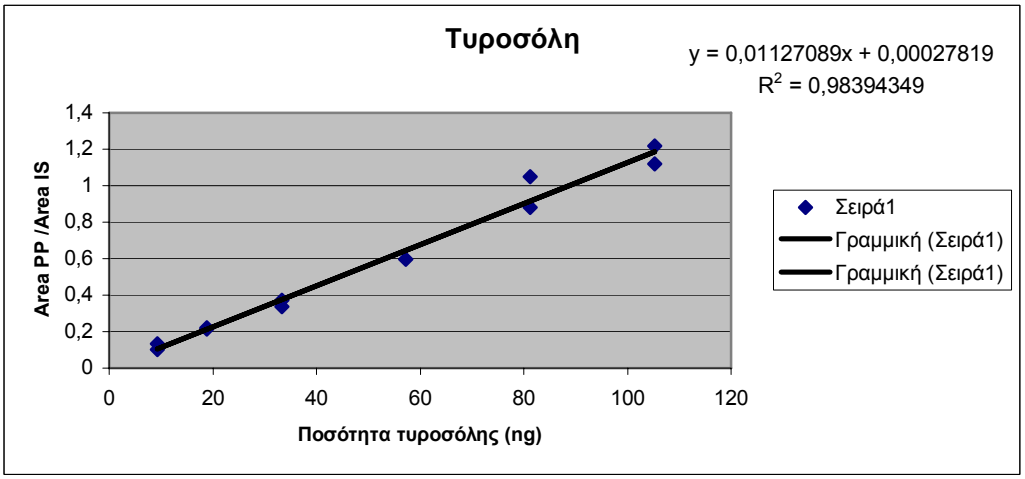
Ακολούθησε εξάτμιση της μεθανόλης SPE (διαδικασία § 4.10) και τέλος χρωματογραφία GC – MS (§ 4.12). Η όλη διαδικασία πραγματοποιήθηκε εις διπλούν. Παράλληλα έγινε ανάλυση εκχυλίσματος σταφίδας απουσία προστιθέμενων πολυφαινολών προκειμένου να καθοριστεί η ποσότητα κάθε πολυφαινόλης που προϋπήρχε στο δείγμα, η οποία και προστέθηκε στην

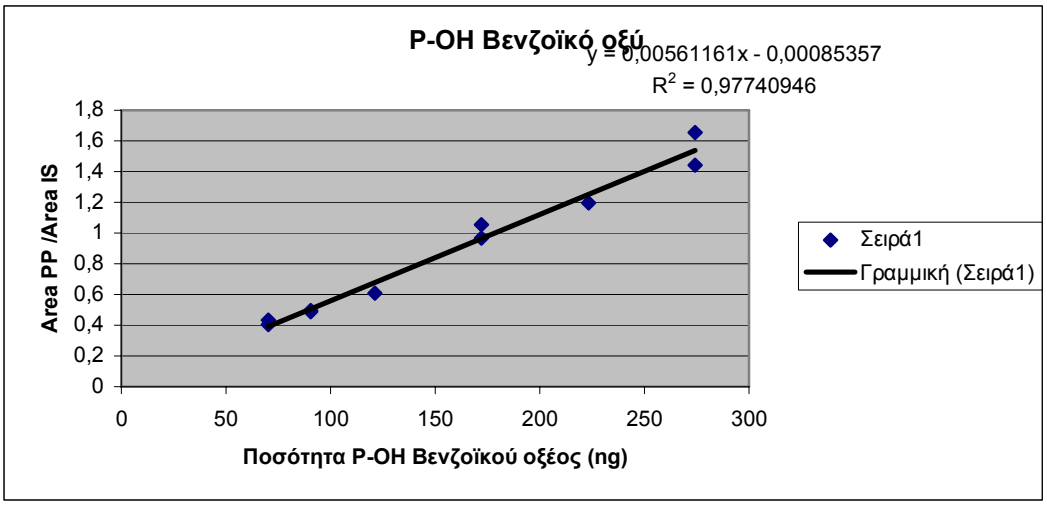
ποσότητα της κάθε πρότυπης πολυφαινόλης που είχε χρησιμοποιηθεί για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς.

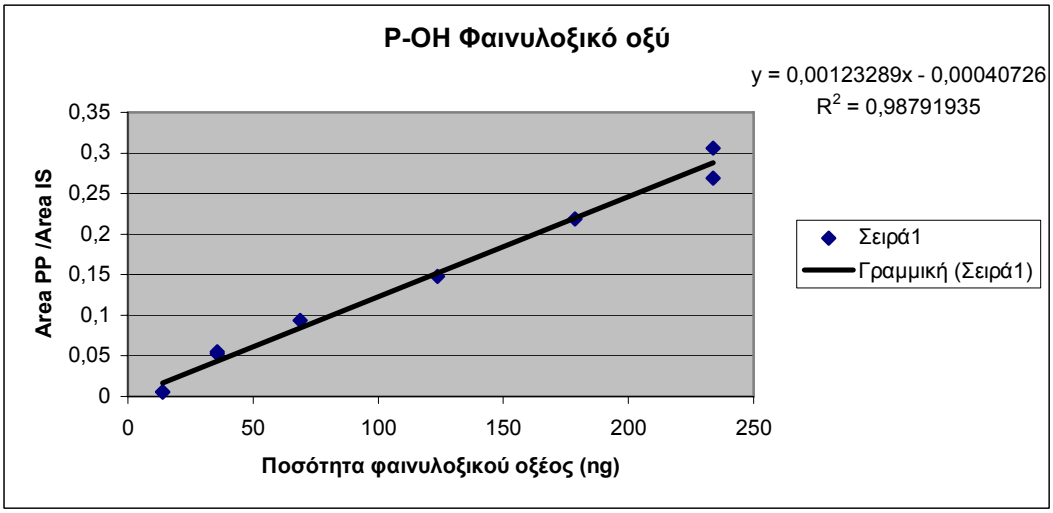
Οι καμπύλες αναφοράς κάθε πολυφαινόλης που παρασκευάστηκαν παρατίθενται κατωτέρω:

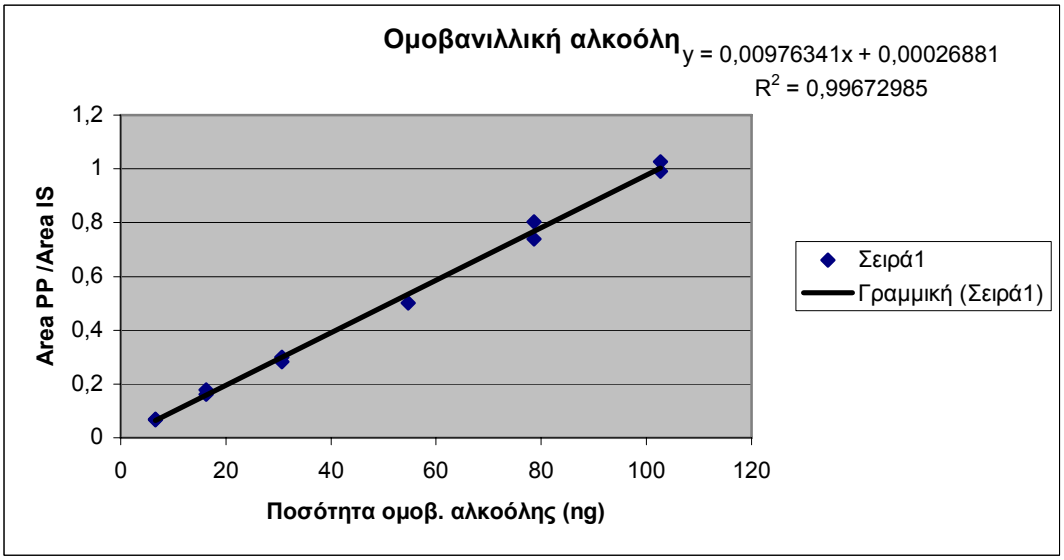


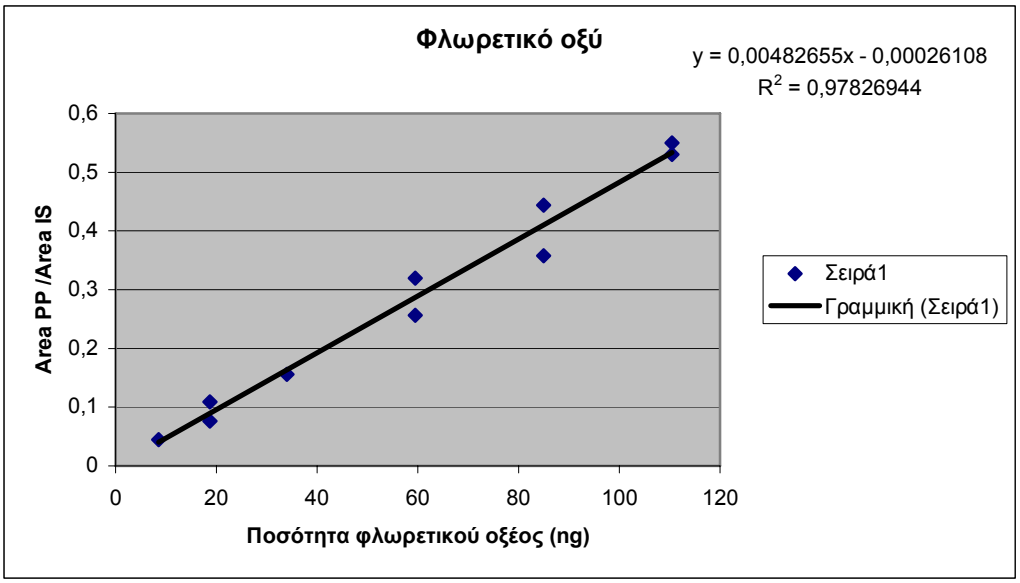



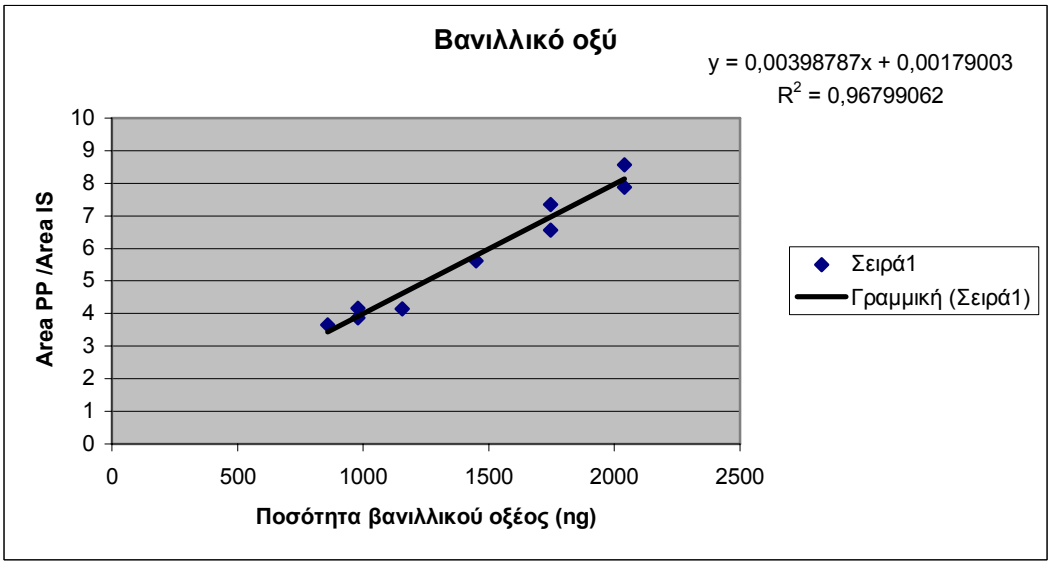



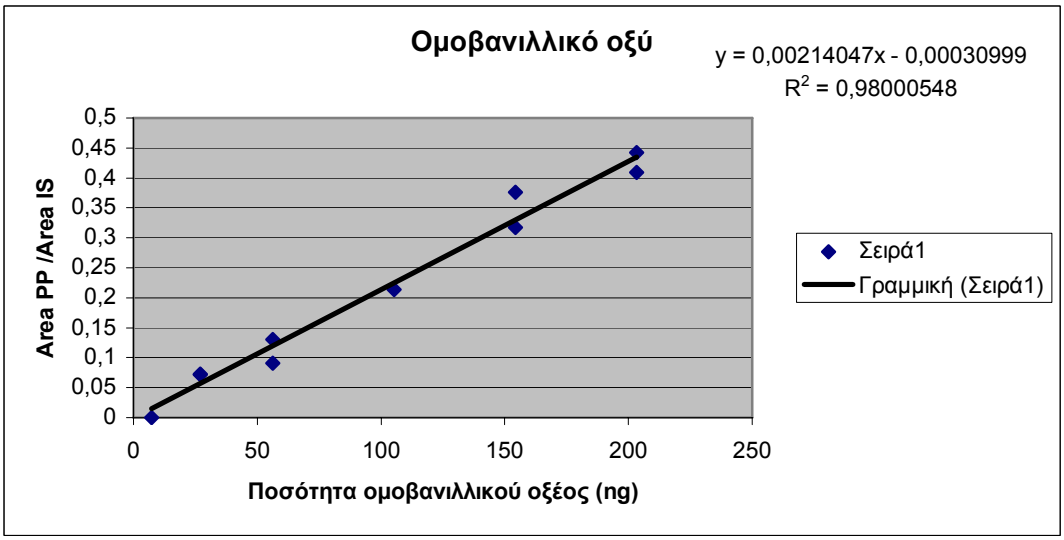

P-OH Βενζοϊκό οξύ
y = 0,00561161x - 0,00085357
R2 = 0,97740946
Area PP /Area IS
1,8
1,6
1,4
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
0
50
100
150
200
250
300
Ποσότητα P-OH Βενζοϊκού οξέος (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)

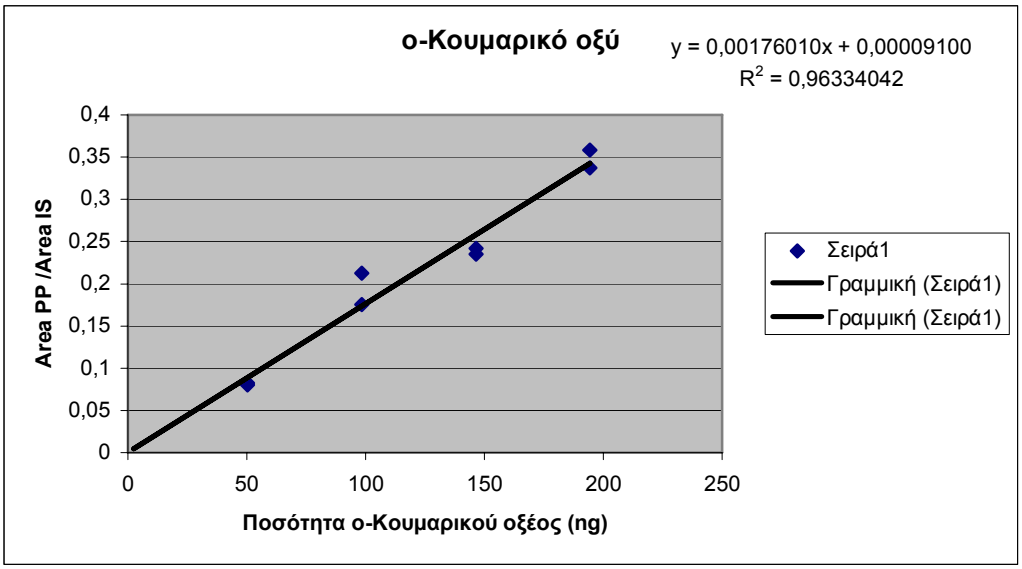

P-OH Φαινυλοξικό οξύ
y = 0,00123289x - 0,00040726
R2 = 0,98791935
Area PP /Area IS
0,35
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
0
50
100
150
200
250
Ποσότητα φαινυλοξικού οξέος (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)

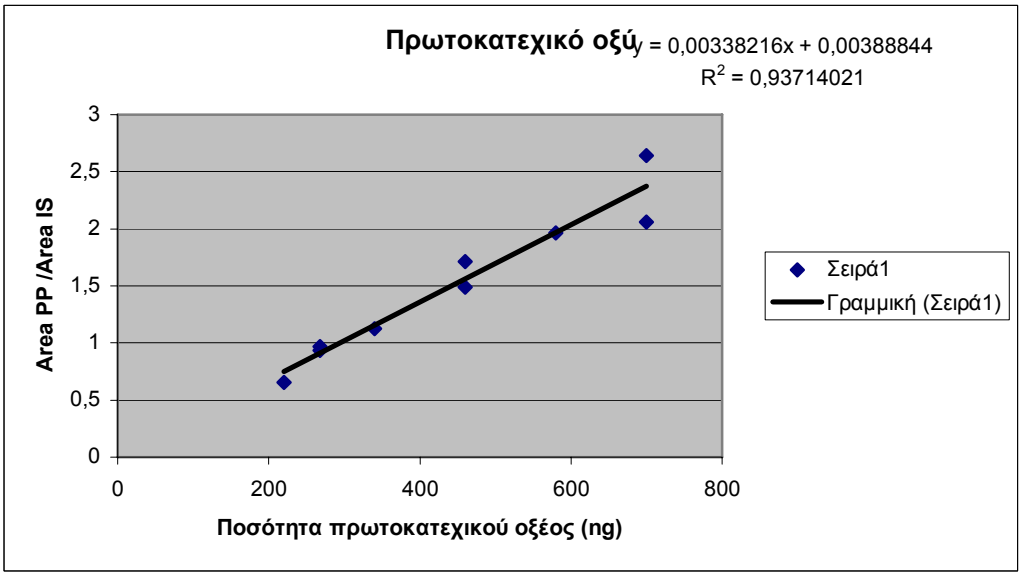

Ομοβανιλλική αλκοόλη
y = 0,00976341x + 0,00026881
R2 = 0,99672985
Area PP /Area IS
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
0
20
40
60
80
100
120
Ποσότητα ομοβ. αλκοόλης (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)

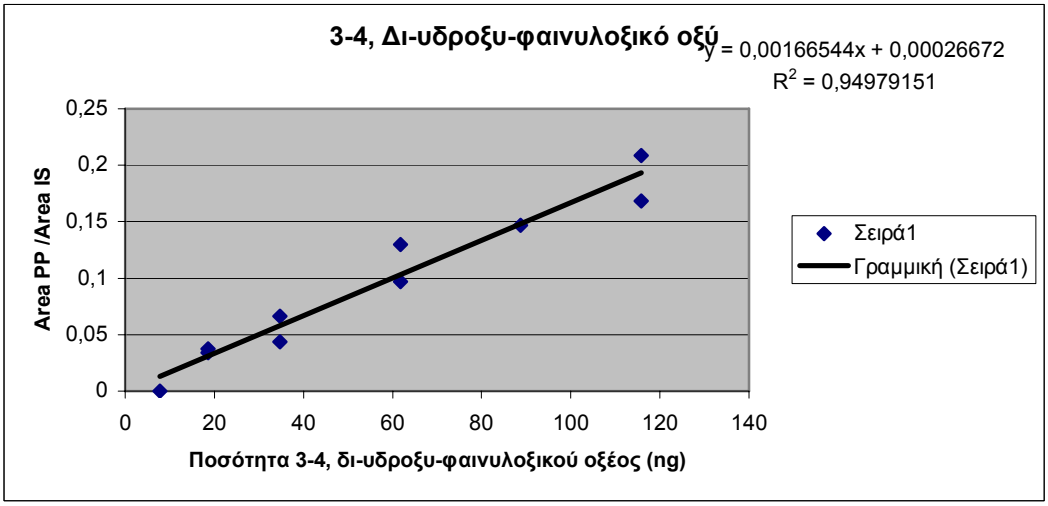

Φλωρετικό οξύ
y = 0,00482655x - 0,00026108
R2 = 0,97826944
Area PP /Area IS
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
0
20
40
60
80
100
120
Ποσότητα φλωρετικού οξέος (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)

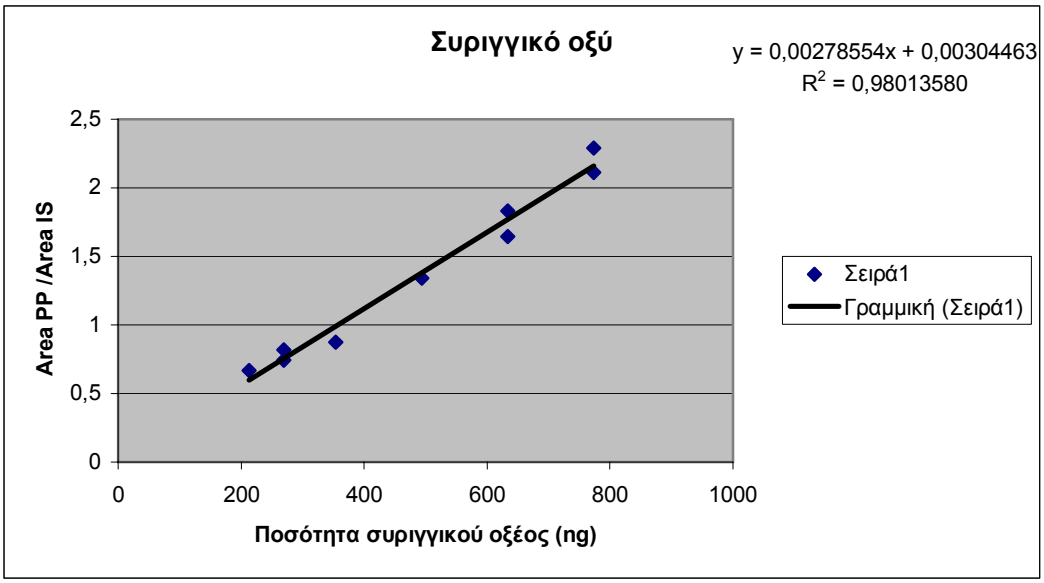

Βανιλλικό οξύ
y = 0,00398787x + 0,00179003
R2 = 0,96799062
Area PP /Area IS
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
0
500
1000
1500
2000
2500
Ποσότητα βανιλλικού οξέος (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)

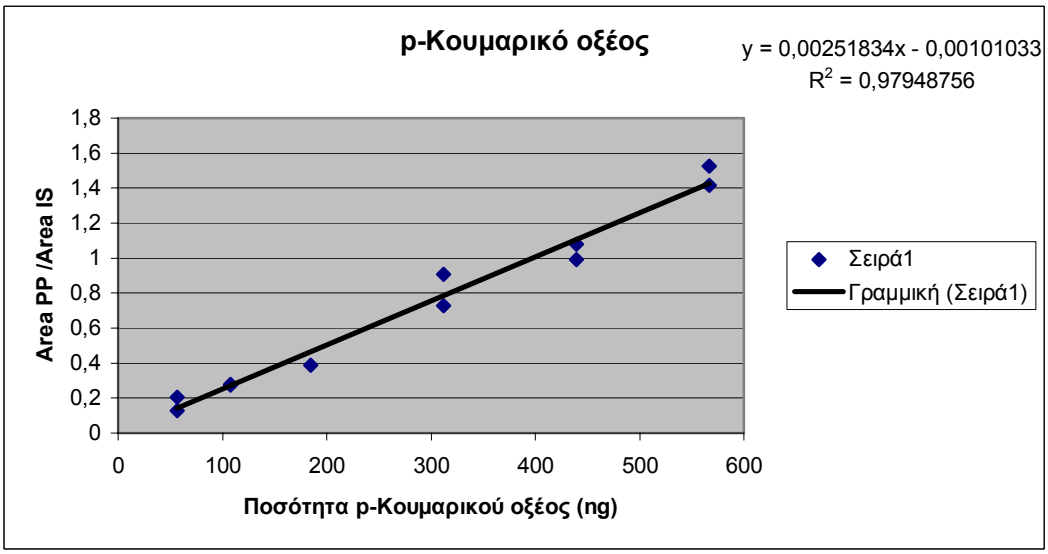

Ομοβανιλλικό οξύ
y = 0,00214047x - 0,00030999
R2 = 0,98000548
Area PP /Area IS
0,5
0,45
0,4
0,35
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
0
50
100
150
200
250
Ποσότητα ομοβανιλλικού οξέος (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)

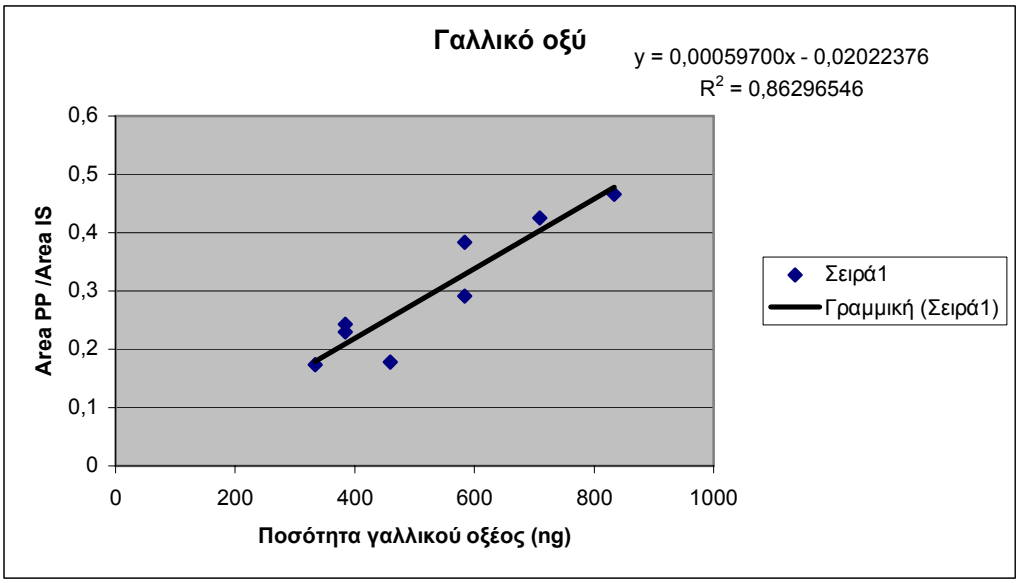

o-Κουμαρικό οξύ
y = 0,00176010x + 0,00009100
R2 = 0,96334042
Area PP /Area IS
0,4
0,35
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
0
50
100
150
200
250
Ποσότητα ο-Κουμαρικού οξέος (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)
Γραμμική (Σειρά1)

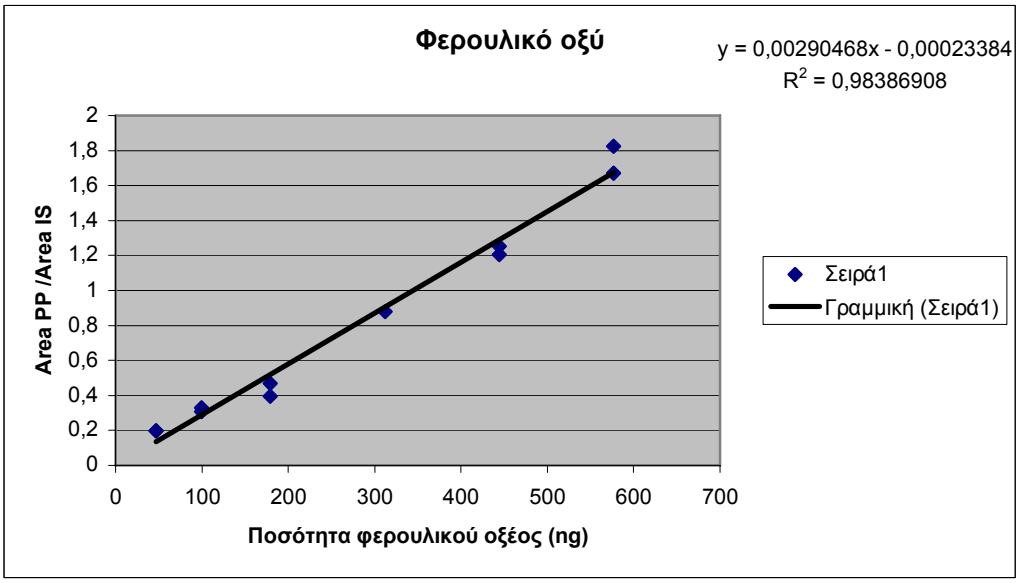

Πρωτοκατεχικό οξύ
y = 0,00338216x + 0,00388844
R2 = 0,93714021
Area PP /Area IS
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
0
200
400
600
800
Ποσότητα πρωτοκατεχικού οξέος (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)

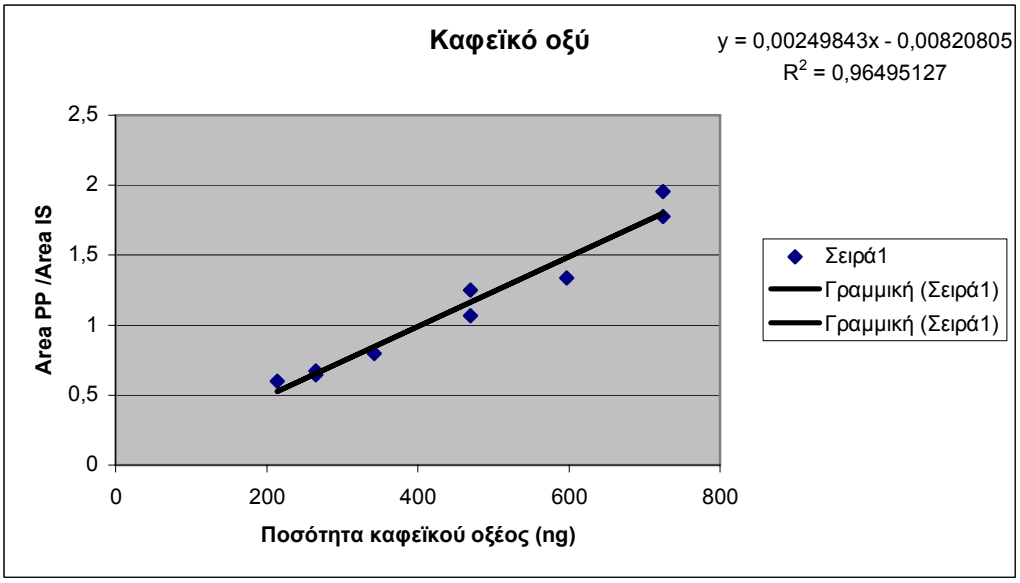

3-4, Δι-υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ
y = 0,00166544x + 0,00026672
R2 = 0,94979151
Area PP /Area IS
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
0
20
40
60
80
100
120
140
Ποσότητα 3-4, δι-υδροξυ-φαινυλοξικού οξέος (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)

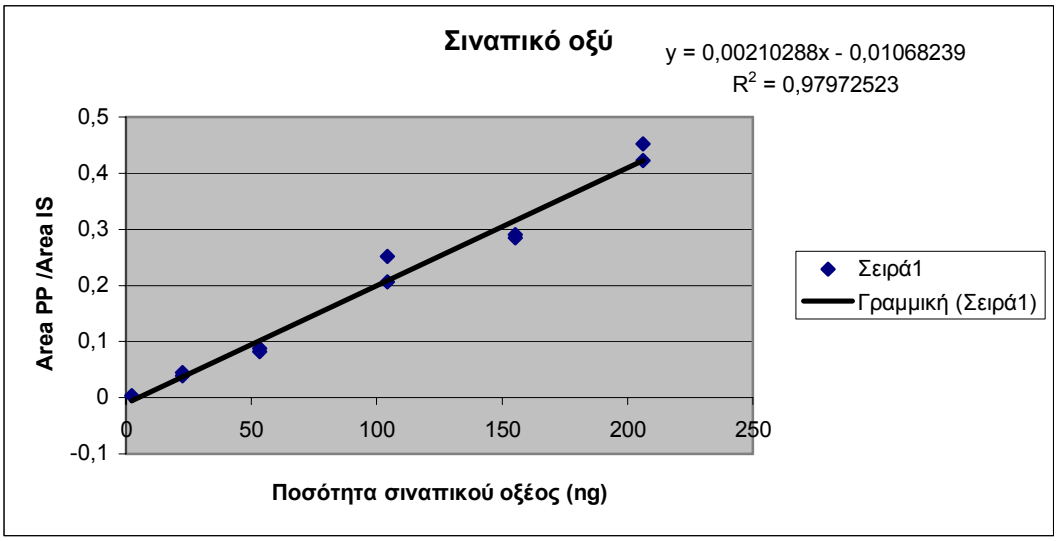

Συριγγικό οξύ
y = 0,00278554x + 0,00304463
R2 = 0,98013580
Area PP /Area IS
2,5
2
1,5
1
0,5
0
0
200
400
600
800
1000
Ποσότητα συριγγικού οξέος (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)

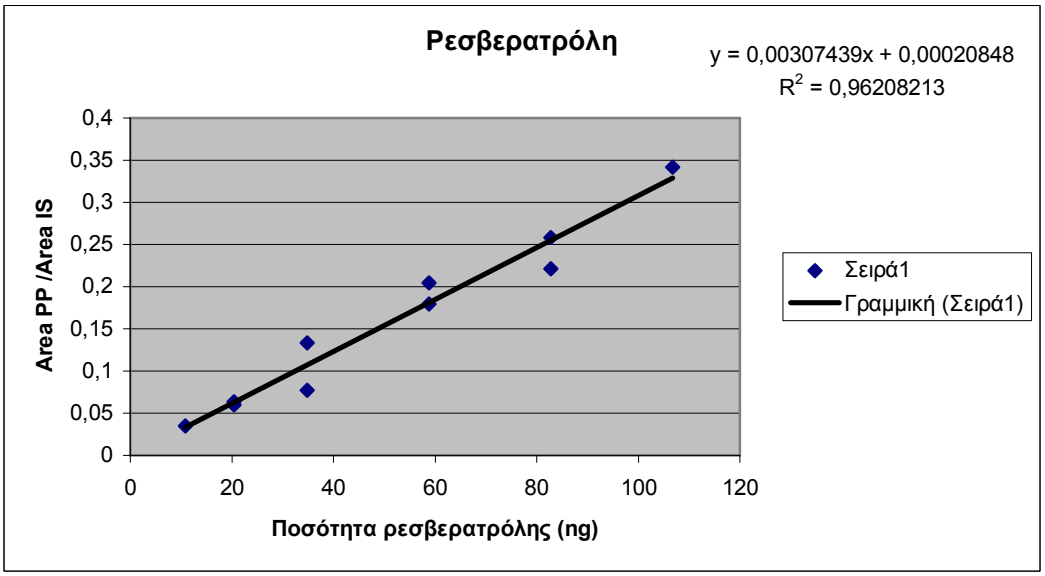

p-Κουμαρικό οξέος
y = 0,00251834x - 0,00101033
R2 = 0,97948756
Area PP /Area IS
1,8
1,6
1,4
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
0
100
200
300
400
500
600
Ποσότητα p-Κουμαρικού οξέος (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)

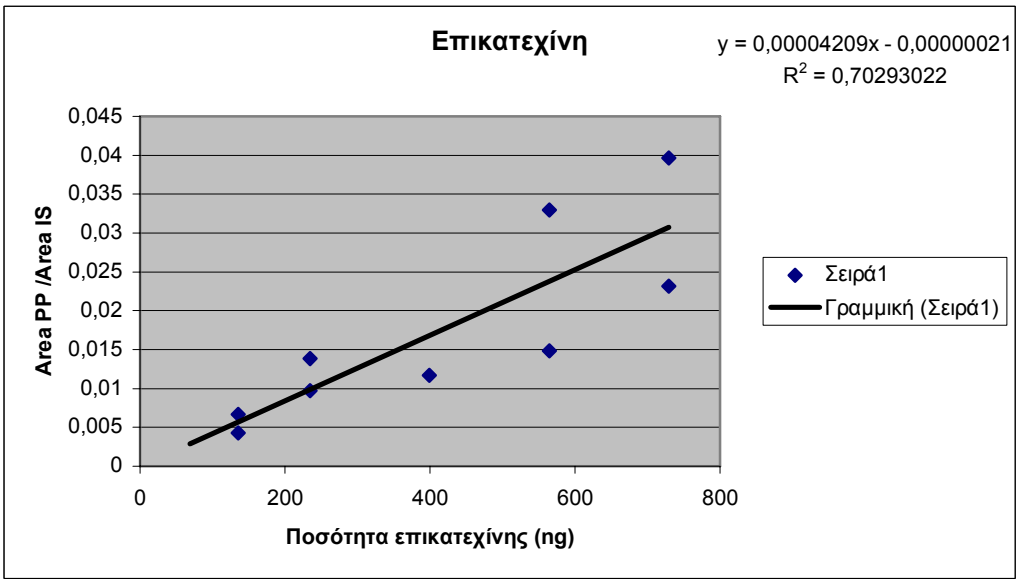

Γαλλικό οξύ
y = 0,00059700x - 0,02022376
R2 = 0,86296546
Area PP /Area IS
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
0
200
400
600
800
1000
Ποσότητα γαλλικού οξέος (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)

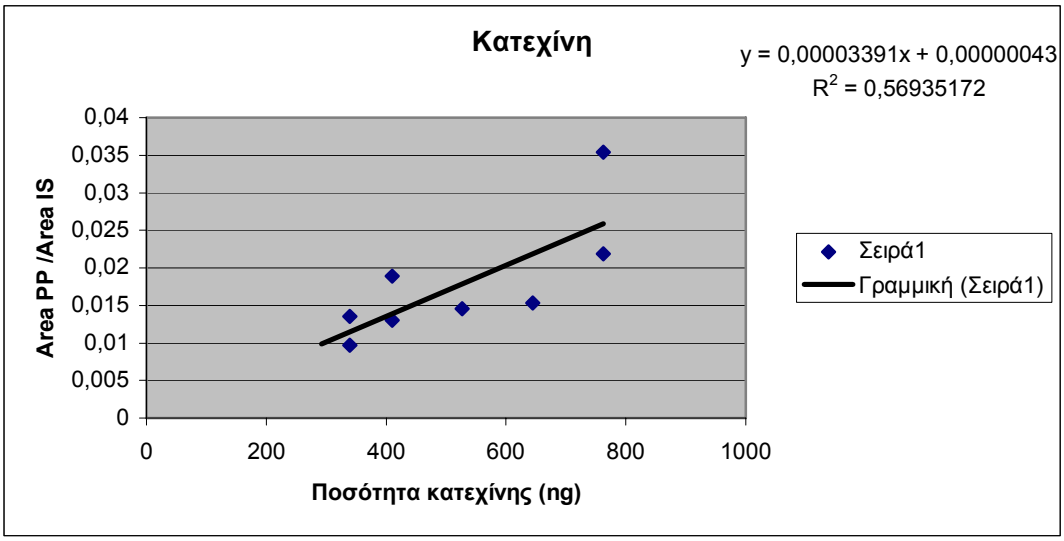

Φερουλικό οξύ
y = 0,00290468x - 0,00023384
R2 = 0,98386908
Area PP /Area IS
2
1,8
1,6
1,4
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
0
100
200
300
400
500
600
700
Ποσότητα φερουλικού οξέος (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)

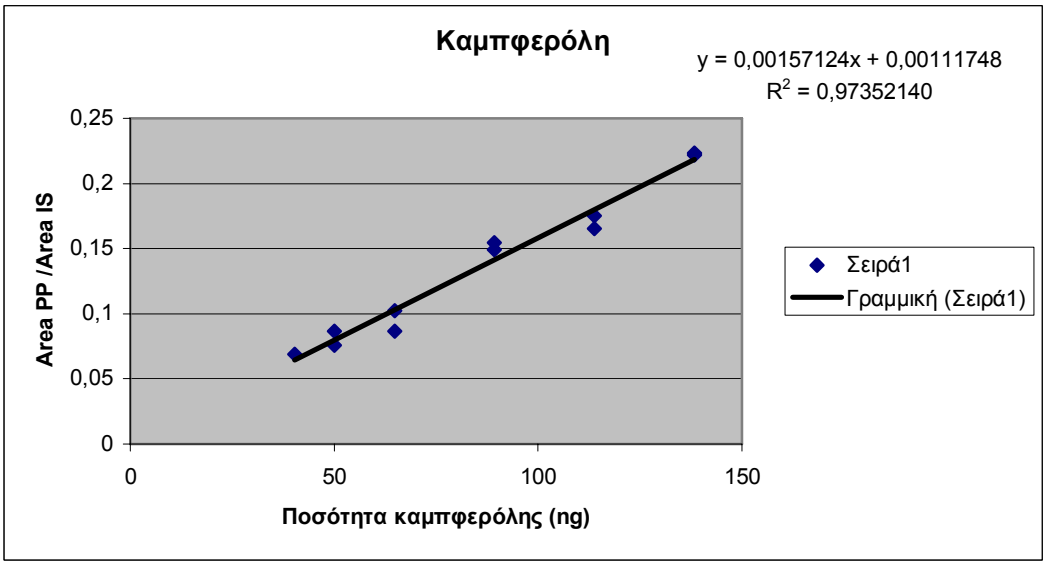

Καφεϊκό οξύ
y = 0,00249843x - 0,00820805
R2 = 0,96495127
Area PP /Area IS
2,5
2
1,5
1
0,5
0
0
200
400
600
800
Ποσότητα καφεϊκού οξέος (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)
Γραμμική (Σειρά1)

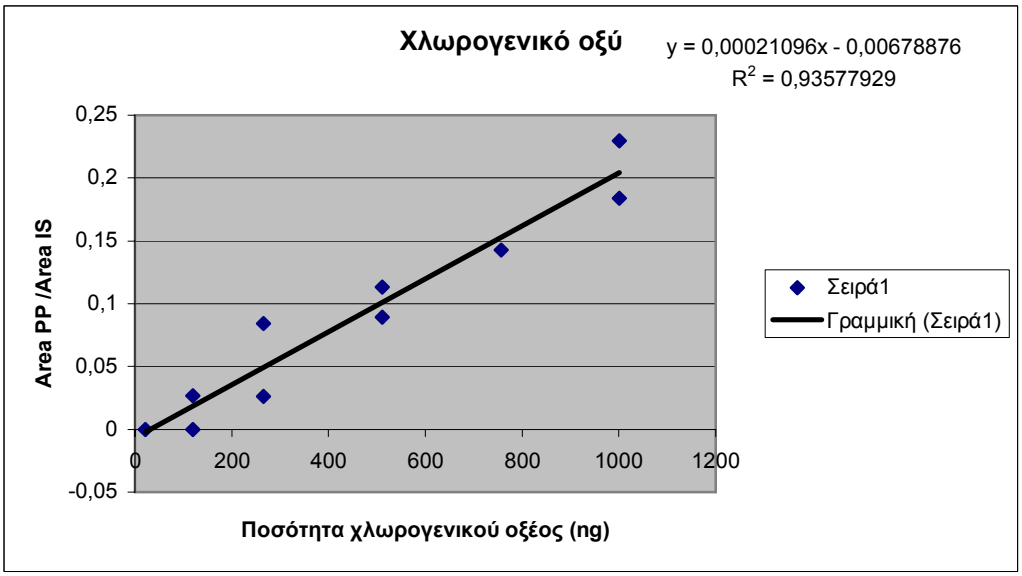

Σιναπικό οξύ
y = 0,00210288x - 0,01068239
R2 = 0,97972523
Area PP /Area IS
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
-0,1
0
50
100
150
200
250
Ποσότητα σιναπικού οξέος (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)

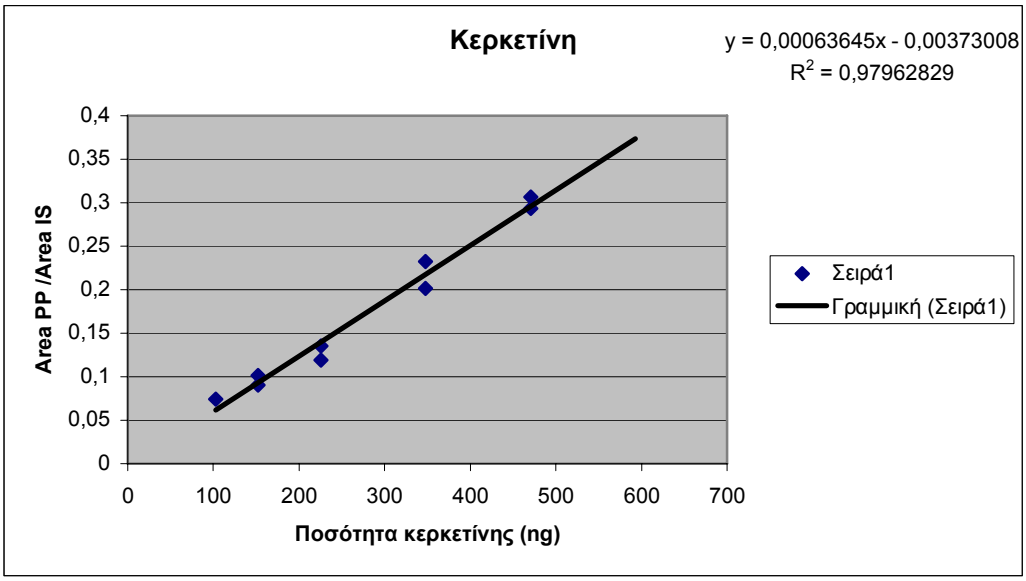

Ρεσβερατρόλη
y = 0,00307439x + 0,00020848
R2 = 0,96208213
Area PP /Area IS
0,4
0,35
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
0
20
40
60
80
100
120
Ποσότητα ρεσβερατρόλης (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)


Επικατεχίνη
y = 0,00004209x - 0,00000021
R2 = 0,70293022
Area PP /Area IS
0,045
0,04
0,035
0,03
0,025
0,02
0,015
0,01
0,005
0
0
200
400
600
800
Ποσότητα επικατεχίνης (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)


Κατεχίνη
y = 0,00003391x + 0,00000043
R2 = 0,56935172
Area PP /Area IS
0,04
0,035
0,03
0,025
0,02
0,015
0,01
0,005
0
0
200
400
600
800
1000
Ποσότητα κατεχίνης (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)


Καμπφερόλη
y = 0,00157124x + 0,00111748
R2 = 0,97352140
Area PP /Area IS
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
0
50
100
150
Ποσότητα καμπφερόλης (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)


Χλωρογενικό οξύ
y = 0,00021096x - 0,00678876
R2 = 0,93577929
Area PP /Area IS
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
-0,05
0
200
400
600
800
1000
1200
Ποσότητα χλωρογενικού οξέος (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)


Κερκετίνη
y = 0,00063645x - 0,00373008
R2 = 0,97962829
Area PP /Area IS
0,4
0,35
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
0
100
200
300
400
500
600
700
Ποσότητα κερκετίνης (ng)
Σειρά1
Γραμμική (Σειρά1)

# Κεφάλαιο 5ο

# ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

## 5.1. Επεξεργασία - Προετοιμασία των δειγμάτων για ανάλυση

Στην εργασία αυτή χρησιμοποιήθηκε η εμπορικά διαθέσιμη ποικιλία Κορινθιακής σταφίδας (Βοστίτσα) αλλά και η πρώτη ύλη της ίδιας ποικιλίας. Η πρώτη ύλη υπέστη τη διαδικασία του «πλυσίματος» και το εμπορικά διαθέσιμο τελικό προϊόν θερμική επεξεργασία παρουσία και απουσία ζύμης. Επίσης, χρησιμοποιήθηκε νωπό σταφύλι που προορίζεται για την παραγωγή Κορινθιακής σταφίδας.

## 5.2. Επιλογή διαλύτη εκχύλισης

Η παραλαβή των πολυφαινολικών συστατικών έγινε με εκχύλιση. Για τη διαδικασία αυτή χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθοι διαλύτες:

- Μεθανόλη (M)
- Μεθανόλη /Ακετόνη /Νερό (M /A /W), 7:2:1

σε δείγματα σταφίδας (Βοστίτσα). Επιπλέον για τον καθορισμό του πλήθους των εκχυλίσεων που πρέπει να λάβουν χώρα προκειμένου να παραληφθεί το σύνολο των πολυφαινολών από το δείγμα έλαβαν χώρα 4 εκχυλίσεις που συλλέχθηκαν μαζί και μία $5^{η}$ η οποία συλλέχθηκε χωριστά. Με τη φωτομετρική μέθοδο Folin – Ciocalteau προσδιορίστηκε το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων και με τους δύο διαλύτες και τα αποτελέσματα που λήφθηκαν, εκφράστηκαν ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος /100 g νωπού προϊόντος (mg GAE /100 g νωπού προϊόντος) και παρουσιάζονται στον παρακάτω Πίνακα 5.1:

| Ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο (mg GAE/100 g νωπού προϊόντος) | | | |
|---|---|---|---|
| **Δ/της εκχύλισης** | **Εκχυλίσεις 1-4** | **5η εκχύλιση** | **% παραμένουσες PP στην 5η** |
| M | 235,0 | 4,9 | 2,1 |
| M /A /W | 281,2 | 5,3 | 1,9 |

**Πίνακας 5.1.**

Με βάση τα παραπάνω διαπιστώνεται ότι το σύστημα εκχύλισης Μεθανόλη /Ακετόνη /Νερό (7:2:1) ήταν περισσότερο αποτελεσματικό όσον αφορά στο ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο που απέδωσε στις 4 εκχυλίσεις. Επιπλέον, φαίνεται ότι το % ποσοστό παραμενουσών PP στην 5η εκχύλιση είναι σχετικά πολύ μικρό και στις δύο περιπτώσεις.

Συνυπολογίζοντας όλα τα παραπάνω επιλέχθηκε ως μέσο εκχύλισης το σύστημα Μεθανόλη /Ακετόνη /Νερό (7:2:1) και η εφαρμογή 5 διαδοχικών εκχυλίσεων.

## 5.3. Προσδιορισμός ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου

Ο προσδιορισμός του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου πραγματοποιήθηκε φασματοφωτομετρικά με τη μέθοδο Folin-Ciocalteau (FC). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg GAE /100 g νωπού προϊόντος, με βάση καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος στην οποία συσχετίστηκε η μετρούμενη απορρόφηση στα 725 nm πρότυπου διαλύματος γαλλικού οξέος, μετά από αντίδραση με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteau με τη συγκέντρωσή του. Η εξίσωση που περιγράφει τη συσχέτιση είναι: Απορρόφηση = 0,0067 * C – 0,0321, C: mg /10 mL FC. Όλες οι αναλύσεις έγιναν στα εκχυλίσματα σταφίδας ή σταφυλιού (συνολικό εκχύλισμα, § 4.7) και στη συνέχεια έγινε αναγωγή του περιεχομένου του εκχυλίσματος σε περιεχόμενου του τροφίμου. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν παρουσιάζονται στους Πίνακες 5.2 και 5.3 και η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος ANOVA:

**A) Πίνακας 5.2. Επίδραση της έκπλυσης στο ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο του προϊόντος**

| Δείγματα | Αριθμός δειγμάτων (n) | Μέση τιμή απορρόφησης | mg GAE /1 g λυοφυλοποιημένου προϊόντος | mg GAE /100 g νωπού προϊόντος |
|---|---|---|---|---|
| **Σταφύλι** | 4 | 0,654 | 6,4 ± 0,5 | 181,4 ± 12,1[A] |
| **Σταφίδα πρώτη ύλη** | 4 | 0,300 | 2,8 ± 0,4 | 265,3 ± 36[B] |
| **Σταφίδα τελικό προϊόν** | 4 | 0,305 | 2,7 ± 0,7 | 262,3 ± 63,3[B] |
| **Σταφίδα μετά από έκπλυση** | 5 | 0,272 | 2,5 ± 0,4 | 231,0 ± 34[AB] |

**Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα ANOVA χρησιμοποιώντας το test Dunkan σε επίπεδο σημαντικότητας 95 %. Διαφορετικά γράμματα αντιστοιχούν σε στατιστικά σημαντικές διαφορές.**

Από τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι η σταφίδα - πρώτη ύλη, η σταφίδα μετά από έκπλυση και η σταφίδα - τελικό προϊόν που χρησιμοποιήθηκαν στο συγκεκριμένο πείραμα διαθέτουν περίπου το ίδιο πολυφαινολικό περιεχόμενο, με την πλυμένη να παρουσιάζει ελαφρώς χαμηλότερη τιμή. Παράλληλα το σταφύλι αποδίδει το υποδιπλάσιο ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο σε σχέση με αυτό που αποδίδει η σταφίδα ως πρώτη ύλη, ως τελικό προϊόν και μετά από έκπλυση. Αυτό οφείλεται στο μεγαλύτερο περιεχόμενο του σταφυλιού σε υγρασία σε σχέση με τη σταφίδα.

**Β) Πίνακας 5.3. Επίδραση της θερμικής επεξεργασίας στο ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο του προϊόντος**

| Δείγματα σταφίδας | Αριθμός δειγμάτων (n) | Μέση τιμή απορρόφησης | mg GAE /1 g λυοφυλοποιημένου προϊόντος | mg GAE /100 gr νωπού προϊόντος |
|---|---|---|---|---|
| **Τελικό προϊόν** | 4 | 0,305 | 2,7 ± 0,7 | $262,3 \pm 63,3^{B}$ |
| **Από ψωμί** | 5 | 0,471 | 4,4 ± 0,9 | $352,7 \pm 75,6^{CD}$ |
| **Από μπισκότο** | 6 | 0,351 | 3,4 ± 0,4 | $267,0 \pm 36,4^{B}$ |
| **Ψημένη σκέτη 5 min** | 2 | 0,294 | 2,7 | $261,2^{B}$ |
| **Ψημένη σκέτη 10 min** | 2 | 0,228 | 2,5 | $221,8^{AB}$ |
| **Ψημένη σκέτη 15 min** | 2 | 0,289 | 2,7 | $261,0^{B}$ |
| **Ψημένη σκέτη 20 min** | 3 | 0,277 | 2,7 ± 0,2 | $258,5 \pm 20,0^{B}$ |
| **Ψημένη σκέτη 25 min** | 2 | 0,304 | 3,0 | $289,1^{BC}$ |
| **Ψημένη σκέτη 30 min** | 2 | 0,333 | 3,1 | $307,3^{BC}$ |
| **Ψημένη σκέτη 40 min** | 2 | 0,512 | 4,5 | $457,3^{E}$ |
| **Ψημένη σκέτη 50 min** | 3 | 0,446 | 4,1 ± 0,1 | $399,8 \pm 10,4^{DE}$ |

**Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα ANOVA χρησιμοποιώντας το test Dunkan σε επίπεδο σημαντικότητας 95 %. Διαφορετικά γράμματα αντιστοιχούν σε στατιστικά σημαντικές διαφορές.**

Συγκρίνοντας το πολυφαινολικό περιεχόμενο νωπού προϊόντος που απέδωσε η σταφίδα - ψημένη σκέτη 20 min σε σχέση με τα αντίστοιχα που απέδωσε η σταφίδα από μπισκότο διαπιστώνεται ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο περίπου ισόποσο. Υπενθυμίζεται ότι τα δείγματα από προσομοίωση μπισκότου ψήθηκαν για περίπου 20 min (βλέπε § 4.4.2). Απ' την άλλη, το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο που απέδωσε η σταφίδα - ψημένη σκέτη 50 min με το αντίστοιχο που απέδωσε η σταφίδα από ψωμί, δεν παρουσιάζει διαφοροποίηση

στατιστικά σημαντική, ενώ συγχρόνως το πολυφαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων αυτών παρουσιάζει ελαφρώς αυξημένη τιμή σε σχέση με τη σταφίδα – τελικό προϊόν. Υπενθυμίζεται ότι τα δείγματα από προσομοίωση ψωμί ψήθηκαν για περίπου 50 min (βλέπε § 4.4.2).

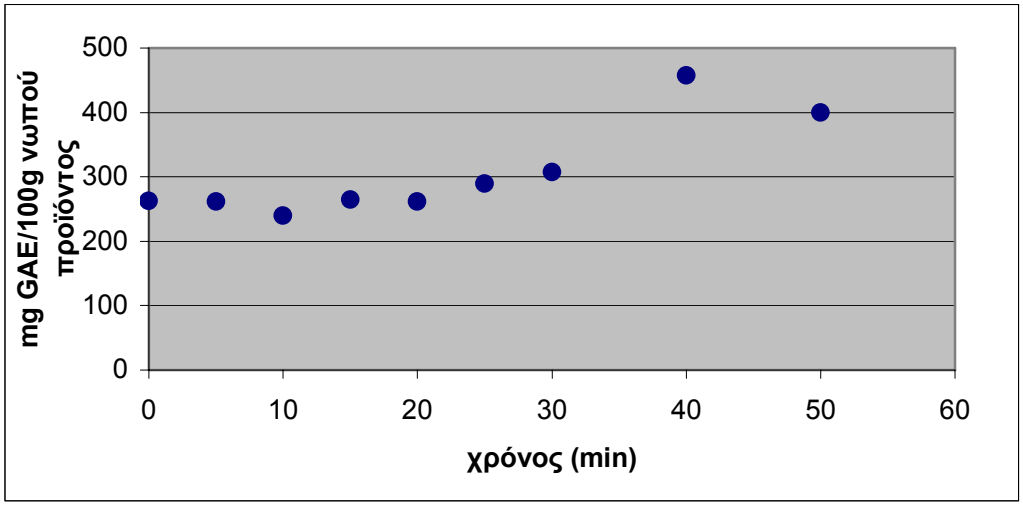
Συγκρίνοντας τις δύο παρασκευές, μπισκότου και ψωμιού, φαίνεται ότι το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο που αποδίδει η σταφίδα από ψωμί είναι μεγαλύτερο από το αντίστοιχο που αποδίδει η σταφίδα από μπισκότο. Η ομάδα που περιλαμβάνει τη σταφίδα από μπισκότο και τη σταφίδα - ψημένη σκέτη 20 min με την ομάδα που περιλαμβάνει τη σταφίδα από ψωμί και τη σταφίδα - ψημένη σκέτη 50 min διαφοροποιούνται και μάλιστα κατά τρόπο στατιστικά σημαντικό. Παράλληλα, φαίνεται ότι α) δεν υπάρχει απώλεια πολυφαινολών κατά τη διαδικασία ψησίματος μπισκότου ενώ, β) η διαδικασία ψωμί αποδίδει πιθανώς μεγαλύτερο πολυφαινολικό περιεχόμενο σε σχέση με τη σταφίδα – τελικό προϊόν.

Τέλος, συγκρίνοντας τα δείγματα σταφίδας - ψημένης σκέτης μεταξύ τους, το υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο διαπιστώνεται στα δείγματα που υπέστησαν ψήσιμο 40 min, ακολουθούμενα από εκείνα που υπέστησαν ψήσιμο 50 min. Στους υπόλοιπους χρόνους το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο κυμάνθηκε περίπου στα ίδια επίπεδα και μάλιστα στο ίδια επίπεδα κυμαίνεται και το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο της σταφίδας – τελικό προϊόν καθώς και η σταφίδα από μπισκότο. Από τους χρόνους 20 και 25 min το πολυφαινολικό περιεχόμενο αρχίζει να διαφοροποιείται στατιστικά σημαντικά, όπως φαίνεται κι από το Σχήμα 5.2.1.

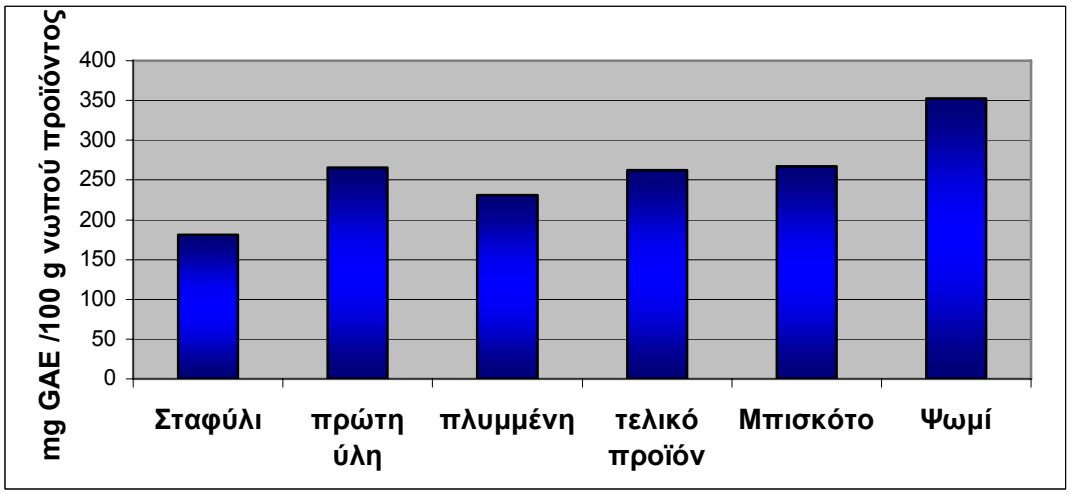
Με τη μέθοδο αυτή, προσδιορίστηκε το συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων. Στο σημείο αυτό πρέπει να σημειωθεί ότι έχει αποδειχτεί ότι η μέθοδος αυτή δεν προσδιορίζει μόνο τα πολυφαινολικά συστατικά των δειγμάτων αλλά προσδιορίζονται και μη πολυφαινολικά συστατικά, όπως τα αμινοξέα.

Παρακάτω παρουσιάζονται διαγραμματικά τα αποτελέσματα που αναφέρθηκαν στις προηγούμενες παραγράφους:

**Σχήματα 5.2.**




**Σχήμα 5.2.1. Μέση τιμή ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου (mg GAE /100 g νωπού προϊόντος) σταφίδας θερμικά επεξεργασμένης απουσία ζύμης σε διάφορους χρόνους**




**Σχήμα 5.2.2. Μέση τιμή πολυφαινολικού περιεχομένου δειγμάτων σταφυλιού και σταφίδας πριν και μετά α) την έκπλυση και β) τη θερμική επεξεργασία**

## 5.4. Προσδιορισμός ολικών φλαβανολών

Ο προσδιορισμός των ολικών φλαβανολών πραγματοποιήθηκε φασματοφωτομετρικά. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg CE /100 g νωπού προϊόντος (CE, Catechin Equivalent), με βάση καμπύλη αναφοράς κατεχίνης στην οποία συσχετίστηκε η μετρούμενη απορρόφηση στα 515 nm πρότυπου διαλύματος κατεχίνης με τη συγκέντρωσή της. Η εξίσωση που περιγράφει τη

συσχέτιση είναι: Απορρόφηση = 0,2358 * x – 0,0278, x: μg). Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα ANOVA χρησιμοποιώντας το test Dunkan σε επίπεδο σημαντικότητας 95 %. Διαφορετικά γράμματα αντιστοιχούν σε στατιστικά σημαντικές διαφορές. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν παρουσιάζονται στους Πίνακες 5.4 και 5.5 και η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος ANOVA:

**A) Πίνακας 5.4. Επίδραση της έκπλυσης στο φλαβανολικό περιεχόμενο του προϊόντος**

| Δείγματα | Αριθμός δειγμάτων (n) | Μέση τιμή απορρόφησης | mg CE /1 g λυοφυλοποιημένου προϊόντος | mg CE /100 g νωπού προϊόντος |
|---|---|---|---|---|
| **Σταφύλι** | 4 | 3,145 | 1,3 ± 0,2 | $37,0 \pm 5,9^{C}$ |
| **Σταφίδα πρώτη ύλη** | 4 | 0,268 | 0,1 ± 0,0 | $9,2 \pm 7,7^{A}$ |
| **Σταφίδα τελικό προϊόν** | 4 | 0,103 | - | $2,8 \pm 0,7^{A}$ |
| **Σταφίδα μετά από έκπλυση** | 5 | 0,235 | 0,1 ± 0,0 | $5,3 \pm 1,8^{A}$ |

**Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα ANOVA χρησιμοποιώντας το test Dunkan σε επίπεδο σημαντικότητας 95 %. Διαφορετικά γράμματα αντιστοιχούν σε στατιστικά σημαντικές διαφορές.**

Από τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι η σταφίδα πρώτη ύλη με τη σταφίδα μετά από έκπλυση και τη σταφίδα – τελικό προϊόν παρουσιάζουν το ίδιο ολικό φλαβανολικό περιεχόμενο και οι όποιες διαφορές εντοπίζονται δε βρέθηκαν να είναι στατιστικά σημαντικές. Δηλαδή, φαίνεται ότι η διαδικασία του πλυσίματος δεν επέδρασε κατά τρόπο στατιστικά σημαντικό στο ολικό φλαβανολικό περιεχόμενο των δειγμάτων. Παράλληλα φαίνεται ότι το σταφύλι αποδίδει το 4πλάσιο φλαβανολικό περιεχόμενο σε σχέση με αυτό που αποδίδει η σταφίδα ως πρώτη ύλη.

**Β) Πίνακας 5.5. Επίδραση της θερμικής επεξεργασίας στο φλαβανολικό περιεχόμενο του προϊόντος**

| Δείγματα σταφίδας | Αριθμός δειγμάτων (n) | Μέση τιμή απορρόφησης | mg CE /1 g λυοφυλοποιημένου προϊόντος | mg CE /100 gr νωπού προϊόντος |
|---|---|---|---|---|
| **Τελικό προϊόν** | 4 | 0,103 | - | 2,8 ± 0,7$^{A}$ |
| **Από ψωμί** | 5 | 0,471 | 0,1 ± 0,0 | 4,5 ± 3,1$^{A}$ |
| **Από μπισκότο** | 6 | 0,351 | 0,1 ± 0,0 | 8 ± 2,2$^{A}$ |
| **Ψημένη σκέτη 5 min** | 2 | 0,294 | 0,1 | 7,3$^{A}$ |
| **Ψημένη σκέτη 10 min** | 2 | 0,134 | 0,0 | 4,3$^{A}$ |
| **Ψημένη σκέτη 15 min** | 2 | 0,289 | 0,1 | 5,9$^{A}$ |
| **Ψημένη σκέτη 20 min** | 3 | 0,277 | 0,1 ± 0,0 | 6,9 ± 2,5$^{A}$ |
| **Ψημένη σκέτη 25 min** | 2 | 0,304 | 0,1 | 7,7$^{A}$ |
| **Ψημένη σκέτη 30 min** | 2 | 0,333 | 0,1 | 9,1$^{A}$ |
| **Ψημένη σκέτη 40 min** | 2 | 0,512 | 0,2 | 23,3$^{B}$ |
| **Ψημένη σκέτη 50 min** | 3 | 0,446 | 0,1 ± 0,0 | 5,9 ± 1,5$^{A}$ |

**Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα ANOVA χρησιμοποιώντας το test Dunkan σε επίπεδο σημαντικότητας 95 %. Διαφορετικά γράμματα αντιστοιχούν σε στατιστικά σημαντικές διαφορές.**

Συγκρίνοντας το ολικό περιεχόμενο φλαβονολών νωπού προϊόντος που απέδωσε η σταφίδα - ψημένη σκέτη 20 min σε σχέση με τα αντίστοιχα που απέδωσε η σταφίδα από μπισκότο διαπιστώνεται ολικό φλαβανολικό περιεχόμενο περίπου ισόποσο, με τη σταφίδα - ψημένη σκέτη να υπερέχει ελαφρώς αλλά όχι στατιστικά σημαντικά. Επίσης, το ολικό περιεχόμενο φλαβανολών νωπού προϊόντος που απέδωσε η σταφίδα - ψημένη σκέτη 50 min με το αντίστοιχο που

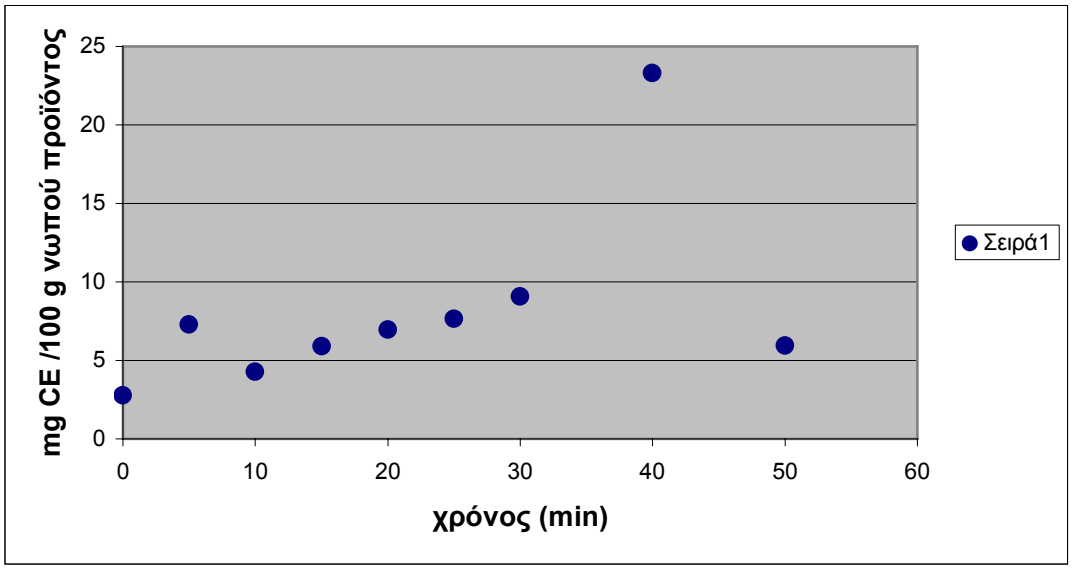
απέδωσε η σταφίδα από ψωμί παρουσιάζονται επίσης ισόποσα, με την ψημένη σκέτη 50 min να υπερισχύει ελαφρώς αλλά όχι στατιστικά σημαντικά.

Συγκρίνοντας τις δύο παρασκευές, μπισκότου και ψωμιού, επίσης με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος ANOVA, φαίνεται ότι το ολικό φλαβανολικό περιεχόμενο που αποδίδει η σταφίδα από ψωμί και το αντίστοιχο που αποδίδει η σταφίδα από μπισκότο είναι περίπου ισόποσα με διαφορά όχι στατιστικά σημαντική, παρά την υπεροχή του μπισκότου. Παράλληλα, η σταφίδα από μπισκότο και η σταφίδα από ψωμί παρουσιάζουν μη στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση σε σχέση με τη σταφίδα - τελικό προϊόν. Τελικά, δηλαδή, η θερμική επεξεργασία παρουσία ζύμης φαίνεται ότι δεν επηρέασε σημαντικά το ολικό φλαβανολικό περιεχόμενο.

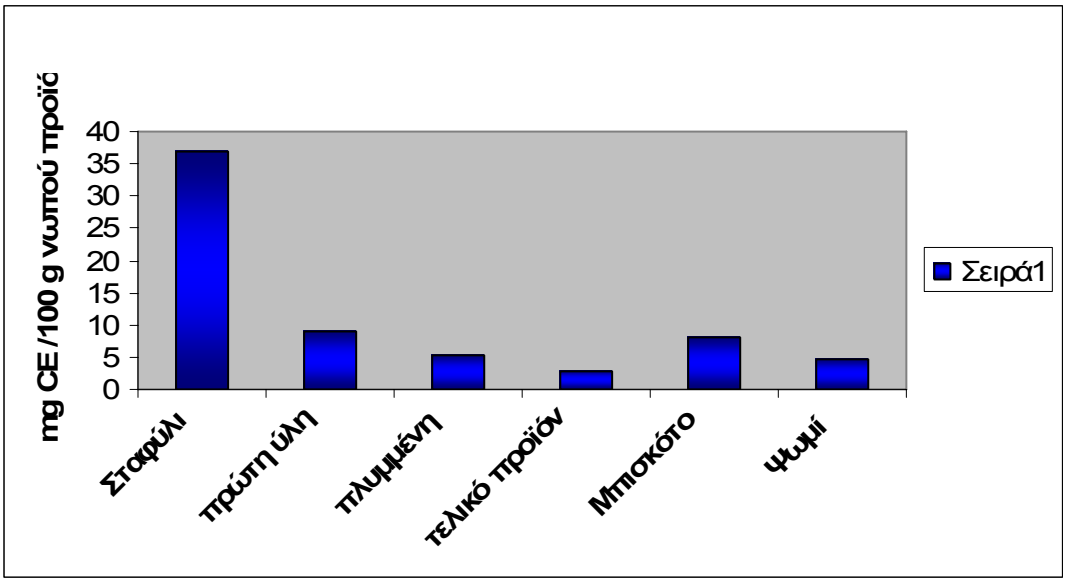
Τέλος, συγκρίνοντας τα δείγματα σταφίδας - ψημένης σκέτης μεταξύ τους, το μεγαλύτερο ολικό φλαβανολικό περιεχόμενο διαπιστώνεται στα δείγματα που υπέστησαν ψήσιμο 40 min. Στους υπόλοιπους χρόνους το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο είχε διακυμάνσεις ως προς τα επιμέρους δείγματα, τα οποία όμως κρινόμενα συνολικά, με τη βοήθεια της στατιστικής ανάλυσης ANOVA, και συνεκτιμώντας το Σχήμα 5.3.1 μπορούν να θεωρηθούν ότι κυμάνθηκαν στα ίδια επίπεδα, όπως και σε αντίστοιχη έρευνα που είχε σαν αντικείμενο τη ντομάτα (48).

Παρακάτω παρουσιάζονται διαγραμματικά τα αποτελέσματα που αναφέρθηκαν στις προηγούμενες παραγράφους:

**Σχήματα 5.3.**




**Σχήμα 5.3.1. Μέση τιμή ολικού φλαβανολικού περιεχομένου (mg CE /100 g νωπού προϊόντος) σταφίδας θερμικά επεξεργασμένης απουσία ζύμης σε διάφορους χρόνους**




**Σχήμα 5.3.2 Μέση τιμή του ολικού περιεχομένου φλαβονολών δειγμάτων σταφυλιού και σταφίδας πριν και μετά τη θερμική επεξεργασία**

## 5.5. Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1 - διφαίνυλο-2-πικρύλοϋδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH*)

Η εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας πραγματοποιήθηκε φασματοφωτομετρικά χρησιμοποιώντας την ελεύθερη ρίζα DPPH. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή η ελεύθερη ρίζα DPPH* η οποία είναι έγχρωμη (μπλε) όταν δεσμεύεται από αντιοξειδωτικές ενώσεις αποχρωματίζεται και ως αποτέλεσμα η απορρόφηση του διαλύματος στα 515 nm ελαττώνεται. Για την έκφραση των αποτελεσμάτων της ικανότητας δέσμευσης της ρίζας DPPH* από το εκχύλισμα σταφίδας χρησιμοποιήθηκε καμπύλη αναφοράς Trolox. Το Trolox είναι ανάλογο της Βιταμίνης Ε που δεσμεύει τη ρίζα DPPH*. Η ποσότητα εκχυλίσματος σταφίδας που απαιτήθηκε για τη δέσμευση της ρίζας αντιστοιχήθηκε στην ποσότητα Trolox που απαιτείται για να εμφανιστεί η ίδια δράση. Έτσι, τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως nmol Trolox /100 gr νωπού προϊόντος. Στην καμπύλη αναφοράς Trolox συσχετίστηκε η μετρούμενη % μείωση DPPH με την ποσότητα Trolox σε nmol. Η εξίσωση που περιγράφει τη συσχέτιση είναι: % μείωση DPPH = 4392,6 x – 0,4769, x: nmol Trolox. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν παρουσιάζονται στους Πίνακες 5.6 και 5.7 και η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος ANOVA:

**A) Πίνακας 5.6. Επίδραση της έκπλυσης στην αντιοξειδωτική ικανότητα του προϊόντος**

| Δείγματα | Αριθμός δειγμάτων (n) | Μέση τιμή απορρόφησης | nmol Trolox /g λυοφυλοποιημένου δείγματος | nmol Trolox /100 gr νωπού προϊόντος |
|---|---|---|---|---|
| **Σταφύλι** | 4 | 0,142 | 0,4 ± 0,1 | 10,1 ± 1,5$^{A}$ |
| **Σταφίδα πρώτη ύλη** | 4 | 0,477 | 0,2 ± 0,1 | 18,6 ± 5,5$^{AB}$ |
| **Σταφίδα τελικό προϊόν** | 3 | 0,291 | 0,2 ± 0,0 | 15,0 ± 0,1$^{A}$ |
| **Σταφίδα μετά από έκπλυση** | 5 | 0,371 | 0,2 ± 0,0 | 13,4 ± 2,0$^{A}$ |

**Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα ANOVA χρησιμοποιώντας το test Dunkan σε επίπεδο σημαντικότητας 95 %. Διαφορετικά γράμματα αντιστοιχούν σε στατιστικά σημαντικές διαφορές.**

Από τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι η σταφίδα - τελικό προϊόν και η σταφίδα μετά από έκπλυση διαθέτουν περίπου ισόποση αντιοξειδωτική ικανότητα, με βάση και τα δεδομένα που λήφθηκαν από τη στατιστική ανάλυση ANOVA. Απ' την άλλη, η σταφίδα – πρώτη ύλη φαίνεται να παρουσίαζει υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τη σταφίδα – τελικό προϊόν και από τη σταφίδα μετά από έκπλυση. Φαίνεται, δηλαδή, ότι η έκπλυση έχει επιδράσει ως ένα σημείο στη μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Παράλληλα, φαίνεται ότι το σταφύλι διαθέτει λιγότερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σχέση με αυτά που αποδίδει η σταφίδα - τελικό προϊόν και η σταφίδα μετά από έκπλυση.

**B) Πίνακας 5.5. Επίδραση της θερμικής επεξεργασίας στην αντιοξειδωτική ικανότητα του προϊόντος**

| Δείγματα σταφίδας | Αριθμός δειγμάτων (n) | Μέση τιμή απορρόφησης | nmol Trolox /g λυοφυλοποιημένου δείγματος | nmol Trolox /100 gr νωπού προϊόντος |
|---|---|---|---|---|
| **Τελικό προϊόν** | 3 | 0,291 | 0,2 ± 0,0 | 15,0 ± 0,1$^{A}$ |
| **Από ψωμί** | 4 | 0,384 | 0,2 ± 0,1 | 14,2 ± 3,8$^{A}$ |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Από μπισκότο** | 6 | 0,416 | 0,2 ± 0,1 | 17,3 ± 6,4$^{AB}$ |
| **Ψημένη σκέτη 5 min** | 2 | 0,421 | 0,2 | 14,6$^{A}$ |
| **Ψημένη σκέτη 10 min** | 1 | 0,444 | 0,2 | 14,7$^{A}$ |
| **Ψημένη σκέτη 15 min** | 2 | 0,458 | 0,1 | 12,7$^{A}$ |
| **Ψημένη σκέτη 20 min** | 2 | 0,412 | 0,2 | 16,2$^{A}$ |
| **Ψημένη σκέτη 25 min** | 2 | 0,409 | 0,2 | 16,5$^{AB}$ |
| **Ψημένη σκέτη 30 min** | 1 | 0,443 | 0,1 | 14,0$^{A}$ |
| **Ψημένη σκέτη 40 min** | 2 | 0,259 | 0,3 | 25,3$^{B}$ |
| **Ψημένη σκέτη 50 min** | 2 | 0,355 | 0,2 | 18,8$^{AB}$ |

**Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα ANOVA χρησιμοποιώντας το test Dunkan σε επίπεδο σημαντικότητας 95 %. Διαφορετικά γράμματα αντιστοιχούν σε στατιστικά σημαντικές διαφορές.**

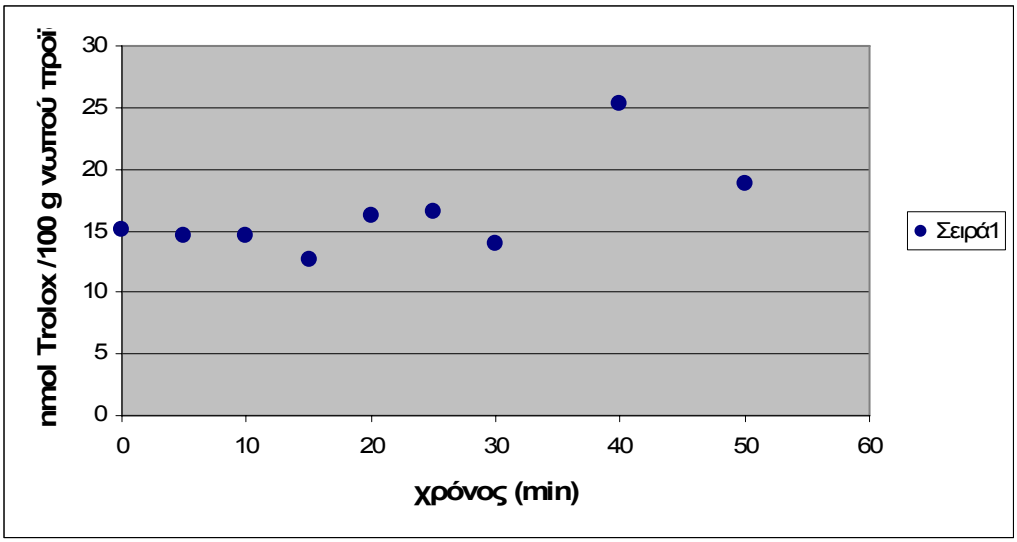
Συγκρίνοντας την αντιοξειδωτική ικανότητα που διαθέτει η σταφίδα - ψημένη σκέτη 20 min σε σχέση με την αντίστοιχη της σταφίδας από μπισκότο διαπιστώνεται αντιοξειδωτική ικανότητα περίπου ισόποση, με τη σταφίδα - ψημένη σκέτη να υπερέχει ελαφρώς. Επίσης, η αντιοξειδωτική ικανότητα σταφίδας - ψημένης σκέτης 50 min ήταν ανάλογη αυτής της σταφίδας από ψωμί, με μια ελαφρά υπεροχή της σταφίδας από ψωμί.

Συγκρίνοντας τις δύο παρασκευές, μπισκότου και ψωμιού, φαίνεται ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα που διαθέτει η σταφίδα από ψωμί είναι χαμηλότερη από την αντίστοιχη που διαθέτει η σταφίδα από μπισκότο. Παράλληλα, η σταφίδα από μπισκότο διαθέτει ελαφρώς υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τη σταφίδα - τελικό προϊόν, ενώ η σταφίδα από ψωμί διαθέτει περίπου ισόποση αντιοξειδωτική ικανότητα με τη σταφίδα - τελικό προϊόν. Παρόμοια αύξηση σε υδρολυμένα δείγματα μούρων, συγκρινόμενα με αντίστοιχα φρέσκα, εντόπισε και η έρευνα των Amakura et al. (2000) (53).

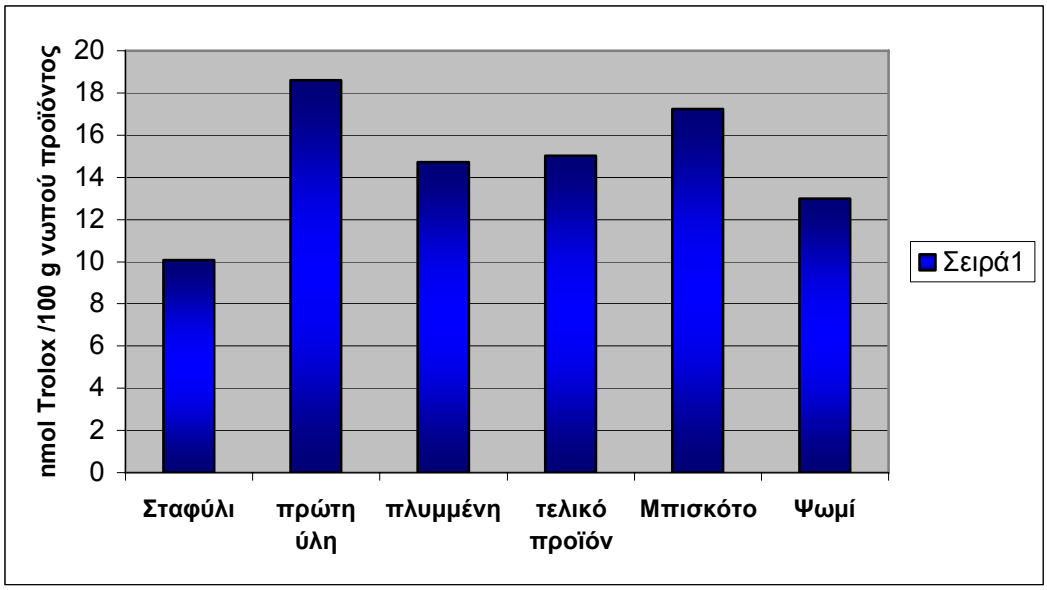
Τέλος, συγκρίνοντας τα δείγματα σταφίδας - ψημένης σκέτης μεταξύ τους, η μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα διαπιστώνεται στα δείγματα που υπέστησαν ψήσιμο 40 min, ακολουθούμενα από τα δείγματα που υπέστησαν ψήσιμο 50 min. Στους υπόλοιπους χρόνους η αντιοξειδωτική ικανότητα είχε διακυμάνσεις ως προς τα επιμέρους δείγματα, τα οποία όμως, κρινόμενα συνολικά και συνεκτιμώντας το Σχήμα 5.4.1 και την ανάλυση ANOVA, μπορούν να θεωρηθούν ότι κυμάνθηκαν στα ίδια επίπεδα.

Παρακάτω παρουσιάζονται διαγραμματικά τα αποτελέσματα που αναφέρθηκαν στις προηγούμενες παραγράφους:

**Σχήματα 5.4.**




**Σχήμα 5.4.1. Μέση τιμή της αντιοξειδωτικής δύναμης (nmol Trolox /100 g νωπού προϊόντος) σταφίδας θερμικά επεξεργασμένης απουσία ζύμης σε διάφορους χρόνους**




**Σχήμα 5.4.2 Μέση τιμή της αντιοξειδωτικής δύναμης δειγμάτων σταφυλιού και σταφίδας πριν και μετά τη θερμική επεξεργασία**

## 5.6. Προσδιορισμός αναγωγικής δύναμης εκχυλίσματος σταφίδας μέσω αναγωγής $Fe^{+3}$ σε $Fe^{+2}$

Η εκτίμηση της αναγωγικής δύναμης πραγματοποιήθηκε φασματοφωτομετρικά. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μg VitC /100 gr νωπού προϊόντος, με βάση πρότυπη καμπύλη ασκορβικού οξέος στην οποία συσχετίστηκε η μετρούμενη απορρόφηση με τη μάζα πρότυπου διαλύματος ασκορβικού οξέος (μg). Η εξίσωση που περιγράφει τη συσχέτιση είναι: Απορρόφηση = 1,2582x – 0,0345, x = μg. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα ANOVA χρησιμοποιώντας το test Dunkan σε επίπεδο σημαντικότητας 95 %. Διαφορετικά γράμματα αντιστοιχούν σε στατιστικά σημαντικές διαφορές. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν παρουσιάζονται στους Πίνακες 5.8 και 5.9 και η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος ANOVA:

**A) Πίνακας 5.8. Επίδραση της έκπλυσης στην αναγωγική δύναμη του προϊόντος**

| Δείγματα | Αριθμός δειγμάτων (n) | Μέση τιμή απορρόφησης | mg Vit C /g λυοφυλοποιημένου δείγματος | μg VitC /100 gr νωπού προϊόντος |
|---|---|---|---|---|
| **Σταφύλι** | 3 | 1,662 | 0,03 ± 0,0 | 747,7 ± 1,7$^{A}$ |
| **Σταφίδα πρώτη ύλη** | 3 | 0,675 | 0,01 ± 0,0 | 1034,3 ± 81,8$^{CD}$ |
| **Σταφίδα τελικό προϊόν** | 3 | 0,550 | 0,01 ± 0,0 | 869,2 ± 189,3$^{ABC}$ |
| **Σταφίδα μετά από έκπλυση** | 4 | 0,542 | 0,01 ± 0,0 | 940,2 ± 38,7$^{BC}$ |

**Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα ANOVA χρησιμοποιώντας το test Dunkan σε επίπεδο σημαντικότητας 95 %. Διαφορετικά γράμματα αντιστοιχούν σε στατιστικά σημαντικές διαφορές.**

Από τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι η σταφίδα - τελικό προϊόν και η σταφίδα μετά από έκπλυση αποδίδουν περίπου ισόποση αναγωγική δύναμη, συνεκτιμώντας και την τυπική απόκλιση καθώς και την ανάλυση ANOVA. Από την άλλη, η σταφίδα - πρώτη ύλη απέδωσε μεγαλύτερη τιμή αναγωγικής δύναμης σε σχέση με τη σταφίδα – τελικό προϊόν και τη σταφίδα μετά από έκπλυση. Τελικά, δηλαδή, φαίνεται ότι η διαδικασία έκπλυσης επηρέασε την τιμή της αναγωγικής δύναμης και συγκεκριμένα προκάλεσε μείωσή της. Παράλληλα φαίνεται ότι το σταφύλι έχει μικρότερη αναγωγική δύναμη σε σχέση με αυτά που αποδίδει η σταφίδα - τελικό προϊόν και η σταφίδα μετά από έκπλυση.

**B) Πίνακας 5.9. Επίδραση της θερμικής επεξεργασίας στην αναγωγική δύναμη του προϊόντος**

| Δείγματα | Αριθμός δειγμάτων (n) | Μέση τιμή απορρόφησης | mg Vit C /g λυοφυλοποιημένου δείγματος | μg VitC /100 gr νωπού προϊόντος |
|---|---|---|---|---|
| **Σταφίδα τελικό προϊόν** | 3 | 0,550 | 0,1 ± 0,0 | 869,2 ± 189,3$^{ABC}$ |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Σταφίδα από ψωμί** | 3 | 0,534 | - | 1053,5 ± 82,8$^{CD}$ |
| **Σταφίδα από μπισκότο** | 4 | 0,522 | - | 836,7 ± 70,7$^{AB}$ |
| **Σταφίδα ψημένη σκέτη 5 min** | 2 | 0,421 | - | 1027,1$^{CD}$ |
| **Σταφίδα ψημένη σκέτη 10 min** | 3 | 0,498 | - | 975,7 ± 127,2$^{BCD}$ |
| **Σταφίδα ψημένη σκέτη 15 min** | 2 | 0,458 | - | 952,6$^{BCD}$ |
| **Σταφίδα ψημένη σκέτη 20 min** | 2 | 0,521 | - | 889,6 ± 78,8$^{ABC}$ |
| **Σταφίδα ψημένη σκέτη 25 min** | 2 | 0,409 | - | 1127,9$^{D}$ |
| **Σταφίδα ψημένη σκέτη 30 min** | 2 | 0,534 | - | 965,3$^{BCD}$ |
| **Σταφίδα ψημένη σκέτη 40 min** | 2 | 0,259 | - | 1364,5$^{E}$ |
| **Σταφίδα ψημένη σκέτη 50 min** | 2 | 0,530 | - | 969,6$^{BCD}$ |

**Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα ANOVA χρησιμοποιώντας το test Dunkan σε επίπεδο σημαντικότητας 95 %. Διαφορετικά γράμματα αντιστοιχούν σε στατιστικά σημαντικές διαφορές.**

Συγκρίνοντας την αναγωγική δύναμη της σταφίδας - ψημένης σκέτης 20 min σε σχέση με αυτήν που απέδωσε η σταφίδα από μπισκότο, διαπιστώνεται περίπου ισόποση (όχι πολύ σημαντική στατιστικά διαφοροποίηση σύμφωνα με την ανάλυση ANOVA) στα δύο δείγματα με τη σταφίδα - ψημένη σκέτη να υπερέχει ελαφρώς.

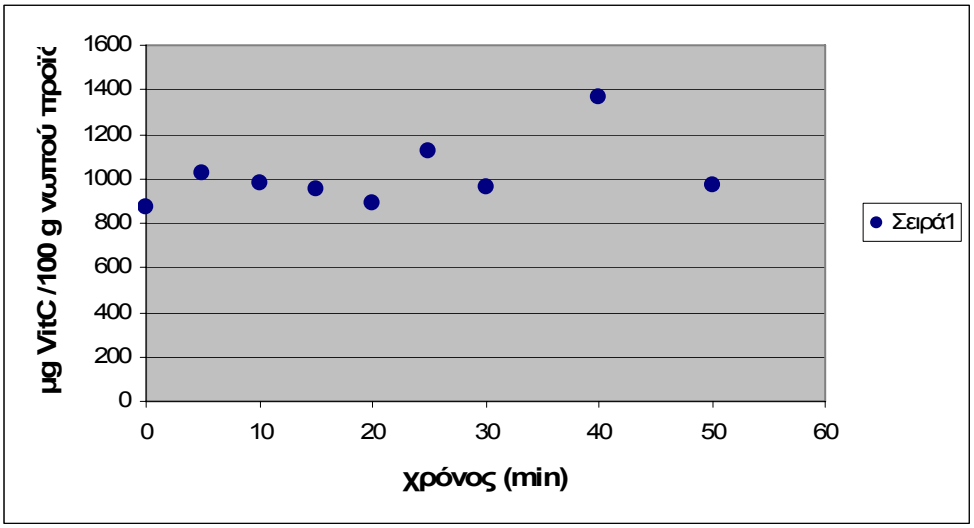
Επίσης, η αναγωγική δύναμη της σταφίδας - ψημένης σκέτης 50 min με την αντίστοιχη που απέδωσε η σταφίδα από ψωμί παρουσιάζονται περίπου ισόποσα (όχι πολύ σημαντική στατιστικά διαφοροποίηση σύμφωνα με την ανάλυση ANOVA), με τη σταφίδα - ψημένη σκέτη να υπερισχύει ελαφρώς.

Συγκρίνοντας τις δύο παρασκευές, μπισκότου και ψωμιού, φαίνεται ότι η αναγωγική δύναμη που παρουσιάζει η σταφίδα από ψωμί είναι μεγαλύτερη από την αντίστοιχη που παρουσιάζει η σταφίδα από μπισκότο. Παράλληλα, η σταφίδα από μπισκότο και η σταφίδα - τελικό προϊόν έχουν περίπου την ίδια αναγωγική δύναμη, ενώ η σταφίδα από ψωμί υπερέχει της σταφίδας - τελικό προϊόν, με στατιστικά σημαντική διαφορά.

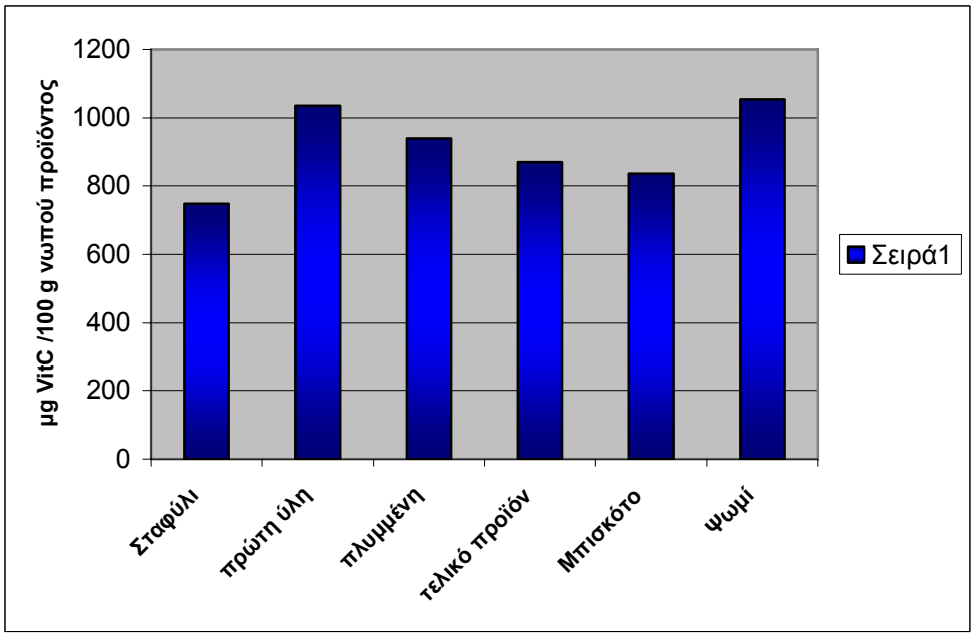
Τέλος, συγκρίνοντας τα δείγματα σταφίδας - ψημένης σκέτης μεταξύ τους, η υψηλότερη αναγωγική δύναμη διαπιστώνεται στα δείγματα που υπέστησαν ψήσιμο 40 min. Μια στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση παρουσιάζει η σταφίδα - ψημένη σκέτη 20 min που παρουσιάζει τη χαμηλότερη αναγωγική δύναμη. Στους υπόλοιπους χρόνους η αναγωγική δύναμη είχε διακυμάνσεις ως προς τα επιμέρους δείγματα, τα οποία όμως κρινόμενα συνολικά και συνεκτιμώντας το Σχήμα 5.5.1 και την ανάλυση ANOVA μπορούν να θεωρηθούν ότι κυμάνθηκαν στα ίδια επίπεδα.

Παρακάτω παρουσιάζονται διαγραμματικά τα αποτελέσματα που αναφέρθηκαν στις προηγούμενες παραγράφους:

**Σχήματα 5.5.**




**Σχήμα 5.5.1 Μέση τιμή της αναγωγικής δύναμης (μg VitC /100 gr νωπού προϊόντος) σταφίδας θερμικά επεξεργασμένης απουσία ζύμης σε διάφορους χρόνους**




**Σχήμα 5.5.2 Μέση τιμή της αναγωγικής δύναμης δειγμάτων σταφυλιού και σταφίδας πριν και μετά τη θερμική επεξεργασία**

## 5.7. Ανάλυση των εκχυλισμάτων σταφίδας με GC-MS και HPLC χρωματογραφία

Ανάλυση των εκχυλισμάτων σταφίδας με αέρια χρωματογραφία φασματομετρία μάζας οδήγησε σε ταυτοποίηση και ποσοτικό προσδιορισμό 17 πολυφαινολικών συστατικών της σταφίδας μεταξύ των οποίων (υδρόξυ)κιναμμωμικά οξέα, φαινολικά οξέα, απλές φαινόλες, φλαβονόλες, στιλβένια, βενζοϊκά οξέα κ.α. Το βανιλλικό οξύ, είναι το πολυφαινολικό συστατικό που ανιχνεύτηκε σε μεγαλύτερη ποσότητα. Θα πρέπει να σημειωθεί, επίσης, ότι ανιχνεύθηκαν κατεχίνη και επικατεχίνη και δη σε υψηλές συγκεντρώσεις στο σταφύλι. Στα σχήματα 5.1 – 5.4 στο τέλος του κεφαλαίου φαίνονται τυπικά χρωματογραφήματα GC-MS που ελήφθησαν.

Οι ενώσεις οι οποίες ταυτοποιήθηκαν με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας - φασματομετρίας μάζας, καθώς και ο ποσοτικός τους προσδιορισμός παρουσιάζονται στους Πίνακες 5.10 έως και 5.13 για τη θερμικά επεξεργασμένη σταφίδα και τη σταφίδα μετά από έκπλυση, καθώς και για το τελικό προϊόν. Οι αναλύσεις έλαβαν χώρα στα εκχυλίσματα σταφίδας τα οποία είχαν προηγουμένως υποστεί εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) και ακολούθως οι περιεχόμενες ποσότητες πολυφαινολών των εκχυλισμάτων ανήχθησαν σε περιεχόμενο πολυφαινολών στο τρόφιμο. Στα συνολικά εκχυλίσματα σταφίδας

(πριν την εκχύλιση SPE) έγινε επίσης χρωματογραφία HPLC. Από την ανάλυση αυτή προσδιορίστηκε στα δείγματα 5-υδροξυμεθυλοφουρφουράλη καθώς και μία ένωση με φάσμα απορρόφησης που παρουσίαζε σημαντική ομοιότητα με αυτό του καφεϊκού οξέος και η οποία πιθανολογείται ότι είναι το καφταρικό οξύ. Πολλές έρευνες έχουν δείξει ότι το καφεϊκό οξύ στο σταφύλι, το κρασί και τη σταφίδα βρίσκεται συχνά συζευγμένο με τρυγικό οξύ (καφταρικό οξύ) (1), (7), (18). Η ένωση αυτή ποσοτικοποιήθηκε ως καφεϊκό οξύ. Τα αποτελέσματα του ποσοτικού προσδιορισμού της HMF και του καφταρικού οξέος παρουσιάζονται στους πίνακες 5.10 – 5.13. Για την αξιολόγησή των αποτελεσμάτων έγινε χρήση του στατιστικού προγράμματος ANOVA.:

**A) Πίνακας 5.10. Συγκεντρώσεις επιμέρους πολυφαινολικών συστατικών στη σταφίδα πριν και μετά την έκπλυση και στο τελικό προϊόν.**

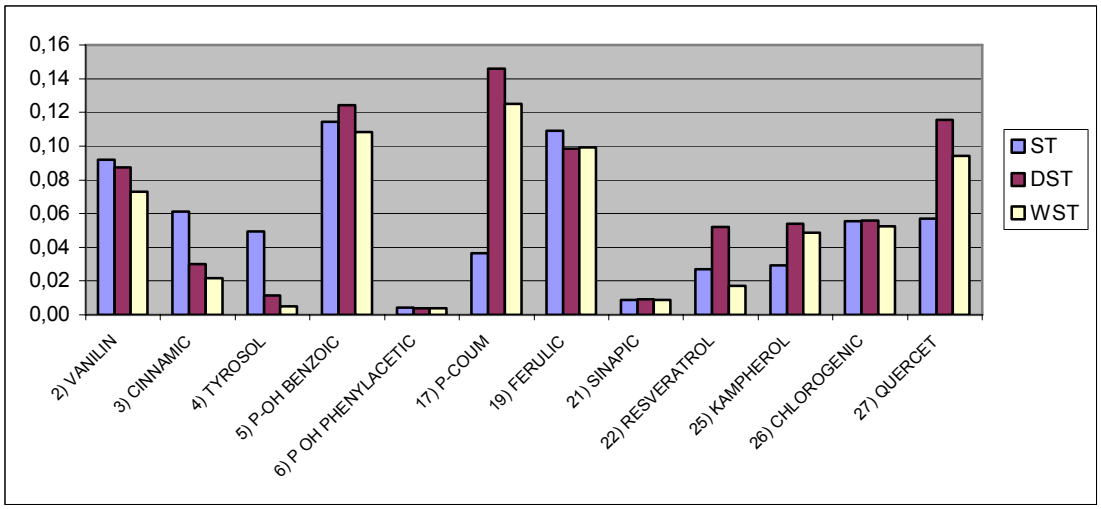
| **Πολυφαινόλες (mg/100g ΝΩΠΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ)** | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Πολυφαινόλη** | **Σταφύλι (n=4)** | **Σταφίδα πρώτη ύλη (n = 4)** | **Σταφίδα τελικό προϊόν (n = 3)** | **Σταφίδα μετά από έκπλυση (n=5)** |
| **Βανιλλίνη** | 0,005 ± 0,001 | 0,087 ± 0,017 | 0,092 ± 0,047 | 0,073 ± 0,013 |
| **Κιναμμωμικό οξύ** | 0,012 ± 0,001 | 0,030 ± 0,009 | 0,061 ± 0,017 | 0,022 ± 0,011 |
| **Τυροσόλη** | 0,001 ± 0,000 | 0,011 ± 0,006 | 0,050 ± 0,067 | 0,005 ± 0,003 |
| **p-Υδρόξυ Βενζοϊκό οξύ** | 0,008 ± 0,002$^{A}$ | 0,124 ± 0,031$^{CDEF}$ | 0,114 ± 0,022$^{CDEF}$ | 0,108 ± 0,020$^{CDEF}$ |
| **p-Υδρόξυ Φαινυλοξικό οξύ** | 0,000 ± 0,000 | 0,004 ± 0,004 | 0,004 ± 0,003 | 0,004 ± 0,003 |
| **Βαννιλικό οξύ** | 0,029 ± 0,004$^{A}$ | 1,368 ± 0,255$^{BCD}$ | 1,598 ± 0,214$^{D}$ | 1,277 ± 0,095$^{BCD}$ |
| **Πρωτοκατεχικό οξύ** | 0,040 ± 0,007$^{A}$ | 0,556 ± 0,266$^{BC}$ | 0,548 ± 0,161$^{BC}$ | 0,566 ± 0,084$^{BC}$ |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Συρριγγικό οξύ** | 0,007 ± 0,001$^{A}$ | 0,329 ± 0,127$^{B}$ | 0,402 ± 0,065$^{B}$ | 0,293 ± 0,043$^{B}$ |
| **P-κουμαρικό οξύ** | 0,251 ± 0,027$^{F}$ | 0,146 ± 0,049$^{CDE}$ | 0,037 ± 0,062$^{A}$ | 0,125 ± 0,029$^{BCDE}$ |
| **Γαλλικό οξύ** | 0,101 ± 0,006$^{A}$ | 2,131 ± 1,256$^{BC}$ | 1,293 ± 0,198$^{ABC}$ | 1,243 ± 0,257$^{ABC}$ |
| **Φερουλικό οξύ** | 0,030 ± 0,002$^{A}$ | 0,099 ± 0,014$^{CDE}$ | 0,109 ± 0,054$^{CDEF}$ | 0,099 ± 0,026$^{CDE}$ |
| **Καφεϊκό οξύ** | 0,366 ± 0,072$^{A}$ | 0,578 ± 0,113$^{AB}$ | 0,390 ± 0,217$^{A}$ | 0,590 ± 0,292$^{AB}$ |
| **Σιναπικό οξύ** | 0,003 ± 0,000 | 0,009 ± 0,001 | 0,009 ± 0,001 | 0,009 ± 0,001 |
| **Ρεσβερατρόλη** | 1,293 ± 0,214$^{B}$ | 0,052 ± 0,052$^{A}$ | 0,027 ± 0,011$^{A}$ | 0,017 ± 0,014$^{A}$ |
| **Καμπφερόλη** | 0,020 ± 0,005 | 0,054 ± 0,018 | 0,029 ± 0,018 | 0,049 ± 0,011 |
| **Χλωρογενικό οξύ** | 0,018 ± 0,000 | 0,056 ± 0,004 | 0,055 ± 0,005 | 0,053 ± 0,003 |
| **Κερκετίνη** | 0,040 ± 0,008$^{A}$ | 0,116 ± 0,053$^{AB}$ | 0,057 ± 0,040$^{A}$ | 0,094 ± 0,014$^{A}$ |

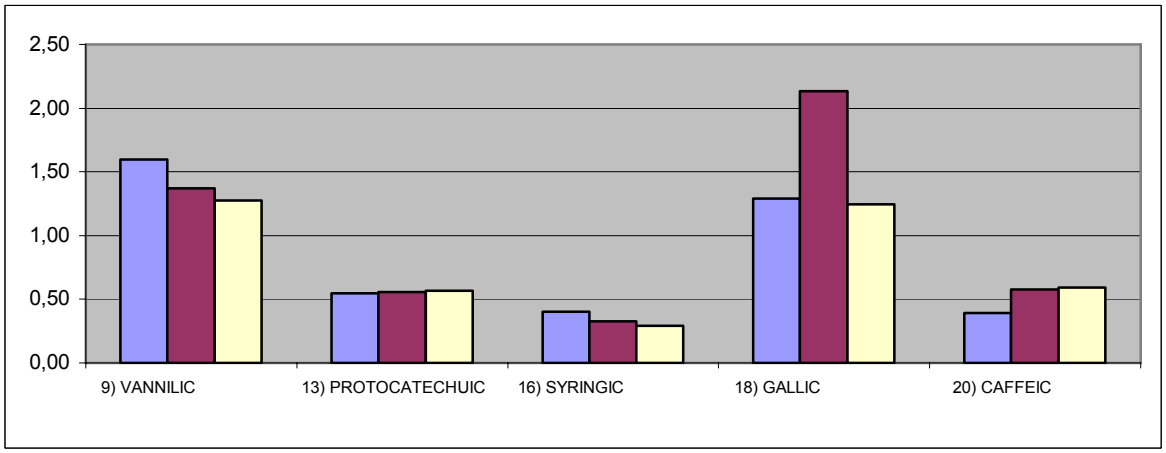
| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Καφταρικό οξύ** | - | 3,295 ± 0,937 | 3,915 | 4,327 ± 0,417 |
| **5 – υδροξυ – μεθυλο - φουρφουράλη** | - | 4,931 ± 2,220 | 2,953 | 2,985 ± 0,899 |
| **Σύνολο Πολυφαινολών** | 2,224 | 9,045 | 8,79 | 8,954 |

**Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα ANOVA χρησιμοποιώντας το test Dunkan σε επίπεδο σημαντικότητας 95 %. Διαφορετικά γράμματα αντιστοιχούν σε στατιστικά σημαντικές διαφορές.**

Σε γενικές γραμμές, αυτό που γίνεται σαφές από τον παραπάνω πίνακα αλλά και από τα διαγράμματα που ακολουθούν είναι ότι οι περισσότερες επιμέρους πολυφαινόλες παρουσιάζουν μεγαλύτερη συγκέντρωση στα δείγματα σταφίδας πρώτη ύλη. Υψηλές τιμές στα δείγματα σταφίδας - πρώτη ύλη σε σχέση με τα δείγματα σταφίδας μετά από έκπλυση και τα δείγματα τελικό προϊόν παρουσιάζονται στις τιμές p-κουμαρικού οξέος, κερκετίνης, γαλλικού οξέος, καθώς και στο άθροισμα των πολυφαινολών. Ένα συμπέρασμα που εξάγεται από τα παραπάνω είναι ότι ενδεχομένως οι τιμές των τριών αυτών επιμέρους πολυφαινολών επηρεάζονται από τη διαδικασία έκπλυσης και γι' αυτό διαπιστώνεται μείωσή τους. Περίπου ισόποσες τιμές και στα τρία δείγματα παρουσιάζουν η βανιλίνη, το p-υδροξύ-βενζοϊκό οξύ, το p-υδροξύ-φαινυλοξικό οξύ, το φερουλικό οξύ, το σιναπικό οξύ, το χλωρογενικό οξύ, το βαννιλικό οξύ, το πρωτοκατεχικό οξύ, το συριγγικό οξύ, και το καφεϊκό οξύ που σημαίνει ότι η έκπλυση δεν επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τις τιμές αυτών των πολυφαινολών. Αξίζει, επίσης, να σημειωθεί ότι το σταφύλι παρουσιάζει τη χαμηλότερη συγκέντρωση σε όλες σχεδόν τις πολυφαινόλες, με εξαίρεση το p – κουμαρικό οξύ και τη ρεσβερατρόλη στις οποίες παρουσιάζει την υψηλότερη τιμή. Για τη ρεσβερατρόλη ιδιαίτερα θα πρέπει να σημειωθεί η σημαντική αντικαρκινική δράση της. Σημειώνεται ότι υφίσταται σημαντική καταστροφή κατά τη διαδικασία παραγωγής της σταφίδας από σταφύλι, εντούτοις όμως ποσότητες ρεσβερατρόλης ανιχνεύονται και στη σταφίδα. (1)




**Σχήμα 5.6.1. Συγκέντρωση δειγμάτων σε συγκεκριμένες πολυφαινόλες mg /100g νωπού προϊόντος**




**Σχήμα 5.6.2. Συγκέντρωση δειγμάτων σε συγκεκριμένες πολυφαινόλες mg /100g νωπού προϊόντος**

**Β) Πίνακας 5.11. Συγκεντρώσεις επιμέρους πολυφαινολικών συστατικών στη θερμικά επεξεργασμένη σταφίδα παρουσία ζύμης και στο τελικό προϊόν.**

| Πολυφαινόλες (mg/100g ΝΩΠΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ) | | | |
|---|---|---|---|
| **Πολυφαινόλη** | **Σταφίδα τελικό προϊόν (n = 3)** | **Σταφίδα από ψωμί (n = 5)** | **Σταφίδα από μπισκότο (n = 7)** |
| **Βανιλλίνη** | 0,092 ± 0,047 | 0,078 ± 0,006 | 0,056 ± 0,009 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Κιναμμωμικό οξύ** | 0,061 ± 0,017 | 0,027 ± 0,008 | 0,025 ± 0,002 |
| **Τυροσόλη** | 0,050 ± 0,067 | 0,008 ± 0,004 | 0,004 ± 0,003 |
| **p-Υδρόξυ Βενζοϊκό οξύ** | 0,114 ± 0,022$^{CDEF}$ | 0,134 ± 0,016$^{DEF}$ | 0,094 ± 0,022$^{BCD}$ |
| **p-Υδρόξυ Φαινυλοξικό οξύ** | 0,004 ± 0,003 | 0,008 ± 0,005 | 0,005 ± 0,002 |
| **Βαννιλικό οξύ** | 1,598 ± 0,214$^{D}$ | 1,231 ± 0,104$^{BCD}$ | 0,931 ± 0,183$^{B}$ |
| **Πρωτοκατεχικό οξύ** | 0,548 ± 0,161$^{BC}$ | 0,716 ± 0,164$^{C}$ | 0,451 ± 0,216$^{BC}$ |
| **Συρριγγικό οξύ** | 0,402 ± 0,065$^{B}$ | 0,417 ± 0,092$^{B}$ | 0,267 ± 0,085$^{B}$ |
| **P-κουμαρικό οξύ** | 0,037 ± 0,062$^{A}$ | 0,190 ± 0,026$^{EF}$ | 0,088 ± 0,043$^{ABCD}$ |
| **Γαλλικό οξύ** | 1,293 ± 0,198$^{ABC}$ | 1,795 ± 0,179$^{BC}$ | 1,124 ± 0,230$^{AB}$ |
| **Φερουλικό οξύ** | 0,109 ± 0,054$^{CDEF}$ | 0,154 ± 0,018$^{F}$ | 0,101 ± 0,028$^{CDE}$ |
| **Καφεϊκό οξύ** | 0,390 ± 0,217$^{A}$ | 1,131 ± 0,193$^{C}$ | 0,586 ± 0,175$^{AB}$ |
| **Σιναπικό οξύ** | 0,009 ± 0,001 | 0,010 ± 0,001 | 0,010 ± 0,001 |
| **Ρεσβερατρόλη** | 0,027 ± 0,011$^{A}$ | 0,033 ± 0,008$^{A}$ | 0,034 ± 0,022$^{A}$ |

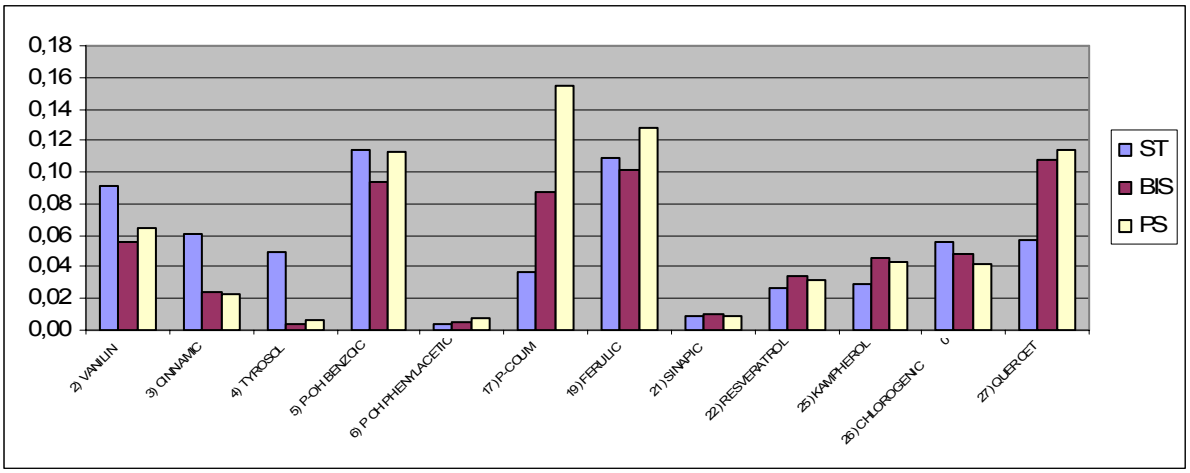
| | | | |
|---|---|---|---|
| **Καμπφερόλη** | 0,029 ± 0,018 | 0,045 ± 0,006 | 0,045 ± 0,028 |
| **Χλωρογενικό οξύ** | 0,055 ± 0,005 | 0,048 ± 0,002 | 0,049 ± 0,001 |
| **Κερκετίνη** | 0,057 ± 0,040[A] | 0,124 ± 0,036[AB] | 0,108 ± 0,068[AB] |
| **Καφταρικό οξύ** | 3,915 | 4,438 ± 0,221 | 4,045 ± 0,551 |
| **5 – υδροξυ – μεθυλο - φουρφουράλη** | 2,953 | 56,282 ± 4,144 | 11,624 ± 4,643 |
| **Σύνολο Πολυφαινολών** | 8,79 | 66,869 | 19,647 |

**Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα ANOVA χρησιμοποιώντας το test Dunkan σε επίπεδο σημαντικότητας 95 %. Διαφορετικά γράμματα αντιστοιχούν σε στατιστικά σημαντικές διαφορές.**

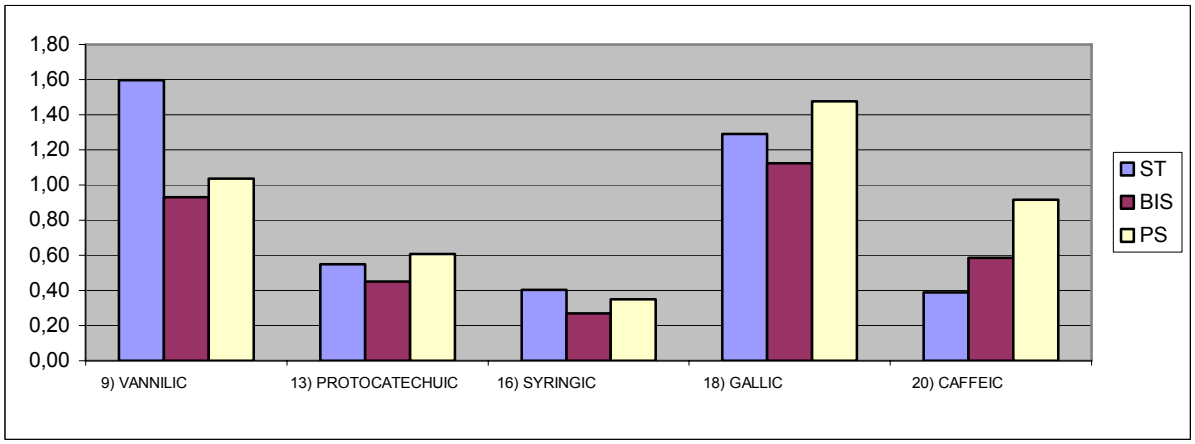
Σημαντικά στοιχεία που εξάγονται από τον πίνακα που προηγήθηκε αλλά και από τα σχήματα που έπονται είναι τα παρακάτω: Αξιοσημείωτη αύξηση παρατηρήθηκε στις τιμές του p-κουμαρικού οξέος στα δείγματα σταφίδα από μπισκότο και στα δείγματα σταφίδα από ψωμί, συγκρινόμενα με εκείνα της σταφίδας - τελικό προϊόν. Ειδικά η τιμή του p-κουμαρικού οξέος στα δείγματα σταφίδα από ψωμί παρουσίασε μεγάλη αύξηση, σχεδόν τη διπλάσια από εκείνη που παρουσίασε η σταφίδα από μπισκότο. Σημαντικές αυξήσεις παρουσίασαν, επίσης, οι τιμές της καμπφερόλης, της κερκετίνης και του καφεϊκού οξέος στα θερμικά επεξεργασμένα δείγματα παρουσία ζύμης σε σχέση με τα δείγματα σταφίδας τελικό προϊόν, ιδιαίτερα στα δείγματα σταφίδας από ψωμί. Αύξηση του καφεϊκού και του p - κουμαρικού οξέος μετά την θερμική επεξεργασία παρουσία

ζύμης, ιδιαίτερα στα δείγματα σταφίδας από ψωμί, πιθανώς να σημαίνει και την παρουσία καφταρικού και κουταρικού οξέος στο δείγμα και ενδεχόμενη υδρόλυσή τους ή βελτίωση της ικανότητας εκχύλισής τους. Απ' την άλλη, αύξηση μόνο στα δείγματα σταφίδας από ψωμί παρουσίασαν το φερουλικό οξύ και το γαλλικό οξύ, γεγονός που θα μπορούσε να σημαίνει επίσης την ύπαρξη συζευγμένων μορφών των παραπάνω πολυφαινολών στα δείγματα σταφίδας Βοστίτσας. Περίπου στα ίδια επίπεδα και στα τρία δείγματα κυμάνθηκαν οι τιμές του p-υδροξύ-φαινυλοξικού οξέος, του σιναπικού οξέος, της ρεσβερατρόλης, του χλωρογενικού οξέος, του πρωτοκατεχικού οξέος και του συριγγικού οξέος. Τέλος, μείωση στα θερμικά επεξεργασμένα δείγματα σε σχέση με εκείνα της σταφίδας - τελικό προϊόν παρουσίασαν οι επιμέρους πολυφαινόλες βανιλίνη, κινναμωμικό οξύ, τυροσόλη και βαννιλικό οξύ.

**Σχήμα 5.7.1. Συγκέντρωση δειγμάτων σε συγκεκριμένες πολυφαινόλες mg /100g νωπού προϊόντος**




**Σχήμα 5.7.2. Συγκέντρωση δειγμάτων σε συγκεκριμένες πολυφαινόλες mg /100g νωπού προϊόντος**



**Γ) Πίνακας 5.12. Συγκεντρώσεις επιμέρους πολυφαινολικών συστατικών στη θερμικά επεξεργασμένη σταφίδα απουσία ζύμης και στο τελικό προϊόν.**

| Πολυφαινόλες (mg/100g ΝΩΠΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Πολυφαινόλη** | **Σταφίδα τελικό προϊόν (n=3)** | **Σταφίδα ψημένη σκέτη 5 min (n=2)** | **Σταφίδα ψημένη σκέτη 10 min (n =3)** | **Σταφίδα ψημένη σκέτη 15 min (n = 2)** | **Σταφίδα ψημένη σκέτη 20 min (n = 3)** |
| **Βανιλλίνη** | 0,092 ± 0,047 | 0,066 | 0,069 ± 0,016 | 0,065 | 0,082 ± 0,009 |
| **Κιναμμωμικό οξύ** | 0,061 ± 0,017 | 0,024 | 0,038 ± 0,020 | 0,035 | 0,038 ± 0,003 |
| **Τυροσόλη** | 0,050 ± 0,067 | 0,035 | 0,008 ± 0,002 | 0,033 | 0,006 ± 0,000 |
| **p-Υδρόξυ Βενζοϊκό οξύ** | 0,114 ± 0,022$^{CDEF}$ | 0,060$^{B}$ | 0,087 ± 0,021$^{BC}$ | 0,133$^{CDEF}$ | 0,099 ± 0,017$^{BCDEF}$ |
| **p-Υδρόξυ Φαινυλοξικό οξύ** | 0,004 ± 0,003 | - | - | - | - |
| **Βαννιλικό οξύ** | 1,598 ± 0,214$^{D}$ | 1,062$^{BC}$ | 1,127 ± 0,262$^{BCD}$ | 1,489$^{CD}$ | 1,256 ± 0,219$^{BCD}$ |
| **Πρωτοκατεχικό οξύ** | 0,548 ± 0,161$^{BC}$ | 0,392$^{BC}$ | 0,507 ± 0,114$^{BC}$ | 1,762$^{C}$ | 0,284 ± 0,248$^{AB}$ |
| **Συρριγγικό οξύ** | 0,402 ± 0,065$^{B}$ | 0,277$^{B}$ | 0,287 ± 0,093$^{B}$ | 0,429$^{B}$ | 0,310 ± 0,089$^{B}$ |
| **P-κουμαρικό οξύ** | 0,037 ± 0,062$^{A}$ | 0,075$^{ABC}$ | 0,100 ± 0,027$^{ABCD}$ | 0,111$^{ABCDE}$ | 0,131 ± 0,043$^{BCDE}$ |
| **Γαλλικό οξύ** | 1,293 ± 0,198$^{ABC}$ | 0,889$^{AB}$ | 1,876 ± 1,339$^{BC}$ | 2,403$^{C}$ | 1,035 ± 0,123$^{AB}$ |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Φερουλικό οξύ** | 0,109 ± 0,054$^{CDEF}$ | 0,072$^{ABCD}$ | 0,075 ± 0,033$^{ABC}$ | 0,136$^{DEF}$ | 0,083 ± 0,038$^{E}$ |
| **Καφεϊκό οξύ** | 0,390 ± 0,217$^{A}$ | 0,195$^{A}$ | 0,506 ± 0,402$^{AB}$ | 0,747$^{ABC}$ | 0,616 ± 0,437$^{AB}$ |
| **Σιναπικό οξύ** | 0,009 ± 0,001 | 0,010 | 0,011 ± 0,000 | 0,010 | 0,011 ± 0,001 |
| **Ρεσβερατρόλη** | 0,027 ± 0,011$^{A}$ | 0,028$^{A}$ | 0,017 ± 0,008$^{A}$ | 0,016$^{A}$ | 0,031 ± 0,019$^{A}$ |
| **Καμπφερόλη** | 0,029 ± 0,018 | 0,002 | 0,014 ± 0,005 | 0,035 | 0,026 ± 0,011 |
| **Χλωρογενικό οξύ** | 0,055 ± 0,005 | 0,056 | 0,061 ± 0,001 | 0,058 | 0,060 ± 0,002 |
| **Κερκετίνη** | 0,057 ± 0,040$^{A}$ | 0,001$^{A}$ | 0,025 ± 0,013$^{A}$ | 0,069$^{A}$ | 0,052 ± 0,031$^{A}$ |
| **Καφταρικό οξύ** | 3,915 | 3,889 ± 0,947 | 7,211 ± 3,135 | 5,425 ± 0,638 | 6,206 ± 0,823 |
| **5 – υδροξυ – μεθυλο - φουρφουράλη** | 2,953 | 1,348 ± 0,905 | 2,918 ± 1,328 | 2,772 ± 0,951 | 4,608 ± 0,024 |
| **Σύνολο Πολυφαινολών** | 8,79 | 7,132 | 12,019 | 13,956 | 10,326 |

**Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα ANOVA χρησιμοποιώντας το test Dunkan σε επίπεδο σημαντικότητας 95 %. Διαφορετικά γράμματα αντιστοιχούν σε στατιστικά σημαντικές διαφορές.**

**Πίνακας 5.13. Συγκεντρώσεις επιμέρους πολυφαινολικών συστατικών στη θερμικά επεξεργασμένη σταφίδα απουσία ζύμης και στο τελικό προϊόν.**

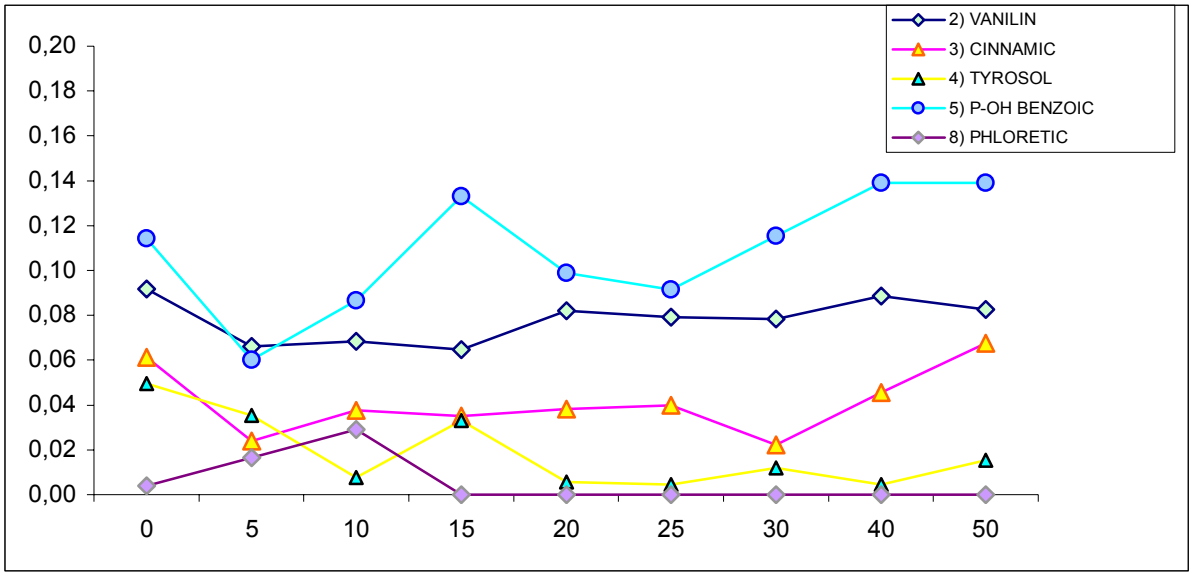
| Πολυφαινόλες (mg/100g ΝΩΠΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Πολυφαινόλη** | **Σταφίδα τελικό προϊόν (n= 3)** | **Σταφίδα ψημένη σκέτη 25 min (n =2)** | **Σταφίδα ψημένη σκέτη 30 min (n =3)** | **Σταφίδα ψημένη σκέτη 40 min (n = 2)** | **Σταφίδα ψημένη σκέτη 50 min (n=3)** |
| **Βανιλλίνη** | 0,092 ± 0,047 | 0,079 | 0,078 ± 0,006 | 0,088 | 0,083 ± 0,021 |
| **Κιναμμωμικό οξύ** | 0,061 ± 0,017 | 0,040 | 0,022 ± 0,017 | 0,046 | 0,068 ± 0,008 |
| **Τυροσόλη** | 0,050 ± 0,067 | 0,005 | 0,012 ± 0,003 | 0,005 | 0,015 ± 0,015 |
| **p-Υδρόξυ Βενζοϊκό οξύ** | 0,114 ± 0,022$^{CDEF}$ | 0,091$^{BCDE}$ | 0,115 ± 0,020$^{CDEF}$ | 0,139$^{F}$ | 0,139 ± 0,034$^{EF}$ |
| **p-Υδρόξυ Φαινυλοξικό οξύ** | 0,004 ± 0,003 | - | - | - | - |
| **Βαννιλικό οξύ** | 1,598 ± 0,214$^{D}$ | 1,187$^{BCD}$ | 1,077 ± 0,347$^{BC}$ | 1,408$^{BCD}$ | 1,326 ± 0,665$^{BCD}$ |
| **Πρωτοκατεχικό οξύ** | 0,548 ± 0,161$^{BC}$ | 0,449$^{BC}$ | 0,542 ± 0,091$^{BC}$ | 0,480$^{BC}$ | 0,591 ± 0,257$^{BC}$ |
| **Συρριγγικό οξύ** | 0,402 ± 0,065$^{B}$ | 0,455$^{B}$ | 0,273 ± 0,131$^{B}$ | 0,328$^{B}$ | 0,440 ± 0,395$^{B}$ |
| **P-κουμαρικό οξύ** | 0,037 ± 0,062$^{A}$ | 0,165$^{DE}$ | 0,140 ± 0,080$^{BCDE}$ | 0,056$^{AB}$ | 0,129 ± 0,064$^{BCDE}$ |
| **Γαλλικό οξύ** | 1,293 ± 0,198$^{ABC}$ | 1,295$^{ABC}$ | 0,929 ± 0,478$^{AB}$ | 1,663$^{BC}$ | 2,112 ± 0,659$^{BC}$ |
| **Φερουλικό οξύ** | 0,109 ± 0,054$^{CDEF}$ | 0,150$^{EF}$ | 0,091 ± 0,010$^{BCDE}$ | 0,041$^{AB}$ | 0,125 ±0,055$^{CDEF}$ |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Καφεϊκό οξύ** | 0,390 ± 0,217$^{A}$ | 1,070$^{BC}$ | 0,631 ± 0,514$^{AB}$ | 0,170$^{A}$ | 0,556 ± 0,317$^{AB}$ |
| **Σιναπικό οξύ** | 0,009 ± 0,001 | 0,011 | 0,010 ± 0,000 | 0,011 | 0,010 ± 0,002 |
| **Ρεσβερατρόλη** | 0,027 ± 0,011$^{A}$ | 0,023$^{A}$ | 0,054 ± 0,067$^{A}$ | 0,003$^{A}$ | 0,013 ± 0,006$^{A}$ |
| **Καμπφερόλη** | 0,029 ± 0,018 | 0,038 | 0,023 ± 0,027 | 0,042 | 0,090 ± 0,095 |
| **Χλωρογενικό οξύ** | 0,055 ± 0,005 | 0,060 | 0,059 ± 0,000 | 0,058 | 0,058 ± 0,002 |
| **Κερκετίνη** | 0,057 ± 0,040$^{A}$ | 0,066$^{A}$ | 0,043 ± 0,051$^{A}$ | 0,044$^{A}$ | 0,231 ± 0,251$^{B}$ |
| **Καφταρικό οξύ** | 3,915 | 7,395 | 2,421 | 5,000 | 5,765 |
| **5 – υδροξυ – μεθυλο - φουρφουράλη** | 2,953 | 5,804 | 4,729 | 12,667 | 23,492 |
| **Σύνολο Πολυφαινολών** | 8,79 | 12,579 | 6,52 | 9,582 | 11,751 |

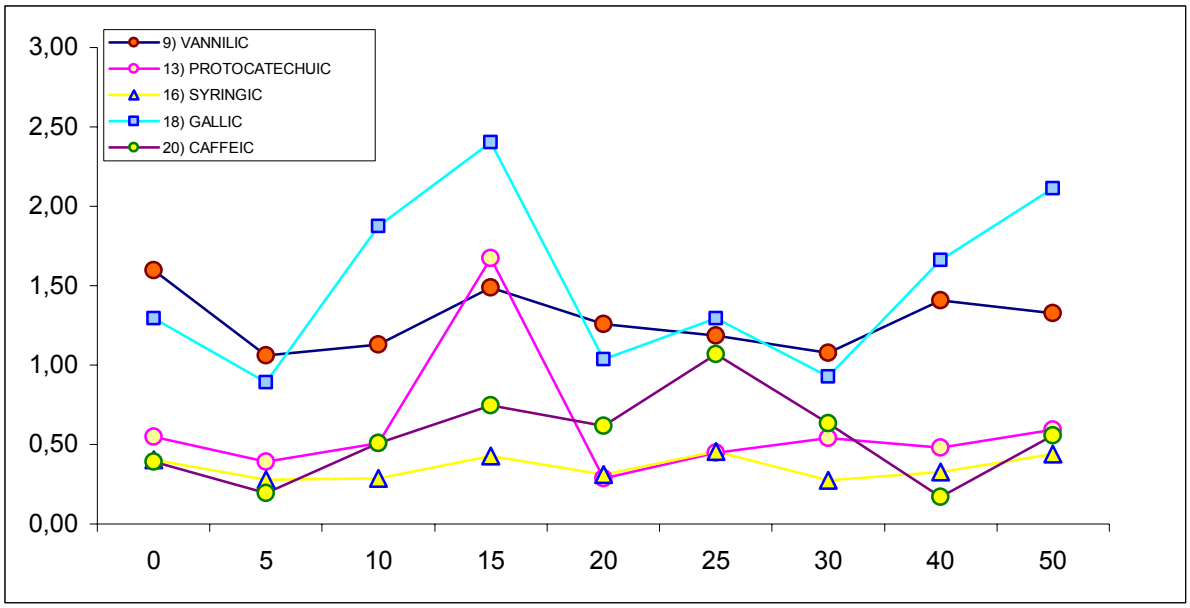
**Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα ANOVA χρησιμοποιώντας το test Dunkan σε επίπεδο σημαντικότητας 95 %. Διαφορετικά γράμματα αντιστοιχούν σε στατιστικά σημαντικές διαφορές.**

Στα δείγματα σταφίδας που υπέστησαν θερμική επεξεργασία σε διαφορετικούς χρόνους σε σταθερά επίπεδα κυμάνθηκαν η βανιλίνη, το κινναμωμικό οξύ, το βαννιλικό οξύ, το συριγγικό οξύ, το χλωρογενικό οξύ και το σιναπικό οξύ. Οι ποσότητες του φλωρετικού οξέος και της τυροσόλης

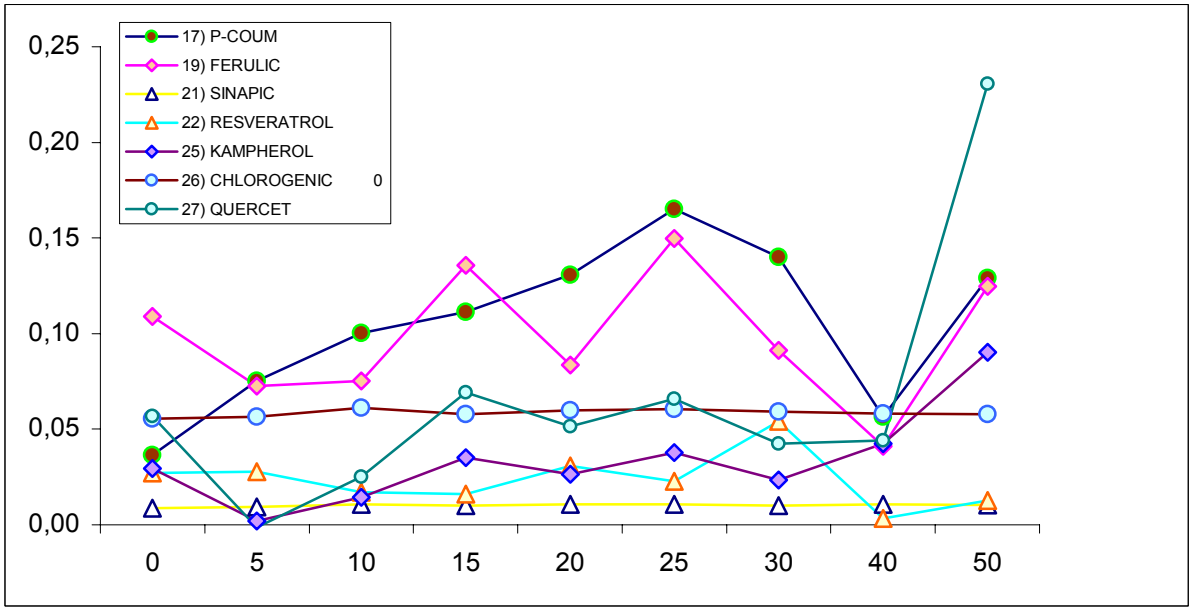
παρουσίασαν δραματική μείωση μετά τα 15-20 λεπτά, ιδιαίτερα εκείνη του φλωρετικού οξέος μηδενίζεται. Το πρωτοκατεχικό οξύ και το γαλλικό οξύ παρουσιάζουν μια αξιοσημείωτη κορυφή στα 15 λεπτά, ακολουθεί μείωση ακολουθεί εκ νέου αύξηση στα 50 λεπτά. Κορυφή στα 50 λεπτά ψησίματος παρουσιάζουν, επίσης, p-κουμαρικό οξύ, το φερουλικό οξύ και η κερκετίνη. Η χαμηλότερη τιμή για τις περισσότερες επιμέρους πολυφαινόλες (καφεϊκό οξύ, κερκετίνη, p-κουμαρικό οξύ, φερουλικό οξύ, ρεσβερατρόλη) παρουσιάζεται στο ψήσιμο 40 λεπτών. Ειδικά η ρεσβερατρόλη φαίνεται ότι «εξαφανίζεται» από το συγκεκριμένο χρονικό σημείο κι έπειτα. Παρόμοια μείωση στην καμπφερόλη μετά από θερμική επεξεργασία φαίνεται ότι εντοπίζεται και σε ανάλογη έρευνα με αντικείμενο το λάχανο (50) αλλά και τα μούρα προς παρασκευή μαρμελάδας (55), ενώ μείωση στις τιμές p-κουμαρικού οξέος εντοπίζεται και σε έρευνα με αντικείμενο τα δαμάσκηνα (51).



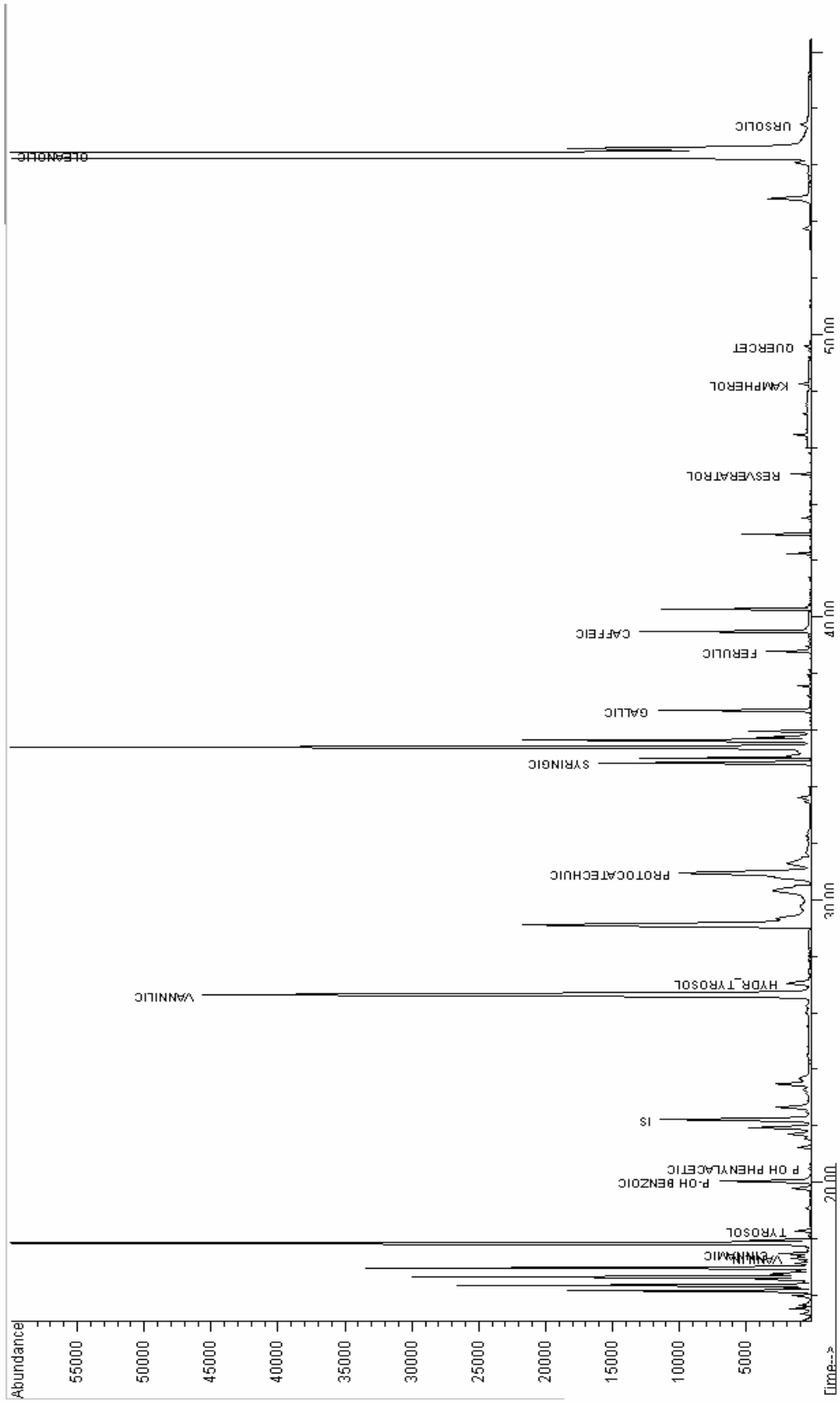

**Σχήμα 5.8.1. Μεταβολή συγκεντρώσεων συγκεκριμένων πολυφαινολών mg /100g νωπού προϊόντος με την πάροδο του χρόνου**



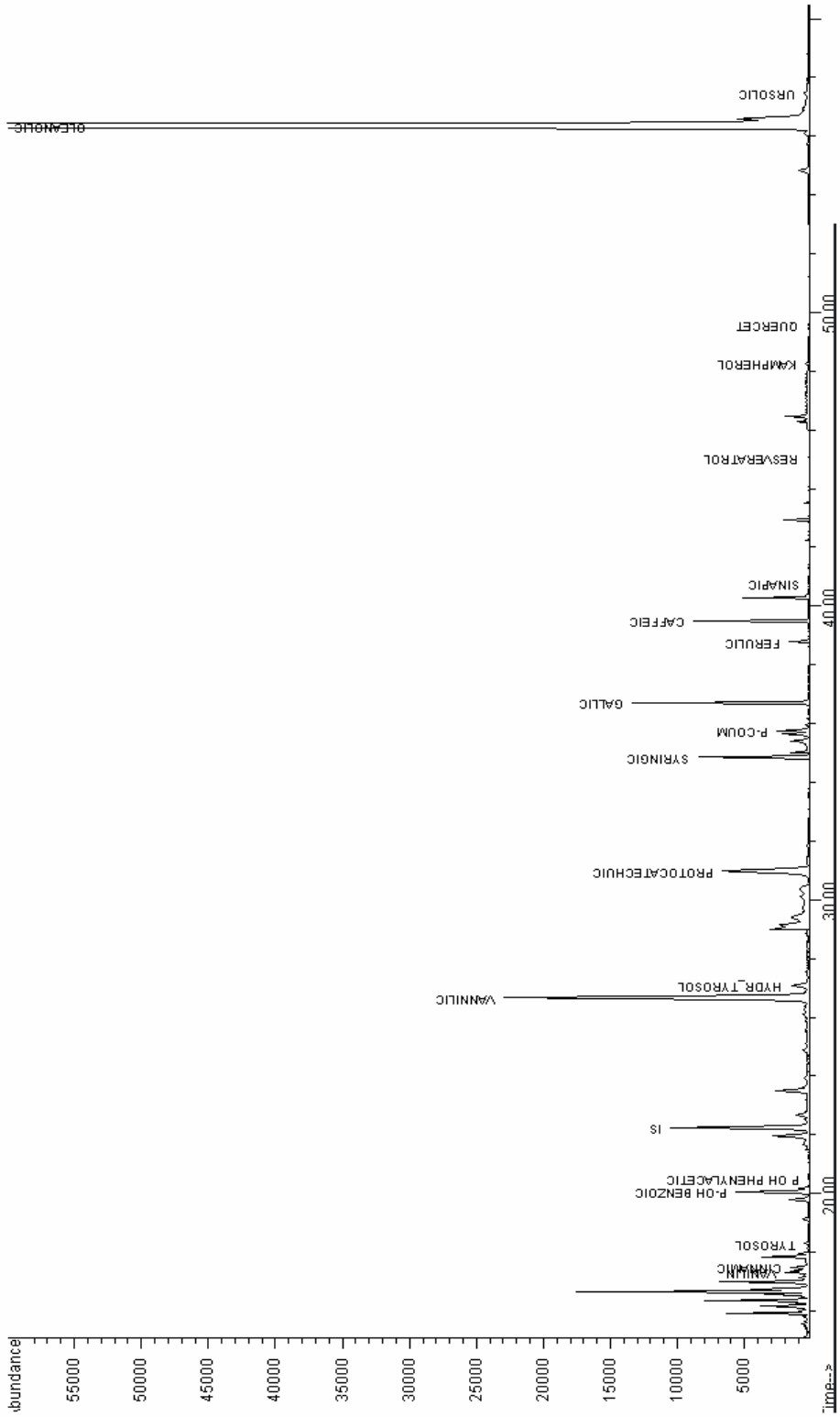

**Σχήμα 5.8.2. Μεταβολή συγκεντρώσεων συγκεκριμένων πολυφαινολών mg /100g νωπού προϊόντος με την πάροδο του χρόνου**



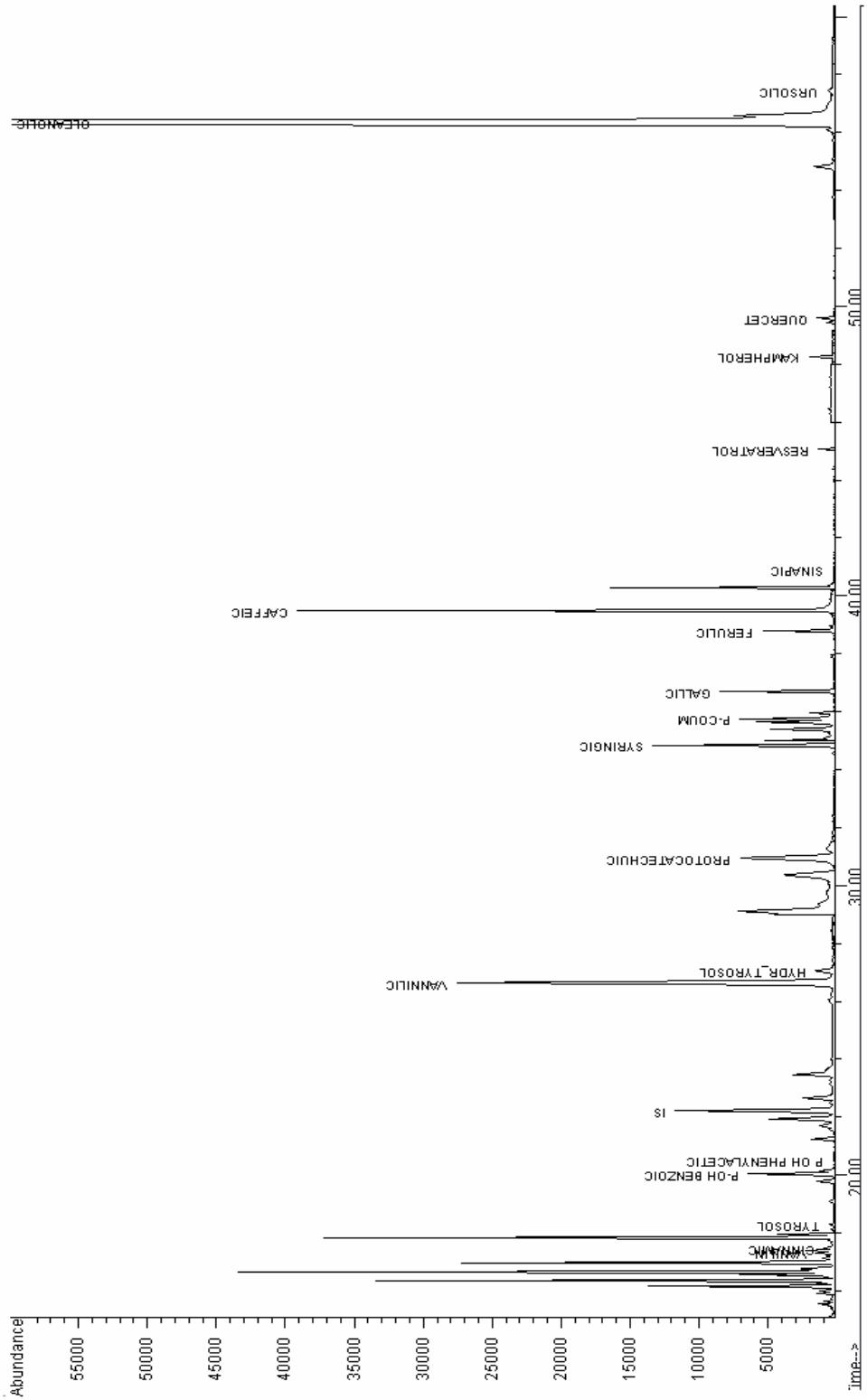

**Σχήμα 5.8.3. Μεταβολή συγκεντρώσεων συγκεκριμένων πολυφαινολών mg /100g νωπού προϊόντος με την πάροδο του χρόνου**



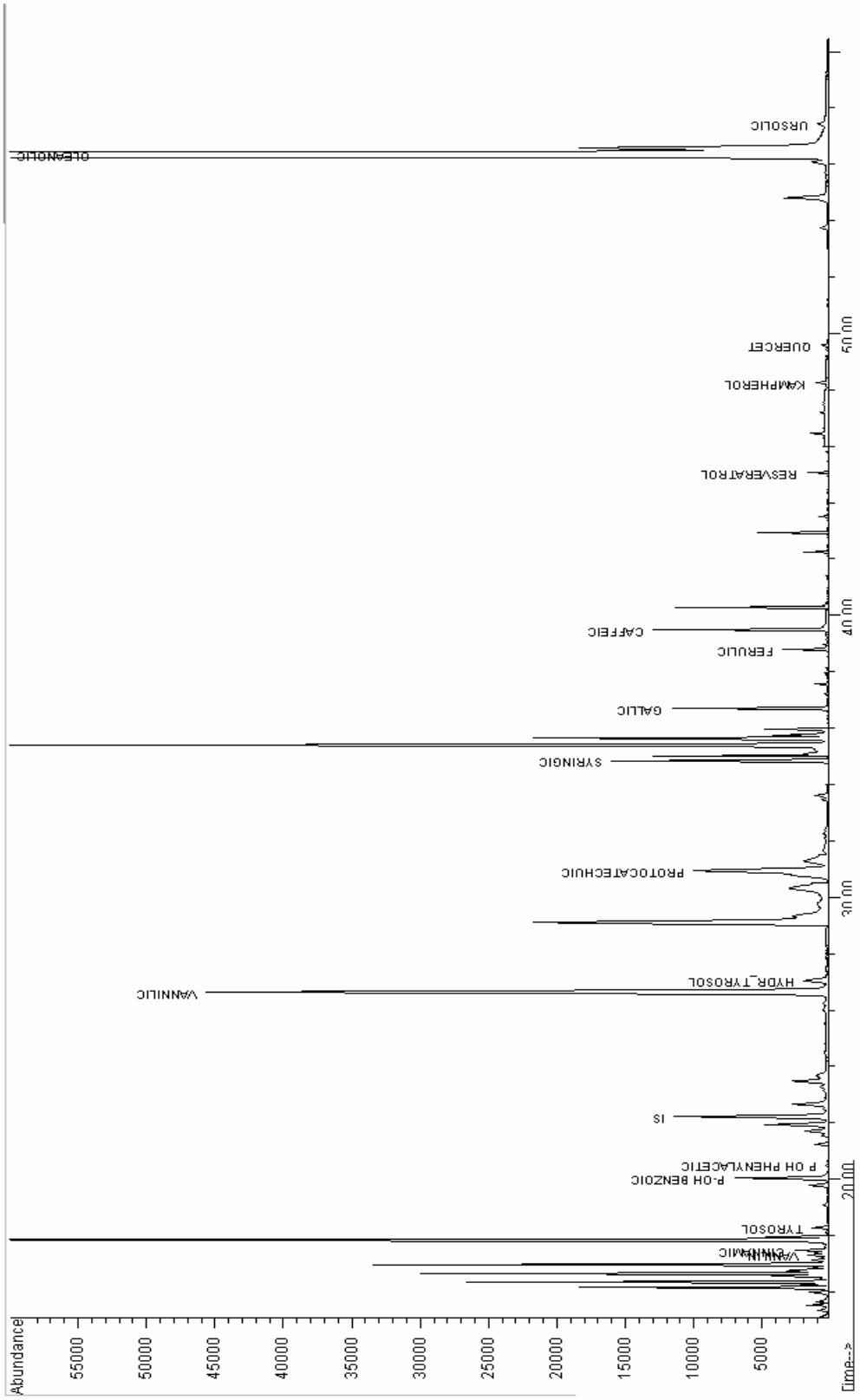

**Σχήμα 5.10:** Χρωματογράφημα (GC-MS) εκχυλίσματος σταφίδας – τελικό προϊόν μετά από καθαρισμό SPE




**Σχήμα 5.11:** Χρωματογράφημα (GC-MS) εκχυλίσματος σταφίδας από μπισκότο μετά από καθαρισμό SPE




**Σχήμα 5.12:** Χρωματογράφημα (GC-MS) εκχυλίσματος σταφίδας από ψωμί μετά από καθαρισμό SPE




**Σχήμα 5.12:** Χρωματογράφημα (GC-MS) εκχυλίσματος σταφίδας – ψημένης σκέτης 40 min μετά από καθαρισμό SPE

# Κεφάλαιο 6ο

# ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στη μελέτη που πραγματοποιήθηκε, ανιχνεύτηκαν και προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις 17- 19 πολυφαινολικών συστατικών σε δείγματα κορινθιακής σταφίδας πριν και μετά τη διαδικασία έκπλυσης, αλλά και πριν και μετά τη διαδικασία θερμικής επεξεργασίας. Επίσης, τα δείγματα κορινθιακής σταφίδας πριν και μετά τις προαναφερόμενες διαδικασίες εξετάστηκαν ως προς το ολικό φλαβανολικό τους περιεχόμενο, το αντιοξειδωτικό τους περιεχόμενο και την αναγωγική τους δύναμη. Επιπλέον, έγινε χρήση της αέριας χρωματογραφίας – φασματομετρίας μάζας για την ταυτοποίηση και τον προσδιορισμό συγκεκριμένων πολυφαινολικών συστατικών.

Σε γενικές γραμμές, αυτό που φαίνεται είναι ότι η έκπλυση δεν επηρέασε το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο και το ολικό περιεχόμενο φλαβανολών των δειγμάτων. Απ' την άλλη, στα ίδια δείγματα, φαίνεται ότι η έκπλυση έχει επιδράσει ως ένα σημείο αντιοξειδωτική τους ικανότητα και στην αναγωγική τους δύναμη. Πιο συγκεκριμένα, η έκπλυση της πρώτης ύλης οδήγησε στη μείωση τόσο της αντιοξειδωτικής ικανότητας όσο και της αναγωγικής δύναμης.

Τα δείγματα της σταφίδας που υπέστησαν θερμική επεξεργασία απουσία ζύμης φαίνεται ότι δεν παρουσίασαν αλλαγή ούτε στο ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο, ούτε στο ολικό περιεχόμενο φλαβανολών, με εξαίρεση τα δείγματα του χρονικού σημείου 40 min τα οποία και παρουσίασαν αυξημένες τιμές και στις δύο παραμέτρους. Παρόμοια αποτελέσματα λήφθηκαν από τα ίδια δείγματα και για την αντιοξειδωτική ικανότητα τους και για την αναγωγική δύναμή τους. Πιο συγκεκριμένα, τα δείγματα που υπέστησαν θερμική επεξεργασία απουσία ζύμης σε διάφορους χρόνους δεν παρουσίασαν αλλαγή ως προς την αντιοξειδωτική και την αναγωγική ικανότητα τους, με εξαίρεση τα δείγματα του χρονικού σημείου 40 min τα οποία παρουσίασαν αύξηση και στις δύο παραμέτρους.

Τέλος, σημαντικά συμπεράσματα εξήγαγε η έρευνα όσον αφορά τα δείγματα που υπέστησαν θερμική επεξεργασία παρουσία ζύμης. Τα δείγματα που επεξεργάστηκαν στην προσομοίωση μπισκότου δεν παρουσίασαν σημαντικές στατιστικές διαφορές ως προς το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο και το ολικό περιεχόμενο φλαβανολών σε σύγκριση με τα δείγματα της σταφίδας – τελικό προϊόν ενώ το ίδιο αμετάβλητη παρέμεινε και η αναγωγική δύναμη. Απ' την άλλη, σημαντική αύξηση παρουσίασαν οι τιμές της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων αυτών. Παράλληλα, τα δείγματα που υπέστησαν θερμική επεξεργασία παρουσία ζύμης στην προσομοίωση ψωμί παρουσίασαν αύξηση ως προς το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο αλλά και την αναγωγική δύναμη που επέδειξαν, συγκρινόμενα πάντα με τις αντίστοιχες τιμές που επέδειξε η σταφίδα - τελικό προϊόν. Απ' την άλλη, αμετάβλητες παρέμειναν στα δείγματα αυτά οι τιμές του ολικού περιεχομένου φλαβανολών και της αντιοξειδωτικής ικανότητας τους.

Οι αυξήσεις που παρουσίασαν τα δείγματα σταφίδας προσομοίωσης μπισκότου και τα δείγματα σταφίδας προσομοίωσης ψωμιού στις τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας και αναγωγικής δύναμης αντίστοιχα είναι πιθανόν σημαντικά ευρήματα. Κι αυτό γιατί το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο και το ολικό περιεχόμενο φλαβανολών δεν παρουσίασαν αλλαγή ως προς τις τιμές τους στα παραπάνω δείγματα. Ενδεχομένως το γεγονός αυτό να μπορεί να αποδοθεί σε προϊόντα της αντίδρασης Maillard που εντοπίζονται σε μεγάλες ποσότητες σε τέτοιου είδους αποξηραμένα φρούτα. Για να γίνει σαφές το παραπάνω αρκεί να σημειωθεί ότι ενδιάμεσο προϊόν της αντίδρασης Maillard είναι το HMF (hydroxymethylfural) που έχει μέγιστη απορρόφηση στα 280-290 nm και που η απορρόφηση σ' αυτό το μήκος κύματος συνδέεται σημαντικά με την τιμή αντιοξειδωτικής ικανότητας. Σε αντίστοιχα συμπεράσματα έχουν καταλήξει παρόμοιες έρευνες που έχουν αναλυθεί εκτενώς στο Κεφάλαιο 3$^{ο}$.(33, 51, 53, 48)

Όσον αφορά την ταυτοποίηση και τον προσδιορισμό συγκεκριμένων πολυφαινολών, σε γενικές γραμμές φαίνεται ότι οι περισσότερες επιμέρους πολυφαινόλες παρουσιάζουν μεγαλύτερη συγκέντρωση στα δείγματα σταφίδας - πρώτη ύλη. Υψηλές τιμές στα δείγματα σταφίδας - πρώτη ύλη σε σχέση με τα δείγματα σταφίδας μετά από έκπλυση και τα δείγματα σταφίδας - τελικό προϊόν παρουσιάζονται στις τιμές p-κουμαρικού οξέος, κερκετίνης, γαλλικού οξέος, καθώς και στο άθροισμα των πολυφαινολών. Ένα συμπέρασμα που εξάγεται από τα παραπάνω είναι ότι ενδεχομένως οι τιμές των τριών αυτών επιμέρους

πολυφαινολών επηρεάζονται από τη διαδικασία έκπλυσης και γι' αυτό διαπιστώνεται μείωσή τους.

Απ' την άλλη, η θερμική επεξεργασία στα δείγματα σταφίδας από ψωμί και στα δείγματα σταφίδας από μπισκότο φαίνεται ότι επηρέασε θετικά τις περισσότερες επιμέρους πολυφαινόλες, με εξαίρεση τη βανιλίνη, το κιναμωμμικό οξύ, την τυροσόλη και το βανιλικό οξύ των οποίων οι τιμές παρουσίασαν μείωση σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές που εντοπίστηκαν στα δείγματα σταφίδας – τελικό προϊόν. Οι υπόλοιπες επιμέρους πολυφαινόλες στα δείγματα που υπέστησαν θερμική επεξεργασία παρουσία ζυμής, είτε παρέμειναν αμετάβλητες (p-υδροξυ-φαινολικό οξύ, σιαναπικό οξύ, ρεσβερατρόλη, χλωρογενικό οξύ, πρωτοκατεχικό οξύ και συριγγικό οξύ), είτε παρουσίασαν σημαντική αύξηση (χλωρογενικό οξύ, πρωτοκατεχικό οξύ και συριγγικό οξύ). Αύξηση μόνο στα δείγματα σταφίδας από ψωμί παρουσίασαν το γαλλικό οξύ και το φερουλικό οξύ.

Τέλος, φαίνεται ότι η θερμική επεξεργασία απουσία ζύμης σε διάφορους χρόνους στα δείγματα σταφίδας δεν επηρέασε τις τιμές των περισσότερων πολυφαινολικών συστατικών (βανιλίνη, κινναμωμικό οξύ, βαννιλικό οξύ, συριγγικό οξύ, χλωρογενικό οξύ και σιναπικό οξύ). Οι υπόλοιπες επιμέρους πολυφαινόλες φαίνεται να παρουσιάζουν διακύμανση στις τιμές τους και δε μπορεί να εξαχθεί συμπέρασμα για το αν επηρεάζονται θετικά ή αρνητικά. Εξαίρεση αποτελεί η ρεσβερατρόλη την οποία η θερμική επεξεργασία απούσια ζύμης σε βάθος χρόνου φαίνεται να την «εξαφανίζει».

Από τα παραπάνω φαίνεται ότι η σταφίδα αποτελεί μία ιδιαίτερα πλούσια πηγή αντιοξειδωτικών συστατικών με αξιοσημείωτη αντιοξειδωτική ικανότητα και αναγωγική δύναμη, οι οποίες δεν φαίνεται να μειώνονται από τη θερμική επεξεργασία είτε παρουσία είτε απουσία ζύμης αλλά ούτε από τη διαδικασία έκπλυσης της πρώτης ύλης. Αντιθέτως, σε κάποιες περιπτώσεις αυτές φαίνονται να αυξάνονται, γεγονός που τις καθιστά σημαντικό στοιχείο της Μεσογειακής, και όχι μόνο, διατροφής.

# ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Karadeniz, F.; Durst, R. W.; Wrolstad, R. E. Polyphenolic Composition of Raisins. *J. Agric. Food Chem* **2000**, *48*, 5343 – 5350.

2. Camire, M. E.; Dougherty, M. P. Raisin Dietary Fiber Composition and in Vitro Bile Acid Binding. *J. Agric. Food Chem* **2003**, *51*, 834 – 837.

3. Baydar, N. G.; Ozkan, G.; Sagdic, O. Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera L.*) extracts. *Food Control* **2004**, *15*, 335 – 339.

4. Proestos, C.; Bakogiannis A.; Psarianos, C.; Koutinas, A. A.; Kanellaki, M.; Komaitis, M. High performance liquid chromatography analysis of phenolic substances in Greek wines. *Food Control* **2005**, *16*, 319 – 323.

5. Palomino, O.; Gomez-Serranillos, M. P.; Slowing, K.; Carretero, E.; Villar, A. Study of polyphenols in grape berries by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* **2000**, *870*, 449 – 451.

6. Guendez, R.; Kallithraka, S.; Makris, D. P.; Kefalas, P. An Analytical Survey of the Polyphenols of Seeds of Varieties of Grape (*Vitis Vinifera*) Cultivated in Greece: Implications for Exploitation as a Source of Value-added Phytochemicals. *Phytochem. Anal* **2005**, *16*, 17 – 23.

7. Alonso - Borbalan, A. M.; Zorro, L.; Guillen, D. A.; Garcia - Barroso, C. Study of the polyphenol content of red and white grape varieties by liquid chromatography-mass spectrometry and its relationship to antioxidant power. *J. Chromatogr. A* **2003**, *1012*, 31 – 38.

8. Nawaz, H.; Shi, J.; Mittal, G. S.; Kakuda, Y. Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. *Separation and Purification Technology* **2005**, *Article in Press*.

9. Del Alamo, M.; Casado, L.; Hernandez, V.; Jimenez, J. J. Determination of free molecular phenolics and catechins in wine by solid phase extraction on

polymeric cartridges and liquid chromatography with diode array detection. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1049*, 97 – 105.

10. Davalos, A.; Bartolome, B.; Gomez-Gordoves, C. Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars. *Food Chem.* **2005**, *93*, 325 – 330.

11. Guendez, R.; Kallithraka, S.; Makris, D. P.; Kefalas, P. Determination of low molecular weight polyphenolic constituents in grape (*Vitis vinifera sp.*) seed extracts: Correlation with antiradical activity. *Food Chem.* **2005**, *89*, 1 – 9.

12. Netzel, M.; Stass, G.; Bitsch, I.; Konitz, R.; Christmann, M.; Bitsch, R. Effect of grape processing on selected antioxidant phenolics in red wine. *J. Food Engineer.* **2003**, *56*, 223 – 228.

13. Revilla, E.; Ryan, J. - M. Analysis of several phenolic compounds with potential antioxidant properties in grape extracts and wines by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection without sample preparation. *J. Chromatogr. A* **2000**, *881*, 461 – 469.

14. Kong, J. – M.; Chia, L. – S.; Goh, N. – K.; Chia, T. – F.; Brouillard, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* **2003**, *64*, 923 – 933.

15. Garcia-Beneytez, E.; Cabello, F.; Revilla, E. Analysis of Grape and Wine Anthocyanins by HPLC-MS. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 5622 – 5629.

16. Eremina, A. V.; Reshetnyak, V. Y.; Vezirishvili, M. O. HPLC-MS determination of polyphenols in dry grape stem extract. *Pharmaceutical Chem. J.* **2004**, *38 No. 3*, 26 – 28.

17. Pekic, B.; Kovac, V.; Alonso, E.; Revilla, E.; Study of the extraction of proanthocyanins from grape seeds. *Food Chem.* **1998**, *61*, 201 – 206.

18. Arnous, A.; Makris, D. P.; Kefalas, P. Effect of Principal Polyphenolic Components in Relation to Antioxidant Characteristics of Aged Red Wines. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 5736 – 5742.

19. Ryan, J. – M.; Revilla, E. Anthocyanin Composition of Cabernet Sauvignon and Tempranillo Grapes at Different Stages of Ripening. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 3372 – 3378.

20. Merken, H. M.; Merken, C. D.; Beecher, G. R. Kinetics Method for the Quantitation of Anthocyanidins, Flavonols and Flavones in Foods. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 2727 – 2732.

21. Vrhovsek, U. Extraction of Hydroxycinnamoyltartaric Acids from Berries of Different Grape Varieties. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 4203 – 4208.

22. Careri, M.; Corradini, C.; Elviri, L.; Nicoletti, I.; Zagnoni, I. Direct HPLC Analysis of Quercetin and trans-Resveratrol in Red Wine, Grape and Winemaking Byproducts. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 5226 – 5231.

23. Cantos, E.; Espin, J. C.; Tomas-Barberan, F. A. Varietal Differences among the Polyphenol Profiles of Seven Table Grape Cultivars Studied by LC-DAD-MS-MS. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 5691 – 5696.

24. Mato, I.; Suarez-Luque, S.; Huidobro, J. F. A review of the analytical methods to determine organic acids in grape juices and wines. *Food Res. Inter.* **2005**, *Article in Press*.

25. Davalos, A.; Bartolome, B.; Gomez-Cordoves, C. Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars. *Food Chem.* **2005**, *93*, 325 – 330.

26. Yilmaz, Y.; Toledo, R. T. Health aspects of functional grape seed constituents. *Trends Food Sci. and Techn.* **2004**, *15*, 422 – 433.

27. Mahmoutoglu, T.; Emir, F.; Saygi, Y. B.. Sun/Solar Drying of Differently Treated Grapes and Storage Stability of Dried Grapes. *J. Food Engineer.* **1996**, *29*, 289 – 300.

28. Wang, H.; Race, E. J.; Shrikhande, A. J. Anthocyanin Transformation in Cabernet Sauvignon Wine during Aging. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7989 – 7994.

29. Lombardi-Boccia, G.; Lucarini, M.; Lanzi, S.; Aguzzi, A.; Cappelloni, M. Nutrients and Antioxidant Molecules in Yellow Plums (*Prunus domestica*

*L.*) from Conventional and Organic Productions: A Comparative Study. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 90 – 94.

30. Gil, M. I.; Tomas-Barberan, F. A.; Hess-Pierce, B.; Kader, A. A. Antioxidant Capacities, Phenolic Compounds, Caretonoids, and Vitamin C Contents of Nectarine, Peach, and Plum Cultivars from California. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 4976 – 4982.

31. Kyoung - Chun, O.; Kim, D. – O.; Yeon - Moon, H.; Gon - Kang, H.; Yong - Lee, C. Contribution of Individual Polyphenolics to Total Antioxidant Capacity of Plums. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7240 – 7245.

32. Kyoung - Chun, O.; Kim, D. – O.; Yong - Lee, C.. Superoxide Radical Scavenging Activity of the Major Polyphenols in Fresh Plums. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 8067 – 8072.

33. Piga, A.; Del Caro, A.; Corda, G.. From Plums to Prunes: Influence of Drying Parameters on Polyphenols and Antioxidant Activity. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 3675 – 3681.

34. Di Matteo, M.; Cinquanta, L.; Galiero, G.; Crescitelli, S. Physical pre-treatment of plums (*Prunus domestica*). Part 1. Modelling the kinetics of drying. *Food Chem.* **2002**, *79*, 227 – 232.

35. Cinquanta, L.; Di Matteo, M.; Esti, M. Physical pre-treatment of plums (*Prunus domestica*). Part 2. Effect on the quality characteristics of different prune cultivars. *Food Chem.* **2002**, *79*, 233 – 238.

36. Liggins, J.; Bluck, L. J. C.; Runswick, S.; Atkinson, C.; Coward, W. A., Bingham, S. A. Daidzein and genistein content of fruits and nuts. *J. Nutr. Biochem.* **2000**, *11*, 326 – 331.

37. Scalbert, A.; Johnson, I. T.; Saltmarsh, M. Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am. J. Clin. Nutr.* **2005**, *81*, 215S – 7S.

38. Williamson, G.; Manach, C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *Am. J. Clin. Nutr.* **2005**, *81*, 243S – 55S.

39. Yilmaz, Y.; Toledo, R. T. Major Flavonoids in Grape and Skins: Antioxidant Capacity of Catechin, Epicatechin, and Gallic Acid. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 255 – 260.

40. Psarra, E.; Makris, D. P.; Kallithraka, S.; Kefalas, P. Evaluation of the antiradical and reducing properties of selected Greek white wines: correlation with polyphenolic composition. *J. Sci. Food Agric.* **2002**, *82*, 1014 – 1020.

41. Perez-Magarino, S.; Gonzalez-San Jose, M. L. Evolution of Flavanols, Anthocyanins, and Their Derivatives during the Aging of Red Wines Elaborated from Grapes Harvested at Different Stages of Ripening. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 1181 – 1189.

42. Kallithraka, S.; Abdel-Azeem Mohdaly, A.; Makris, D. P.; Kefalas, P. Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera sp.*): association with antiradical activity. *J. Food Composition and Anal.* **2005**, *18*, 375 – 386.

43. Yi, W.; Fischer, J.; Akoh, C. C. Study of Anticancer Activities of Muscadine Grape Phenolics in Vitro. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 8804 – 8812.

44. Fang, N.; Yu, S.; Prior, R. L. LC/MS/MS Characterization of Phenolic Constituents in Dried Plums. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 3579 – 3585.

45. Garcia-Alonso, M.; De Pascual-Teresa, S.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, J. C. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chem.* **2004**, *84*, 13 – 18.

46. Karatzi, K.; Papamichael, C.; Aznaouridis, K.; Karatzis, E.; Lekakis, J.; Matsouka, C.; Boskou, G.; Chiou, A.; Sitara, M.; Feliou, G.; Kontoyiannis, D.; Zampelas, A.; Mavrikakis, M. Constituents of red wine other than alcohol improve endothelial function in patients with coronary artery disease. *Coronary Artery Disease.* **2004**, *15*, 485 – 490.

47. Zafrilla, P.; Ferreres, F.; Tomas-Barberan, F. A. Effect of Processing and Storage on the Antioxidant Ellagic Acid Derivatives and Flavonoids of Red Raspberry (*Rubus idaeus*) Jams. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 3651 – 3655.

48. Dewanto, V.; Wu, X.; Adom, K. K.; Hai - Liu, R. Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 3010 – 3014.

49. Klopotek, Y.; Otto, K.; Bohm, V. Processing Strawberries to Different Products Alters Contents of Vitamin C, Total Phenolics, Total Anthocyanins, and Antioxidant Capacity. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 5640 – 5646.

50. Kyoung - Chun, O.; Smith, N.; Sakagawa, A.; Yong - Lee, C. Antioxidant properties of raw and processed cabbages. *International J. Food Sci. Nutr.* **2004**, *55 Number 3*, 191 – 199.

51. Del Caro, A.; Piga, A.; Pinna, I.; Fenu, P. M.; Agabbio, M. Effect of Drying Conditions and Storage Period on Polyphenolic Content, Antioxidant Capacity and Ascorbic Acid of Prunes. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 4780 – 4784.

52. Re, R.; Bramley, P. M.; Rice-Evans, C. Effects of Food Processing on Flavonoids and Lycopene Status in a Mediterranean Tomato Variety. *Free Radical Res.* **2002**, *36(7)*, 803 – 810.

53. Amakura, Y.; Umino, Y.; Tsuji, S.; Tonogai, Y. Influence of Jam Processing on the Radical Scavenging Activity and Phenolic Content in Berries. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 6292 – 6297.

54. De Ancos, B.; Gonzalez, E. M.; Cano, P. Ellagic Acid, Vitamin C and Total Phenolic Contents and Radical Scavenging Capacity Affected by Freezing and Frozen Storage in Raspberry Fruit. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 4565 – 4570.

55. Hakkinen, S. H.; Karenlampi, S. O.; Mykkanen, H. M.; Torronen, A. R. Influence of Domestic Processing and Storage on Flavonol Contents in Berries. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 2960 – 2965.

56. Gorinstein, S.; Caspi, A.; Zemser, M.; Trakhtenberg, S. Comparative contents of some phenolics in beer, red and white wines. *Nutrition Res.* **2000**, *20(1)*, 135 – 139.

57. Soleas, G. J.; Grass, L.; Josephy, D. P.; Goldberg, D. M.; Adamantidis, E. P. A comparison of the anticarcinogenic properties of four red wine polyphenols. *Clinical Biochem.* **2002**, *35*, 119 – 124.

58. Β. Δ. Κριμπά. Ελληνική Αμπελογραφία. *Αθήνα,* **2006**, 1ος τόμος.

59. Εγκυκλοπαίδεια Πάπυρος Larousse Britannica. **1993**, 55ος τόμος.

60. Καραθάνος Β. Τ. **1999**.

61. De Lorgeril, M.; Salen, P.; Paillard, F.; Laporte, F.; Boucher, F.; De Leiris, J. Mediterranean diet and the French paradox: Two distinct biogeographic concepts for one consolidated scientific theory on the role of nutrition in coronary heart disease. *Cardiovasc. Res.* **2002**, *54*, 503 – 515.

62. Chiou, A.; Karathanos, V. T.; Mylona, A.; Salta, F. N.; Preventi, F.; Andrikopoulos, N. K. Currants (*vitis vinifera* l.) content of simple phenolics and antioxidant activity. *Food Chem.* **2006**, *In press*.