



**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΊΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ: ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

της Λαμπρινής Πορτοκαλλίδου & της Αικατερίνης Τσαγκάκη

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ
ΘΕΙΩΔΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΚΑΙ ΤΑ ΟΛΙΚΑ
ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΣΕ ΧΥΜΟ ΒΥΣΣΙΝΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΝ
ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ**



Επιβλέπον καθηγητής : Σταύρος Καλογιάννης

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε κατά το εαρινό εξάμηνο 2012-2013, στο ερευνητικό εργαστήριο καθώς και στο εργαστήριο βιοχημείας του τμήματος Διατροφής και Διαιτολογίας του Αλεξάνδρειου Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Θεσσαλονίκης.

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μας κ. Καλογιάννη Σταύρο για την άριστη συνεργασία, την βοήθεια, την υπομονή και την κατανόηση που έδειξε κατά την διάρκεια εκπόνησης της πτυχιακής εργασίας, καθώς και για το γεγονός ότι ήταν δίπλα μας συνεχώς σε όποιο πρόβλημα προέκυπτε θεωρητικό ή εργαστηριακό. Επίσης θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε το προσωπικό των εργαστηρίων, για την προθυμία που έδειξε να μας βοηθήσει στις δυσκολίες που αντιμετωπίσαμε.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το βύσσινο περιέχει αντιοξειδωτικές ουσίες οι οποίες είναι ικανές να εμποδίσουν τη δράση των ελευθέρων ριζών και να επιφέρουν ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπινου οργανισμού. Τέτοιες είναι οι φαινολικές ενώσεις, τα καροτενοειδή και το ασκορβικό οξύ, των οποίων η αντιοξειδωτική ικανότητα μέσα στον οργανισμό μπορεί να βελτιώσει την υγεία. Αντιοξειδωτικές ουσίες είναι και οι προστιθέμενες στα τρόφιμα, όπως στην προκείμενη εργασία η βιταμίνη C και τα θειώδη, όπου συμβάλλουν στην αντιοξειδωτική σταθερότητα του χυμού βύσσινου.

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο DPPH και ο προσδιορισμός των ολικών φαινολικών ενώσεων με τη μέθοδο FOLIN, σε φρέσκο φυσικό χυμό βύσσινου και σε χυμό βύσσινου εμπορείου, καθώς επίσης η διερεύνηση της επίδρασης της προσθήκης του ασκορβικού οξέος και των θειωδών στη σταθερότητα των χυμών. Η αποθήκευση των χυμών έγινε σε οικιακό ψυγείο και οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε χρονική διάρκεια 12 ημερών.

Τα αποτελέσματα έδειξαν πως ο εμπλουτισμός του φυσικού χυμού βύσσινου με βιταμίνη C και θειώδη, αυξάνει την αντιοξειδωτική ικανότητα και την περιεκτικότητα του ολικού φαινολικού περιεχομένου του φυσικού χυμού καθ' όλη την πειραματική διαδικασία. Υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσίασε το δείγμα με την προσθήκη βιταμίνης C ενώ την υψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικά, το δείγμα με την προσθήκη θειωδών. Ο χυμός εμπορείου έδωσε έντονα χαμηλότερες τιμές στην περιεκτικότητα φαινολικών ενώσεων αλλά και στην αντιοξειδωτική ικανότητα, παρόλα αυτά παρουσίασε έντονη σταθερότητα στην πορεία της αποθήκευσης.

Ευχαριστίες	1
Περίληψη	2
Πίνακας περιεχομένων	3
1.Εισαγωγή	6
1.1.Το βύσσινο.....	6
1.1.1.Γενικά.....	6
1.1.2.Προέλευση του βύσσινου.....	8
1.1.3.Ποικιλίες τουβύσσινου.....	10
1.1.4.Θρεπτικά συστατικά του βύσσινου.....	10
1.2.Αντιοξειδωτικά.....	12
1.2.1.Γενικά.....	12
1.2.2.Τι είναι τα αντιοξειδωτικά και οι ελεύθερες ρίζες.....	13
1.2.3.Μηχανισμός (χημεία) οξειδωσης.....	14
1.2.4.Η δημιουργία ελεύθερων ριζών στον οργανισμό.....	15
1.2.5.Δράση ελευθέρων ριζών στον οργανισμό.....	17
1.2.6.Αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού.....	18
1.2.7.Δράση αντιοξειδωτικών στον οργανισμό.....	19
1.2.8.Αντιοξειδωτικά ως πρόσθετα τροφίμων.....	21
1.2.9.Κατάταξη αντιοξειδωτικών ουσιών.....	22
1.2.10.Αντιοξειδωτικές ουσίες του βύσσινου και η σημασία τους.....	26
1.3.Φαινολικές ενώσεις.....	32
1.3.1.Γενικά.....	32
1.3.2.Δομή και κατηγορίες φαινολικών ενώσεων.....	33
1.3.3.Μηχανισμός αντιοξειδωτικής δράσης φαινολικών ενώσεων.....	36
1.3.4.Βιολογικές δράσεις φαινολικών ενώσεων.....	37
1.3.5.Απορρόφηση και μεταβολισμός φαινολικών ενώσεων.....	40
1.3.6.Πηγές φαινολικών ενώσεων.....	40
1.3.7.Η τεχνολογική σημασία των φαινολικών ενώσεων.....	41
1,4.Βιταίνη C.....	42
1.4.1.Γενικά.....	42

1.4.2.Δομή Βιταμίνης C.....	43
1.4.3.Λειτουργίες βιταμίνης C.....	44
1.4.4.Απορρόφηση ασκορβικού οξέος.....	48
1.4.5.Απέκκριση ασκορβικού οξέος.....	49
1.4.6.Πηγές βιταμίνης C.....	49
1.4.7.Απαιτήσεις σε ασκορβικό οξύ.....	50
1.4.8.Δράση και εφαρμογές.....	51
1.5.Θειώδη.....	53
1.5.1.Γενικά.....	53
1.5.2.Δράση και εφαρμογές των θειωδών στην τεχνολογία τροφίμων.....	54
1.6.Σκοπός.....	57
2.Υλικά και Μέθοδοι	58
2.1.Σκεύη και όργανα.....	58
2.2.Αντιδραστήρια.....	59
2.3.Δειγματα.....	59
2.4.Μεθοδολογία.....	62
2.4.1.Μέθοδος ποσοτικού προσδιορισμού φαινολικών ενώσεων Folin-Ciocalteu.....	62
2.4.1.1.Παρασκευή διαλύματος και πρότυπης καμπύλης Γαλλικού Οξέος.....	63
2.4.1.2.Αραιώσεις μετρούμενων δειγμάτων.....	64
2.4.1.3.Πειραματική διαδικασία.....	64
2.4.2.Μέθοδος εκτίμησης αντιοξειδωτικής ικανότητας DPPH.....	66
2.4.2.1.Παρασκευή διαλύματος και πρότυπης καμπύλης ουρικού οξέος	67
2.4.2.2.Αραιώσεις μετρούμενων δειγμάτων.....	68
2.4.2.3.Πειραματική Διαδικασία.....	69
3.Αποτελεσματα-Συζήτηση	71
3.1.Μέθοδος Folin-Ciocalteu.....	71
3.1.1.Στατιστική Ανάλυση.....	71

3.1.2.Συζήτηση αποτελεσμάτων.....	76
3.1.2.1.Συμπεριφορά δείγματος «Φυσικός Χυμός κατά την αποθήκευση	76
3.1.2.2.Συμπεριφορά δείγματος «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» κατά την αποθήκευση.....	76
3.1.2.3.Συμπεριφορά δείγματος «Φυσικός Χυμός με θειώδη» κατά την αποθήκευση.....	77
3.1.2.4.Συμπεριφορά δείγματος «Χυμός Εμπορίου» κατά την αποθήκευση.....	77
3.1.2.5.Σύγκριση όλων των δειγμάτων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης.....	78
3.2.Μέθοδος DPPH	80
3.2.1.Στατιστική Ανάλυση.....	81
3.2.2.Συζήτηση αποτελεσμάτων.....	82
3.2.2.1.Συμπεριφορά δείγματος «Φυσικός Χυμός κατά την αποθήκευση	85
3.2.2.2.Συμπεριφορά δείγματος «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» κατά την αποθήκευση.....	85
3.2.2.3.Συμπεριφορά δείγματος «Φυσικός Χυμός με θειώδη» κατά την αποθήκευση.....	86
3.2.2.4.Συμπεριφορά δείγματος «Χυμός Εμπορίου» κατά την Αποθήκευση.....	86
3.2.2.5.Σύγκριση όλων των δειγμάτων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης.....	87
4.Συμπεράσματα	90
5.Βιβλιογραφία.....	92
6.Παράρτημα.....	101

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Το βύσσινο

1.1.1 Γενικά

Το βύσσινο είναι καλοκαιρινό φρούτο που καρπίζει από το δέντρο βυσσινιά. Το σχήμα του είναι σφαιρικό, μικρού μεγέθους, με έντονο κόκκινο χρώμα. (Εικόνα 1.1.) Στην εξωτερική επιφάνεια περιβάλλεται από λεπτό, λείο, γυαλιστερό φλοιό, ενώ εσωτερικά η σάρκα του είναι μαλακή, κόκκινη, με αρκετά ξινή γεύση και στο κέντρο του έχει ξυλώδες ενδοκάρπιο. Ο κάθε καρπός διαθέτει ένα ποδίσκο από τον οποίο κρέμεται και είναι το σημείο που ενώνει τον καρπό με το δέντρο.

Κατά την ωρίμανση παρατηρούνται σύνθετες αλλαγές στις φυσικές και στις χημικές ιδιότητες, όπως το σχήμα του καρπού που μεταβάλλεται σταδιακά, το χρώμα του από πράσινο σε βαθύ ερυθρομελανό, το οποίο σχηματίζεται ακόμη και υπό σκιά, το μαλάκωμα και η αύξηση της γλυκύτητας του, αλλά και αρωματικές μεταβολές. Ο καρπός καθώς ωριμάζει παρατηρείται σταθερή αύξηση στην περιεκτικότητα των σακχάρων ενώ προς το τέλος της αυξήσεως του καρπού οι υδατάνθρακες που συσσωρεύονται συντελούν στην ανάπτυξη των ανθοκυανών στο φλοιό του. Το τελικό χρώμα που αναπτύσσεται, οφείλεται στη σχέση των καροτενοειδών προς τις ξανθοφύλλες.



Εικόνα 1.1. :Καρποί βύσσινου

Το βύσσινο ωριμάζει επάνω στο δέντρο και δεν περιέχει άμυλο. Η καταλληλότητα, η διάρκεια και οι απαιτούμενες συνθήκες αποθήκευσης του εξαρτώνται από την ποικιλία και την ποιότητα του. Οι συνήθεις συνθήκες ψύξης είναι -1ο C με +2 ο C με 80-90% σχετική υγρασία. Ο χρόνος αποθήκευσης είναι 4 με 5 ημέρες.

Η περιεκτικότητα του βύσσινου σε νερό είναι μεγάλη, για αυτό και η σάρκα του είναι μαλακή. Ανάλογα με το χρώμα της σάρκας και του χυμού τους τα βύσσινα ανήκουν σε δύο κατηγορίες: σε εκείνα όπου η σάρκα τους και ο χυμός τους είναι ανοιχτού κόκκινου χρώματος και σε εκείνα που είναι σκούρου κόκκινου χρώματος. Από τις δύο κατηγορίες προτιμάται ο καρπός σκούρου χρώματος για χυμούς και ποτά, ενώ του ανοιχτόχρωμου για ορισμένα εξειδικευμένα παρασκευάσματα..

Τα βύσσινα λόγω της ξινής γεύσης τους δεν είναι εύκολο να καταναλωθούν νωπά. Όμως χρησιμοποιούνται από διάφορες βιομηχανίες για την παρασκευή χυμών ή μείγματα χυμών, φρουτοπαρασκευασμάτων, μπαχαρικών κ.ά.. Επίσης αποτελεί την πρώτη ύλη για να παρασκευαστούν διάφορα γλυκά όπως μαρμελάδες, λικέρ, γλυκά του κουταλιού, σάλτσες, σε σπίτια, σε ζαχαροπλαστεία ή σε συνεταιρισμούς παραδοσιακών γλυκών και εδεσμάτων.(Εικόνα:1.2.)



Εικόνα: 1.2.: Γλυκά εδέσματα

Η βυσσινιά (*Prunus cerasus L.*) είναι δέντρο φυλλοβόλο, καρποφόρο, σχετικά μικρόσωμο και η κόμη του είναι πλούσια και κρεμοκλαδής. Ανθίζει μία φορά το χρόνο και οι ανθοφόροι οφθαλμοί της βυσσινιάς είναι σύνθετοι

καθώς ο κάθε οφθαλμός σχηματίζει 3-4 άνθη. Τα άνθη είναι λευκά και εύοσμα και βγαίνουν μαζί με τα φύλλα. (Εικόνα 1.3.). Σχηματίζει πολλούς καρπούς και η καρπική περίοδος μπορεί να διαρκέσει από 54 έως και 74 ημέρες ανάλογα την ποικιλία της (Εικόνα 1.4.) Είναι πολύ συγγενικό δέντρο με την κερασιά. όμως το χρώμα των βλαστών της και των φύλλων της είναι σκουρότερα και οι καρποί της μικρότεροι, πιο μαλακοί, με ξινή γεύση.

Καλλιεργείται σε όλες της ηπείρους. Στην Ελλάδα καλλιεργείται κυρίως Νότια, σε υψόμετρο μέχρι 1200 μέτρα. Η ποιότητα των καρπών επηρεάζεται από τις καιρικές συνθήκες. Οι βροχοπτώσεις στην περίοδο της ωρίμανσης είναι ανεπιθύμητες διότι προκαλούν σχίσιμο των καρπών της εξαιτίας οσμωτικού φαινομένου, που οφείλεται στην απορρόφηση του νερού μέσω του φλοιού του καρπού.



Εικόνα 1.3.: Ανθισμένη βυσσινιά



Εικόνα:1.4.: Η βυσσινιά σε καρποφορία

1.1.2. Προέλευση του βύσσινου

Έχει κοινό τόπο καταγωγής με το κεράσι το οποίο προήλθε από τη ζώνη μεταξύ της Κασπίας και της Μαύρης Θάλασσας. Από εκεί, πιστεύεται πως διαδόθηκε στην Ευρώπη με τα πουλιά, από τα αρχαιότερα χρόνια. Ο Θεόφραστος περιγράφει την καλλιέργειά της κερασιάς στην Ελλάδα το 300π.Χ. και ο Πλίνιος 10 ποικιλίες που καλλιεργούνταν στην Ιταλία περίπου τον 1ο π.Χ. αιώνα (Βασιλακάκης, 1990).

Οι αρχαίοι Έλληνες πίστευαν ότι προερχόταν από τη Μικρά Ασία και πιο συγκεκριμένα από την πόλη της Κερασούντας κοντά στη Μαύρη Θάλασσα. Ο Θεόφραστος, ο αρχαίος χρονογράφος που κατέγραψε τα είδη των φυτών, περιέγραφε το κέρασι ως ένα «φρούτο χρώματος ερυθρού το οποίο έμοιαζε στο σχήμα με δίοσπυρο και στο μέγεθος με φασόλι».

« Ἴδιον δὲ τῇ φύσει δένδρον ὁ κέρασός ἐστι καὶ μεγέθει μέγα· καὶ γὰρ εἰς εἴκοσι καὶ τέσσαρας πήχεις αὖξεται. Φύλλον δὲ ὅμοιον ἔχει τῷ τῆς μεσπίλης, σκληρὸν δὲ καὶ πλατύτερον, φλοιὸν δ' ὅμοιον φιλύρα, ἄνθος δὲ λευκόν, ἀπίω καὶ μεσπίλη ὅμοιον, ἐκ μικρῶν ἀνθῶν συγκεῖμενον, κηριῶδες. Ὁ δὲ καρπὸς ἐρυθρός, ὅμοιος δίοσπύρω τὸ σχῆμα, τὸ δὲ μέγεθος ἡλίκον κύαμος, πλὴν τοῦ δίοσπύρου μὲν ὁ πυρὴν σκληρός, τοῦ δὲ κέρασου μαλακός. »

Το κέρασι αναφέρεται σ' ένα διάλογο στο βιβλίο του Αθήναιου (2.51), όπου ένας από τους καλεσμένους στο δείπνο Ρωμαίος, κατηγορεί τους Έλληνες, πως ενώ θέλουν να τα ξέρουν όλα και να δίνουν ονόματα σ' όλα τα πράγματα, δεν γνωρίζουν ότι ο Ρωμαίος στρατηγός Λεύκολλος ήταν ο πρώτος που έφερε το κέρασι στην Ιταλία και του έδωσε το όνομα «κέρασος» από τον τόπο καταγωγής του, την Κερασούντα του Πόντου. Ο Δίφιλος από την Σίφνο, σε αυτό το σημείο, του απαντά λέγοντας ότι πολλά χρόνια πριν από τον Λεύκολλο, ο διάδοχος του Μεγάλου Αλεξάνδρου Λυσίμαχος είχε εισάγει το κέρασι από την Μικρά Ασία ως ένα ωραίο ζουμερό φρούτο.

Φησὶν ὁ παρὰ τῷ ῥήτορι Λαρήνσιος·

« Πολλὰ ὑμεῖς οἱ Γραικοὶ ἐξιδιοποιεῖσθε ὡς αὐτοὶ ἢ ὀνομάσαντες ἢ πρῶτοι εὐρόντες· ἀγνοεῖτε δὲ ὅτι Λεύκολλος ὁ Ῥωμαίων στρατηγός, [51a] ὁ τὸν Μιθριδάτην καὶ Τιγράνην καταγωνισάμενος, πρῶτος διεκόμισεν εἰς Ἰταλίαν τὸ φυτόν τοῦτο ἀπὸ Κερασούντος Ποντικῆς πόλεως. Καὶ οὗτός ἐστιν ὁ καὶ τὸν καρπὸν καλέσας κέρασον ὁμωνύμως τῇ πόλει, ὡς ἱστοροῦσιν οἱ ἡμέτεροι συγγραφεῖς. »

Πρὸς ὃν Δάφνος τίς φησιν·

« Ἀλλὰ μὴν παμπόλλοις χρόνοις πρεσβύτερος Λευκόλλου ἀνὴρ ἐλλόγιμος Δίφιλος ὁ Σίφνιος, γεγονώς κατὰ Λυσίμαχον τὸν βασιλέα — εἷς δὲ οὔτος τῶν Ἀλεξάνδρου διαδόχων — μνημονεύει τῶν κερασίων λέγων·» τὰ κεράσια εὐστόμαχα, εὔχυλα, ὀλιγότροφα, ἐκ ψυχροῦ δὲ λαμβανόμενα εὐστόμαχα. Καλλίω δὲ τὰ ἐρυθρότερα καὶ τὰ Μιλήσια·εἰσὶ γὰρ διουρητικά. »

1.1.3. Ποικιλίες του βύσσινου

Τα βύσσινά ανάλογα το χρώμα της σάρκας και του χυμού τους χωρίζονται σε δύο κατηγορίες:

α) τα Amarelles όπου χαρακτηρίζεται από σάρκα και χυμό ανοιχτού κόκκινου χρώματος και

β) τα Morello όπου η σάρκα και ο χυμός τους είναι σκούρου κόκκινου χρώματος (Βασιλάκης 1990).

Η πιο σημαντική ποικιλία η οποία καλλιεργείται σε όλο τον κόσμο είναι η Montmorency. Πρόκειται για ένα δέντρο πολύ παραγωγικό όπου ο καρπός του έχει μέτριο μέγεθος, το χρώμα του είναι ανοιχτό ερυθρό και ο χυμός του είναι ανοιχτού χρώματος. Άλλες ποικιλίες είναι English Morello, Ministro Podbielski κ.ά. ενώ στη χώρα μας καλλιεργούνται οι: Φλωρίνης, Νεαπόλεως, Κωνσταντινουπόλεως, Κανάρης και άλλες (Βασιλακάκης 1990 & 2010).

1.1.4. Θρεπτικά συστατικά του βύσσινου

Τα βύσσινά είναι πλούσια σε βιταμίνες, ανόργανα άλατα, νερό και φυτικές ίνες και φτωχά σε νάτριο, πρωτεΐνες και λίπη, καθώς και σε θερμίδες. Τα 100g βύσσινά περιέχουν μόνο 50 θερμίδες.

Τα θρεπτικά συστατικά του βύσσινου αναφέρονται αναλυτικά παρακάτω στον **πίνακα 1.1.:**

Πίνακας 1.1.: Θρεπτικά συστατικά του βύσσινου (Πηγή: USDA)

Θρεπτικά συστατικά	Αξία ανά 100g βύσσινου	Θρεπτικά συστατικά	Αξία ανά 100g βύσσινου
Ενέργεια	50 Kcal	Ολικές φυτικές ίνες	1,6g
Ενέργεια	209KJ	Ολικά σάκχαρα	8,49g
Νερό	86,13g	Σουκρόζη	0,80g
Πρωτεΐνες	1,00g	Γλυκόζη (δεξτρόζη)	4,18g
Ολικά λιπίδια	0,30g	Φρουκτόζη	3,51g
Τέφρα	0,40g	Λακτόζη	0,00g
Υδατάνθρακες	12,8g	Γαλακτόζη, Μαλτόζη	0,00g
Βιταμίνες			
Βιταμίνη C	10mg	Βιταμίνη A	64g
Θειαμίνη	0,030mg	Ρετινόλη	0,00 μg
Ριβοφλαβίνη	0,040mg	b-καροτένιο	770μg
Νιασίνη	0,400mg	a-καροτένιο	0,00μg
Παντοθενικό οξύ	0,143mg	b-κρυπτοξανθίνη	0,00μg
Βιταμίνη B6	0,044mg	Λυκοπένιο	0,00μg
Φολικό	8μg	Λουτεΐνη +Ζεαξανθίνη	85μg
Ολική Χολίνη	6,1m g	Βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη)	0,07μg
Βιταμίνη B12	0,00μg	Βιταμίνη D	0,00μg
Βιταμίνη A, IU	1283IU	Βιταμίνη K	2,1μg
Ανόργανα συστατικά			
Ασβέστιο, Ca	16mg	Νάτριο, Na	3mg
Σίδηρος, Fe	0,32mg	Ψευδάργυρος, Zn	0,10mg
Μαγνήσιο, Mg	9mg	Χαλκός, Cu	0,104mg
Φώσφορο, P	15mg	Μαγγάνιο, Mn	0,112mg
Κάλιο, K	173mg	Σελήνιο, Se	0,0μg
Λιπίδια		Άλλα	
Κορεσμένα ολικά λιπαρά	0,068g	Αλκοόλ	0,00g
Μονοακόρεστα ολικά λιπαρά	0,082g	Καφεΐνη	0,00mg
Πολυακόρεστα ολικά λιπαρά	0,090g	Θεοβρομίνη	0,00mg

1.2. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

1.2.1. Γενικά

Ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες της ζωής είναι το οξυγόνο και η έλλειψή του οδηγεί τα περισσότερα είδη οργανισμών σε γρήγορο θάνατο. Κατά την βιοχημική εξέλιξη της ζωής σημειώθηκε αύξηση της συγκέντρωσης του οξυγόνου στην ατμόσφαιρα και οι οργανισμοί άρχισαν να προσαρμόζονται στη χρήση του, για μεταβολικούς μηχανισμούς και ενέργεια, αλλά συγχρόνως προώθησαν τη δημιουργία ενδοκυτταρικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών για την προστασία τους από την τοξικότητά του. (Βαλαβανίδης 2006)

Τα αίτια των δηλητηριωδών ιδιοτήτων του οξυγόνου, ήταν άγνωστα πριν τη δημοσίευση της θεωρίας των Gershman et al το 1954, σύμφωνα με την οποία η τοξικότητα του οξυγόνου οφειλόταν σε μερικές αναχθείσες μορφές του οξυγόνου.(Gershman R. et al, 1954). Το μοριακό οξυγόνο σύμφωνα με τη χημική δομή του, είναι μία διπλή ρίζα και εμφανίζει δύο μοναχικά ηλεκτρόνια. Όταν ένα ή περισσότερα ηλεκτρόνια, ιδιαίτερα αυτά που βρίσκονται στα εξωτερικά τροχιακά του ατόμου, είναι ασύζευκτα, δεν έχουν δηλαδή ζευγάρι, τότε το μόριο γίνεται ασταθές -σε μεγαλύτερη ενεργειακή κατάσταση- και συνεπώς πιο δραστικό από άλλα μόρια.

Με την προσθήκη ενός ηλεκτρονίου στο μόριο του οξυγόνου προκύπτει ένα υπεροξειδικό ανιόν. Αυτή η ρίζα είναι εξαιρετικά ικανή προς αντίδραση και μπορεί να προσβάλει όλες τις πιθανές ουσίες του οργανισμού. Με την προσθήκη ακόμη ενός ηλεκτρονίου στο υπεροξειδικό ανιόν προκύπτει το υπεροξειδικό διανιόν. Όταν αυτό προσλάβει δύο ιόντα H^+ τότε έχουμε το πολύ γνωστό υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2), το οποίο είναι ένα συνηθισμένο προϊόν του μεταβολισμού. Τα ένζυμα που παράγουν υπεροξειδίο του υδρογόνου ανήκουν στις οξειδάσες. Οι υπεροξειδάσες χρησιμοποιούν το H_2O_2 ως οξειδωτικό μέσω για να οξειδώσουν με αυτό άλλα υποστρώματα. Τα σημαντικά υποστρώματα που προσβάλλονται από το οξυγόνο είναι οι βιταμίνες A, C και E και τα ακόρεστα λιπαρά οξέα στα λιπίδια των μεμβρανών. (Doenecke et al, 2012)

1.2.2. Τι είναι αντιοξειδωτικά και ελεύθερες ρίζες

Ως αντιοξειδωτικά μπορούν να χαρακτηριστούν οι ουσίες, οι οποίες έχουν την ιδιότητα όταν είναι παρούσες σε συγκεντρώσεις χαμηλότερες από εκείνες του υποστρώματος που πρόκειται να οξειδωθεί, να επιβραδύνουν ή να αναστέλλουν την οξείδωση αυτών των υποστρωμάτων (Young & Woodside, 2001), ενώ ελεύθερες ρίζες είναι ένα άτομο ή ομάδα ατόμων (ανόργανα ή οργανικά μόρια) που φέρουν ένα ασύζευκτο (μονήρες) ηλεκτρόνιο. (Κυρανάς, 2012)

Ο ευρύς ορισμός των ελευθέρων ριζών συμπεριλαμβάνει το άτομο του υδρογόνου (H) που έχει ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο, το μόριο του οξυγόνου (O₂) που έχει δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια, το οξειδίο του αζώτου (NO) που έχει ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο, καθώς και τα περισσότερα μεταβατικά μέταλλα, όπως Fe⁺², Fe⁺³, που έχουν 4 και 5 αντίστοιχα ηλεκτρόνια και ο Cu⁺² που έχει ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο. (Παπαγεωργίου, 2005)

Η ανισορροπία των ηλεκτρονίων στα τροχιακά έχει ως αποτέλεσμα την υψηλή δραστηριότητα των ελευθέρων ριζών. Συνήθως το άτομο που συμμετέχει στη δημιουργία ελευθέρων ριζών είναι το οξυγόνο και οι αντίστοιχες ελεύθερες ρίζες ονομάζονται δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) (Πίνακας 1.2.), ενώ όταν συμμετέχει το άζωτο ονομάζονται δραστικές μορφές αζώτου (Reactive Nitrogen Species, RNS) (Πίνακας 1.3.). (Παπαγεωργίου, 2005)

Πίνακας 1.2: Δραστικές μορφές οξυγόνου (Groppe et al. 2005)

Ρίζες	Μη ρίζες
Ρίζα υπεροξειδίου O ₂ ⁻	Όζον O ₃
Ρίζα υδροξυλίου OH•	Μονήρες οξυγόνο O ₂
Ρίζα υδροϋπεροξειδίου HO ₂ •	Υποχλωριώδες οξύ HOCL
Ρίζα αλκοξειδίου LO• ή RO•	Υπεροξειδίο του υδρογόνου H ₂ O ₂
Ρίζα υπεροξειδίου LO ₂ • ή RO ₂ •	

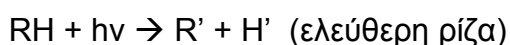
Πίνακας 1.3.: Δραστικές μορφές αζώτου (Groppe et al. 2005)

Ρίζες	Μη ρίζες
Μονοξειδίο του αζώτου NO• Διοξειδίο του αζώτου NO ₂ •	Νιτρώδες οξύ HNO ₂ Υπεροξυνιτρίδιο ONO ₂ ⁻ Αλκυλοϋπεροξυνιτρίδιο LOONO•

1.2.3. Μηχανισμός (χημεία) της οξειδωσης

Η αυτοοξειδωση ή η οξειδωση που οφείλεται στη δράση του μοριακού οξυγόνου –γι’ αυτό ονομάζεται και μοριακή οξειδωση- ακολουθεί τον μηχανισμό των ελευθέρων ριζών. Ο μηχανισμός εξελίσσεται σε τρία διακριτά στάδια: έναρξη, διάδοση και λήξη της χημικής αντίδρασης. Για την έναρξη είναι απαραίτητο ένα αντιδραστήριο ικανό να καταλύσει τη φωτοχημική διάσπαση ενός μορίου της ουσίας που θα οξειδωθεί, σε ελεύθερη ρίζα. Τέτοια αντιδραστήρια είναι η χλωροφύλλη, μια σειρά από προϊόντα μετάλλων και τα ενεργά άλατα του σιδήρου, του χαλκού και του κοβαλτίου. Τα στάδια που ακολουθούνται είναι τα εξής:

A. Έναρξη



Όπου RH= το μόριο που αυτοοξειδώνεται, όπως υδρογονάνθρακας, κορεσμένα λιπαρά οξέα, εστέρες, αλδεΐδες, κλπ..

B. Διάδοση



Γ. Λήξη



$ROO^{\cdot} + ROO^{\cdot} \rightarrow$ προϊόντα πολυμερισμού

$ROO^{\cdot} + R^{\cdot} \rightarrow$ προϊόντα πολυμερισμού

Κατά το στάδιο της έναρξης διαπιστώνεται η παρουσία μηδαμινής και σχετικά επιβραδυνόμενης συσσώρευσης προϊόντων της οξειδωσης και άνοδος της καμπύλης των υπεροξειδίων. Τη φάση αυτή την ονομάζουμε «επαγωγική». Τα αντιοξειδωτικά παρατείνουν τις επαγωγικές φάσεις, οπότε συντελούν σε πολλές περιπτώσεις στη διασφάλιση της αντιοξειδωτικής σταθεροποίησης. Σημαντικό ρόλο επιτελούν τα ίχνη μετάλλων, που βρίσκονται σε σημαντικές συγκεντρώσεις σε κάθε υπόστρωμα και δρουν ως καταλύτες. Κατά τη διάρκεια της οξειδωσης παραμένουν ανενεργά, αλλά με την προσθήκη ουσιών δέσμευσής τους (σύμπλοκα) επιτυγχάνεται η επιβράδυνση της αυτοοξειδωσης. Μετά τον σχηματισμό των ελευθέρων ριζών αρχίζουν οι αλυσιδωτές αντιδράσεις. Ένα τουλάχιστον ποσοστό των προοξειδωτικών ή αντιοξειδωτικών προϊόντων του υποστρώματος μπορεί να επιταχύνει την αλυσιδωτή αντίδραση ή να την αναστείλει. Με την επίδραση των ιχνών μετάλλων και ιδιαίτερα του χαλκού, είναι δυνατό να προκύψουν από τα υπεροξειδία επιπλέον ελεύθερες ρίζες. Θεωρητικά, η αλυσιδωτή αντίδραση συνεχίζεται, ώσπου να καταναλωθεί ολόκληρο το υπόστρωμα ή να εκλείψει το διαθέσιμο οξυγόνο. (Φουρτουνόπουλος, 2004)

1.2.4. Η δημιουργία ελευθέρων ριζών στον οργανισμό

Ελεύθερες ρίζες δημιουργούνται στον οργανισμό μας είτε από φυσιολογικές διαδικασίες του είτε από εξωτερικές πηγές. Οι κυριότερες από τις φυσιολογικές διαδικασίες παραγωγής ελευθέρων ριζών περιλαμβάνουν:

- Την παραγωγή ελευθέρων ριζών σουπεροξειδίου, ως παραπροϊόν ή «χημικό ατύχημα» κατά τη λειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων των κυττάρων. Κατά τη διαδικασία αυτή ορισμένα ηλεκτρόνια ξεφεύγουν από τα μόρια που μεταφέρουν τα ηλεκτρόνια στην αναπνευστική αλυσίδα και περνούν στο οξυγόνο ανάγοντας το σε σουπεροξειδίο.

- Τη φυσιολογική δράση οξειδωτικών ενζύμων όπως, οι λιποξυγονάσες, οι κυκλοοξυγονάσες, οι υπεροξειδάσες και οι αφυδρογονάσες κατά την οποία παράγονται ελεύθερες ρίζες ως παραπροϊόντα των ενζυμικών αντιδράσεων.
- Την παραγωγή ελευθέρων ριζών υδροξυλίου, οι οποίες είναι και οι πλέον δραστικές, με χημικές αντιδράσεις παρουσία μεταλλικών ιόντων.
- Την παραγωγή ελευθέρων ριζών ως μέρος της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος. Ορισμένα από τα κύτταρα του συστήματος αυτού παράγουν ελεύθερες ρίζες για να εξουδετερώσουν βακτήρια εισβολείς. Σε περιπτώσεις που η διαδικασία αυτή είναι εκτός ελέγχου, όπως συμβαίνει με τις αυτοάνοσες ασθένειες, μερικές ελεύθερες ρίζες που παράγονται προκαλούν βλάβες στα ίδια μας τα κύτταρα.

Ένας αριθμός παραγόντων που βρίσκεται εκτός του σώματος μας μπορεί επίσης να αποτελέσει πηγή παραγωγής ελευθέρων ριζών από τη στιγμή που θα έρθει σε επαφή με το σώμα μας, όπως (Βαλαβανίδης, 2006):

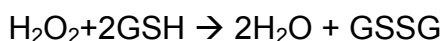
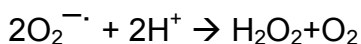
- Ουσίες που παράγουν οξειδοαναγωγικές ανακυκλώσεις (π.χ. παρακουάτ, αλλοξάνη, δοξορουβισλίνη)
- Οξειδώσεις φαρμάκων (π.χ. παρακεταμόλη)
- Καπνός του τσιγάρου (σταθερές ρίζες στην πίσσα, ασταθείς στην αέρια φάση του κύριου και του δευτερεύοντος ρεύματος του καπνού)
- Ιοντίζουσα ακτινοβολία (υψηλή ενέργεια που προκαλεί θραύση δεσμών και δημιουργία ελευθέρων ριζών)
- Ηλιακή ακτινοβολία (UV-A, UV-B)
- Θερμικό shock
- Ουσίες που οξειδώνουν τη γλουταθειόνη
- Καρκινογόνες ουσίες (τετραχλωράνθρακας, αμίαντος, βενζόλιο, πυριτικές ίνες, βαριά μέταλλα κ.λπ.)

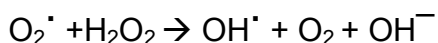
- Οξειδωτικά αέρια της ατμοσφαιρικής ρύπανσης (οξειδία του αζώτου, όζον, αιωρούμενα εισπνεόμενα σωματίδια καυσαερίων, κ.λπ.)
- Τοξικές ουσίες (νιτρώδη άλατα, υδραζίνες, διοξίνες, διφαινόλες, κινόνες, νιτρο- και άζω- ενώσεις, κ.λπ.)
- Παρασιτικές ασθένειες, φλεγμονώδεις καταστάσεις (βακτήρια, ιοί, κ.λπ.)

1.2.5. Δράση ελευθέρων ριζών στον οργανισμό

Η εμπλοκή του οξυγόνου σε τοξικές αντιδράσεις και ορισμένες ενεργές μορφές του, αποτελούν συνεχή απειλή για την υγεία του ανθρώπου. Σήμερα γίνεται δεκτό ότι κατά τον κανονικό μεταβολισμό στον οργανισμό του ανθρώπου γεννώνται ελεύθερες ρίζες οξυγόνου που μετατρέπονται σε ενεργά συστατικά ικανά να βλάψουν το DNA, τις πρωτεΐνες, τους υδατάνθρακες και τα λιπίδια. Πολλές ασθένειες, από τις πιο σοβαρές, όπως οι αρτηριακές και ο καρκίνος, η οξείδωση των λιποπρωτεϊνών του αίματος αλλά και η γήρανση των κυττάρων έχουν συσχετιστεί με τις αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών και των ενεργών ειδών οξυγόνου, όπως η ρίζα του σουπεροξειδίου, η ρίζα υδροξυλίου, το υπεροξειδίο του υδρογόνου, το οξυγόνο στη διεγερμένη κατάσταση και το όζον. (Μπόσκου, 2004)

Ο μηχανισμός δράσης των ελευθέρων ριζών, λόγω της αστάθειας του χαρακτήρα τους και του ελάχιστου χρόνου ζωής τους δεν είναι εύκολο να εξακριβωθεί. Η σειρά των αντιδράσεων που μπορούν να προκαλέσουν το σχηματισμό επικίνδυνων ελευθέρων ριζών είναι:





Οι ρίζες αυτές είναι εξαιρετικά ενεργές και αφαιρούν υδρογόνα από το πλησιέστερο διαθέσιμο μόριο λιπιδίου, πρωτεΐνης ή νουκλεϊκού οξέος. Το αρχικό αυτό στάδιο εξελίσσεται σε μια αυτοκαταλυόμενη αλυσιδωτή αντίδραση που μπορεί να προκαλέσει βλάβη στο κύτταρο.

Όταν σχηματίζονται οι ελεύθερες ρίζες, επιτίθενται στα διάφορα μόρια αποσπώντας ηλεκτρόνια από κυτταρικά συστατικά, όπως νουκλεϊκά οξέα του DNA, τις πρωτεΐνες και τα ακόρεστα λιπαρά οξέα που βρίσκονται στη κυτταρική μεμβράνη ή στις μεμβράνες των ενδοκυτταρικών οργανιδίων.

Οι αλλαγές στις βάσεις των πριμιδινών στο DNA, που προκαλούνται από τις υδροξυλικές ρίζες, μπορούν να οδηγήσουν σε μεταλλάξεις ή στο σπάσιμο της αλυσίδας του DNA. Αυτές οι βλάβες αν δεν διορθωθούν μπορούν να οδηγήσουν σε ασθένειες.

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα που βρίσκονται στα φωσφολιποειδή της κυτταρικής μεμβράνης, δέχονται την επίθεση των ελευθέρων ριζών που οδηγεί σε αποικοδόμηση των λιποειδών.

Η επίθεση των δραστικών μορφών οξυγόνου στα αμινοξέα των πρωτεϊνών και ειδικότερα των αμινοξέων προλίνη, ιστιδίνη, αργινίνη, μεθειονίνη και κυστεΐνη, μπορεί να οδηγήσει σε διάσπαση των πεπτιδικών δεσμών στο σκελετό της πρωτεΐνης ή και σε αλλαγές της πρωτεϊνικής δομής. (Groppe et al., 2005)

1.2.6. Αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού

Ως αντιοξειδωτικές ουσίες δρουν οι ενώσεις, οι οποίες σε μικρές συγκεντρώσεις έχουν την ιδιότητα να αναστέλλουν τη δημιουργία ή να εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες δηλαδή δρουν ως σαρωτές. Σύμφωνα με τον ορισμό μια πληθώρα ουσιών μπορούν να δράσουν ως αντιοξειδωτικά. Οι οργανισμοί στην προσπάθειά τους να προστατευτούν από την συνεχή έκθεση

των βλαπτικών επιδράσεων των ελευθέρων ριζών οδηγήθηκαν στην ανάπτυξη προστατευτικών μηχανισμών.

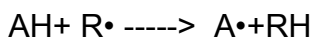
Ο οργανισμός του ανθρώπου έχει ένα αμυντικό σύστημα για να απομακρύνει τα ενεργά είδη οξυγόνου, που βασίζεται κυρίως στα ένζυμα υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, υπεροξειδική δισμουτάση και καταλάση, των οποίων η αντιοξειδωτική τους δράση είναι ενδοκυτταρική, ενώ στο εξωκυττάριο περιβάλλον μια πληθώρα ουσιών μπορεί να έχει αντιοξειδωτική δράση όπως πρωτεΐνες (αλβουμίνη, σερουλοπλασμίνη, τρανσφερίνη λακτοφερίνη), βιταμίνες όπως η βιταμίνη C και η βιταμίνη E, αλλά και τα καροτενοειδή πρόδρομες μορφές της βιταμίνης A, καθώς και άλλες ουσίες όπως το συνένζυμο Q-10 (ουμπικινόνη), η χολεριθρίνη, η γλυκόζη, το ουρικό οξύ κ.ά..

Η παρουσία των φυσικών αντιοξειδωτικών από την τροφή χρειάζεται, καθώς είναι δυνατόν δύο ενεργά είδη οξυγόνου να αντιδράσουν μεταξύ τους, σχηματίζοντας την πολύ ενεργή ρίζα $\text{OH}\cdot$ η οποία δεν εξουδετερώνεται από τα ένζυμα. Εδώ βρίσκεται η σημασία των φυσικών αντιοξειδωτικών όπως οι τοκοφερόλες, τα καροτένια, η βιταμίνη C, τα φλαβονοειδή κ.ά. τα οποία δρουν ως αποσβέστες ριζών. (Μπόσκου, 2004)

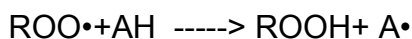
1.2.7. Δράση αντιοξειδωτικών στον οργανισμό

Η δράση των αντιοξειδωτικών στηρίζεται στην απομάκρυνση ή την εξουδετέρωση των $\text{ROO}\cdot$ και $\text{R}\cdot$ ελευθέρων ριζών και σε ορισμένες περιπτώσεις στη πλήρη αναστολή της οξειδωσης. Επειδή τα αντιοξειδωτικά δημιουργούν αλυσιδωτές αντιδράσεις, επιταχύνουν την παραγωγή ελευθέρων ριζών $\text{ROO}\cdot$ και $\text{R}\cdot$, με τη δημιουργία μιας ανενεργού αντιοξειδωτικής ρίζας.

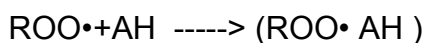
Η απενεργοποίηση και η αναστολή της δράσης της ελεύθερης ρίζας συντελεί στην άρση της αλυσιδωτής αντίδρασης και στην παραγωγή σταθερών προϊόντων, μέσω διμερισμού. Η άμεση αντίδραση του αντιοξειδωτικού (AH) μ' ένα υπόστρωμα ελεύθερης ρίζας $\text{R}\cdot$, δίνεται από την αντίδραση:



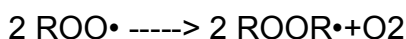
και φαίνεται να μην έχει την παραμικρή σχέση με την αντίδραση του αντιοξειδωτικού με την ελεύθερη ρίζα ενός υπεροξειδίου $ROO\bullet$:



Με τον ίδιο μηχανισμό δημιουργείται και ένα σύμπλοκο μεταξύ του μορίου του αντιοξειδωτικού και της ελεύθερης ρίζας του υπεροξειδίου:



που μπορεί να αντιδράσει με άλλες ελεύθερες ρίζες και να οδηγήσει στην αναστολή της οξειδωσης. Σε ορισμένες περιπτώσεις διασπάται η αλυσίδα της ελεύθερης ρίζας και έχουμε σύγκρουση δύο ελευθέρων υπεροξειδικών ριζών:



Επιγραμματικά αποδεικνύεται, πως όλοι οι αναστολείς της οξειδωσης πρέπει αφενός να είναι ενεργοί, ώστε να αντιδράσουν με τις ελεύθερες ρίζες και να διασπάσουν την αλυσίδα και αφετέρου μεταφορικά ενεργά, για να αποφευχθεί η άμεση αντίδραση του οξυγόνου με την ανταλλασσόμενη ελεύθερη ρίζα. Η μεγάλη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών, σε συνδυασμό με τις υψηλές συγκεντρώσεις κατά τη φάση της διάδοσης, μπορεί για παράδειγμα να οδηγήσει στη λειτουργία των αντιοξειδωτικών ως μεταφορέων και κατά συνέπεια στη δράση τους ως προοξειδωτικών.

Όλοι αυτοί οι παράγοντες καθιστούν ολοφάνερο, πως η προσθήκη των αντιοξειδωτικών πρέπει να γίνεται πολύ πριν από το στάδιο της προαγωγής (διάδοση). Αν όμως στο υπόστρωμα αυξηθεί η συγκέντρωση των ελευθέρων ριζών, τότε το προστιθέμενο αντιοξειδωτικό ανταποκρίνεται γρήγορα και θα καταναλωθεί, οπότε είναι πλέον αδύνατο να επιβραδυνθεί με παρεμβολή η πρόοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης. (Φουρτουνόπουλος, 2004)

Οι κύριες λειτουργίες των αντιοξειδωτικών είναι:

- Απομάκρυνση του οξυγόνου

- Απομάκρυνση ιόντων με καταλυτικές αντιδράσεις
- Απομάκρυνση των ενδιάμεσων μιας οξειδωτικής διαδικασίας
- Εγκλωβισμός των αρχικών ελευθέρων ριζών
- Διάσπαση των αλυσιδωτών αντιδράσεων (Galli and Visioli, 2004)

1.2.8. Αντιοξειδωτικά ως πρόσθετα τροφίμων

Τα αντιοξειδωτικά είναι ουσίες φυσικές ή χημικές, οι οποίες προστιθέμενες παρατείνουν το χρόνο διατήρησης των τροφίμων προστατεύοντας τα από τις αλλοιώσεις που προκαλούνται από την οξείδωση των λιπών και των βιταμινών. Τα λιπίδια είναι ευρέως διαδεδομένα στα τρόφιμα και η οξείδωσή τους αποδίδει προϊόντα αποικοδόμησης που υποβαθμίζουν σημαντικά το άρωμα των τροφίμων. Η οξείδωση του λίπους μπορεί να αποτραπεί με απομάκρυνση του οξυγόνου ή με τη χρήση αντιοξειδωτικών, τα οποία προσδίδουν στα τρόφιμα πολύτιμες λειτουργικές ιδιότητες ή επιμηκύνουν το χρόνο συντήρησής τους. Κυρίως χρησιμοποιούνται για να περιορίσουν την αυτοοξείδωση των λιπών και την επακόλουθη εμφάνιση ταγκής γεύσης και οσμής. Δεν μπορούν να επηρεάσουν τον τελικό βαθμό οξείδωσης, καθυστερούν όμως σημαντικά τα αρχικά στάδια της αυτοοξείδωσης. (Belitz et al, 2011 & Μπόσκου, 2004 & Βαφοπούλου-Μαστρογιαννάκη, 2003)

Τα σημαντικότερα συνθετικά αντιοξειδωτικά που επιτρέπονται σήμερα ως πρόσθετα είναι οι φαινολικές ενώσεις, η βουτυλική υδροξυανισόλη (BHA), το βουτυλικό υδροξυτολουόλιο (BHT) και ο προπυλεστέρας του γαλλικού οξέος (PG). Όμως πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι μπορεί να προκαλέσουν καρκίνο σε πειραματόζωα και έχει ενταθεί η προσπάθεια για την αντικατάστασή τους, από πιο φυσικά αντιοξειδωτικά όπως τους εστέρες λιπαρών οξέων του ασκορβικού οξέος και τις τοκοφερόλες. (Γαλανοπούλου, κ.ά., 2007)

Πέρα από τα φυσικά και τα συνθετικά αντιοξειδωτικά υπάρχουν και τα συνεργιστικά, τα οποία έχουν την ιδιότητα να ενισχύουν τη δραστηριότητα των

αντιοξειδωτικών. Τέτοια είναι η λεκιθίνη, τα αμινοξέα, το κιτρικό οξύ, το φωσφορικό οξύ, το κιτρακονικό οξύ και φουμαρικό οξύ. (Belitz et al, 2011)

Ωστόσο ο βαθμός προστασίας των τροφίμων από τα αντιοξειδωτικά ποικίλει και εξαρτάται από τη σύσταση το ίδιου του τροφίμου, τη γειννίαση των λιπιδίων του με άλλα συστατικά και από το αντιοξειδωτικό. (Γαλανοπούλου, κ.ά., 2007)

1.2.9. Κατάταξη αντιοξειδωτικών ουσιών

Οι αντιοξειδωτικές ουσίες με βάση την προέλευσή τους, ταξινομούνται σε συνθετικά και φυσικά αντιοξειδωτικά, ενώ με βάση τη δράση τους σε πρωτοταγή και δευτεροταγή αντιοξειδωτικά.

Τα πιο γνωστά συνθετικά αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται στην τεχνολογία τροφίμων είναι:

- Η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA), είναι μίγμα δύο ισομερών της 2-τριπ-βουτυλο-4-μεθοξυφαινόλης και 3-τριπ-βουτυλο-4-μεθοξυφαινόλης. Ανήκει στα λιπόφιλα αντιοξειδωτικά. Τηρεί τις προϋποθέσεις προκειμένου να χρησιμοποιηθεί ως αντιοξειδωτικό, δηλαδή είναι δραστική σε χαμηλές συγκεντρώσεις, επικεντρώνεται στην επιφάνεια της λιπώδους ή ελαιώδους φάσης και δεν είναι τοξική.
- Το βουτυλιωμένο υδροξύτολουόλιο (BHT) η 2,6-δι-τρι-βουτυλο-παρακρεσόλη. Έχει αντιοξειδωτική δράση και φέρει τις ιδιότητες για να χρησιμοποιηθεί στην τεχνολογία τροφίμων, όμως σε δείγμα λαρδιού συγκριτικά με την BHA, έχει χαμηλότερη αντιοξειδωτική δράση. Μαζί με την BHA, σε μια δεδομένη συνολική συγκέντρωση είναι πιο αποτελεσματικές στην έκταση του χρόνου διατήρησης ενός λίπους ή ενός ελαίου, από ότι το κάθε αντιοξειδωτικό μεμονωμένα στο ίδιο επίπεδο χρήσης.
- Οι εστέρες του γαλλικού οξέος όπως ο προπυλικός (PG), ο οκτυλικός και δωδεκυλικός. Πρόκειται για πιο πολικά αντιοξειδωτικά που οι φέρουσες

ιδιότητές τους είναι σημαντικές στην επεξεργασία τροφίμων. Είναι ικανό να αυξάνει την αποτελεσματικότητα της ΒΗΑ αλλά όχι αυτή της ΒΗΤ.

- Η δι-τριπ-βούτυλο-υδροκινόνη (TBHQ), είναι ένα πιο πολικό αντιοξειδωτικό, πολύ ενεργό στα λίπη και στα έλαια δεδομένου ότι είναι εμπλουτισμένο στην επιφάνεια του λίπους και έρχεται σε επαφή με τον αέρα.

Τα πιο γνωστά φυσικά αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται στην τεχνολογία τροφίμων είναι:

- Οι τοκοφερόλες: πρόκειται για αντιοξειδωτικά τα οποία παρατείνουν τη διάρκεια ζωής πολλών τροφίμων που περιέχουν λίπος ή έλαιο. Τα τέσσερα ομόλογα είναι γνωστά, η α, β, γ και δ-τοκοφερόλη. Η αντιοξειδωτική δραστηριότητα των τοκοφερολών αυξάνει από το α προς δ ομόλογο, ενώ η δραστηριότητα της βιταμίνης Ε ελαττώνεται. Η α-τοκοφερόλη είναι ταχύτερος δεσμευτής για τις υπεροξυ ρίζες που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια αυτοξειδωσης από ότι η γ-τοκοφερόλη, όμως η α-τοκοφερόλη παράγει κατόπιν μια ακυλική ρίζα που μπορεί να ξεκινήσει την αυτοξειδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων. Αυτή η επίδραση ενίσχυσης της οξειδωσης είναι μικρότερη στη γ-τοκοφερόλη.
- Το ασκορβικό οξύ: είναι δραστικό αντιοξειδωτικό στα υδατικά μέσα, αλλά μόνο σε υψηλότερες συγκεντρώσεις ($\sim 10^{-3}$ mol/L), ενώ δρα ως ενισχυτικό οξειδωσης σε χαμηλότερα επίπεδα (10^{-5} mol/L), ειδικά παρουσία ιόντων βαρέων μετάλλων. Η προσθήκη λιποδιαλυτού ασκορβυλοπαλμιτικού ή ασκορβικού οξέος σε συνδυασμό με έναν γαλακτωματοποιητή, μπορεί να αυξήσει την επίδραση των τοκοφερολών
- Τα καροτενοειδή: μπορούν να δράσουν ως δεσμευτές για ακυλορίζες, καθώς σχηματίζονται ρίζες που σταθεροποιούνται με συντονισμό, μη ικανές να προκαλέσουν την υπεροξειδωση των λιπιδίων. Τα β-καροτένια είναι πιο δραστικά σε μια συγκέντρωση 5×10^{-5} mol/l, ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις υπερισχύει η επίδραση ως ενισχυτικά οξειδωσης.

- Οι φαινολικές ενώσεις: όπως η φλαβονόνες και οι φλαβονόλες, βρίσκονται στους φυτικούς ιστούς, δρουν ως φυσικά αντιοξειδωτικά. Η προστατευτική επίδραση στην οξειδωση των λιπών, των διαφόρων βοτάνων των καρυκευμάτων και των εκχυλισμάτων τσαγιού την οφείλουν στην παρουσία αυτών των αντιοξειδωτικών.
- Η κουερσετίνη: η αντιοξειδωτική της δράση είναι σχεδόν τόσο υψηλή όσο αυτής της α-τοκοφερόλης στην προστασία των μικκυλίων του λινελαϊκού οξέος.
- Πολυφαινόλες από ξύλο: όπως η λιγνίνη, με το κάψιμο του ξύλου ή του πριονιδιού δημιουργείται καπνός και παράγονται πτητικές φαινόλες, οι οποίες επικάθονται στην επιφάνεια των τροφίμων και στη συνέχεια διαπερνούν τα τρόφιμα και ενεργούν ως αντιοξειδωτικά. (Belitz et al, 2011)
- Η βανιλίνη: όταν προστίθεται σε τρόφιμα όπου το άρωμά είναι επιθυμητό διαδραματίζει έναν σημαντικό ρόλο ως αντιοξειδωτικό.
- Οι ρεδουκτόνες: πρόκειται για προϊόντα της αντίδρασης Maillard, πρέπει να θεωρηθούν ως φυσικά ενεργά αντιοξειδωτικά. Επίσης άλλα φυσικά αντιοξειδωτικά είναι η κατεχίνη, το καφεϊκό οξύ.

Τα πρωτοταγή διακόπτουν τις αντιδράσεις διάδοσης παρέχοντας άτομα υδρογόνου στις ελεύθερες ρίζες. Αυτά είναι ενώσεις όπως:

- Εκχυλίσματα πλούσια σε τοκοφερόλες E306
- Συνθετική α-τοκοφερόλη E307
- Συνθετική γ-τοκοφερόλη E308
- Συνθετική δ-τοκοφερόλη E309
- Γαλλικός προπυλεστέρας E310
- Γαλλικός οκτυλεστέρας E311
- Γαλλικός δωδεκυλεστέρας E312
- Βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA) E320
- Βουτυλιωμένο υδροξύτολουόλιο (BHT) E321

Στα δευτεροταγή εντάσσονται ενώσεις που χαρακτηρίζονται ως αντιοξειδωτικά με την ευρύτερη έννοια του όρου και αφορούν εκείνα που δρουν

ως δεσμευτές οξυγόνου, ως δεσμευτές μετάλλων, ως αποσβέστες διηγεμένου οξυγόνου, ως ένζυμα, καθώς και αντιοξειδωτικά όπως η μεθυλοσιλικόνη και οι στερόλες με αιθυλική πλευρική αλυσίδα, αλλά και αντιοξειδωτικά με πολλαπλή ή μη πλήρως γνωστή δράση. Αυτά είναι:

- L-ασκορβικό οξύ E300
- L-ασκορβικό νάτριο E301
- L-ασκορβικό ασβέστιο E302
- Παλμιτικός εστέρας του ασκορβικού οξέος E304
- Διοξειδίο του θείου E220
- Θειώδη άλατα E321-E326
- Λεκιθίνες E322
- Κιτρικό οξύ E330
- Τρυγικό οξύ E334
- Φωσφορικό οξύ E338

Τα δευτεροταγή αντιοξειδωτικά μπορούν να δρουν ως δεσμευτές οξυγόνου, καθώς αντιδρώντας με το οξυγόνο ελαττώνουν τη συγκέντρωσή του σ' ένα κλειστό σύστημα. Σ' αυτή την κατηγορία εντάσσονται το ασκορβικό οξύ και οι εστέρες του.

Ακόμη μπορούν να δρουν ως δεσμευτές μετάλλων. Ίχνη ιόντων βαρέων μετάλλων είναι δυνατόν να λειτουργήσουν ως καταλύτες για την οξειδωση των λιπών ή των ελαίων. Η δέσμευσή τους από χηλικούς παράγοντες αυξάνει την αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα και εμποδίζει την οξειδωση του ασκορβικού οξέος και των λιποδιαλυτών βιταμινών. (Belitz et al, 2011) Σε αυτή την κατηγορία εντάσσονται το αιθύλενο-διαμινο-τετραοξικό οξύ EDTA, το κιτρικό οξύ, το φωσφορικό οξύ, το θειώδες οξύ και τα άλατά του κ.λπ.

Αναγωγικές ενώσεις οι οποίες αναγεννούν τις φαινόλες και εμφανίζουν το φαινόμενο του συνεργισμού είναι το ασκορβικό οξύ το οποίο ως αναγωγικό που είναι μεταφέρει άτομα υδρογόνου στις κινόνες, που σχηματίζονται κατά την

ενζυμική αμαύρωση των φαινολικών ουσιών, παρέχοντας μια προστασία στις πρόσφατα κομμένες επιφάνειες των φρούτων και των λαχανικών.

Το θειώδες οξύ και τα θειώδη άλατά αντιδρούν εύκολα με το οξυγόνο και δίνουν μια σχετική προστασία στα αποξηραμένα φρούτα και λαχανικά. Το EDTA και το κιτρικό οξύ σχηματίζουν χηλικές ενώσεις με τα μέταλλα, κυρίως το σίδηρο και το χαλκό τα οποία συμβάλλουν στη δημιουργία ελευθέρων ριζών. (Μπόσκου, 2004)

Το διοξείδιο του θείου χρησιμοποιείται στην παραγωγή αφυδατομένων φρούτων και λαχανικών, φρουτοχυμών κ.ά. Παρεμποδίζει τον αποχρωματισμό εμποδίζοντας τις ενώσεις με ενεργή καρβονυλική (στην αντίδραση Maillard, μη ενζυμικό μαύρισμα) ή εμποδίζοντας την οξειδωση των φαινολών από φαινολοξειδάσες (ενζυμικό μαύρισμα).

Το κιτρικό οξύ χρησιμοποιείται στην παραγωγή φρουτοχυμών, μαρμελάδας, παγωτών και ζελέ κ.ά. στα φρούτα και στα λαχανικά χρησιμοποιείται για την καταστολή του ενζυμικού μαυρίσματος.

Το τρυγικό οξύ χρησιμοποιείται για τη συνεργιστική δράση με τα αντιοξειδωτικά, καθώς σχηματίζει σύμπλοκα μετάλλων. Επίσης βρίσκει εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων στην όξυνση των φρουτοχυμών, των ξινών γλυκισμάτων, του κρασιού κ.ά.

1.2.10. Αντιοξειδωτικές ουσίες του βύσσινου και η σημασία τους

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μια έντονη δραστηριότητα σχετικά με την ευεργετική επίδραση των φυσικών αντιοξειδωτικών στην υγεία του ανθρώπινου οργανισμού. Πειραματικές και επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει, ότι τα αντιοξειδωτικά που λαμβάνονται μέσω της διατροφής επιβραδύνουν ή παρεμποδίζουν την εμφάνιση διάφορων ασθενειών όπως καρδιαγγειακές παθήσεις, εγκεφαλική δυσλειτουργία, καρκίνος, εξασθένιση του ανοσοποιητικού συστήματος κ.ά..

Σύμφωνα με έρευνα που δημοσιεύτηκε το 2002, οι καρποί από τα φυτά της οικογένειας *Rosaceae* στην οποία ανήκει και το βύσσινο συγκαταλέγονται σε αυτά με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε αντιοξειδωτικά (Halvorsen BL et al.) Τα βύσσина είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικά, συμπεριλαμβανομένων ορισμένων βιταμινών και φυτοθεραπευτικών συστατικών, τα οποία μειώνουν τις φλεγμονές, ασκούν προστατευτική δράση έναντι των καρδιοπαθειών και του καρκίνου, ανακουφίζουν από τον πόνο που προκαλούν η αρθρίτιδα και η ουρική αρθρίτιδα, μειώνουν τον κίνδυνο για εμφάνιση της αντίστασης στην ινσουλίνη στο διαβήτη και συμβάλλουν στην πρόληψη της απώλειας μνήμης.

Οι αντιοξειδωτικές ουσίες του βύσσινου είναι η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ), τα καροτενοειδή (β-καροτένιο, λουτεΐνη, ζεαξανθίνη), και οι φαινολικές ουσίες.

- Η βιταμίνη C

Η βιταμίνη C είναι από τις κυριότερες υδατοδιαλυτές βιταμίνες και δρα με μεγάλη ταχύτητα σε υδατικά διαλύματα, για αυτό και αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας εναντίον των ελευθέρων ριζών στο υδατοδιαλυτό μέρος των κυττάρων. Διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο σε μια πληθώρα αντιδράσεων στον ανθρώπινο οργανισμό, ενώ ο κυριότερος ρόλος της συνδέεται με την ικανότητα να δρα ως αντιοξειδωτικό, ιδιαίτερα λόγω της ικανότητάς του για αναγέννηση της α-τοκοφερόλης και της αναγωγής των α-τοκοφέρυλο-ριζών στις επιφάνειες των μεμβρανών. (Frei et al, 1989) Ο αντιοξειδωτικός ρόλος της βιταμίνης C, έχει τεκμηριωθεί με πολυάριθμες έρευνες *in vitro* και *in vivo* και σχετίζεται με την δράση της ως δότης ηλεκτρονίων, παίζοντας τον ρόλο του εκκαθαριστή των ελευθέρων ριζών και άλλων μορφών οξυγόνου και αζώτου.

Η βιταμίνη C ως αντιοξειδωτική προστατεύει άλλα συστατικά των τροφίμων ή του οργανισμού από τις επιβλαβείς συνέπειες της οξειδωσης, γιατί έχουν τη δυνατότητα να αδρανοποιούν τους οξειδωτικούς παράγοντες, αντιδρώντας αντιστρεπτά μαζί τους. (Καλογιάννης, 2010) Μπορεί να εξουδετερώσει τις ρίζες υπεροξειδίου (O_2^-) και υδροϋπεροξειδίου (HO_2^{\cdot}), να απομακρύνει υδατοδιαλυτές υπεροξυλο-(RO_2)ρίζες, θειυλο- και φαινυλο-ρίζες και είναι

ισχυρός εκκαθαριστής του υποχλωριώδους οξέος (HOCl), του υπεροξυνιτρώδους ανιόντος (ONOO⁻), του μονήρους οξυγόνου (1O₂) και του όζοντος (O₃) και του διοξειδίου του αζώτου (NO₂) και καλός εκκαθαριστής των ριζών υδροξυλίου (HO·) και των ριζών νιτροξειδίου. Οι λιποφιλικές εστέρες του ασκορβικού μπορούν να απομακρύνουν λιποδιαλυτές υπεροξυλο-ρίζες. (Βαλαβανίδης, 2006)

Η βιταμίνη C προφυλάσσει από βλάβες των ελευθέρων ριζών που δημιουργούνται με προσβολές από ρίζες υδροξυλίου (HO·) ή RO₂· στο ουρικό οξύ και προστατεύει από τις οξειδωτικές βλάβες ελευθέρων ριζών που παράγονται από ορισμένα φάρμακα. Μπορεί να προστατεύσει τις μεμβράνες και τις λιποπρωτεΐνες από τη λιπιδική υπεροξειδωση που προκαλούν οι οξειδωτικές ουσίες του καπνού του τσιγάρου. Προστατεύει τα λιπίδια του πλάσματος από την υπεροξειδωση που προκαλείται από τα ενεργοποιημένα ουδετερόφουλα και ακόμη προστατεύει από τη λιπιδική υπεροξειδωση που γίνεται μέσω των μιγμάτων αιμοσφαιρίνης-H₂O₂ ή μυοσφαιρίνης-H₂O₂, καθώς και από την υπεροξειδωση που εξαρτάται από τη διάλυση της αίμης και την απελευθέρωση καταλυτικών ιόντων σιδήρου. (Βαλαβανίδης, 2006) Ακόμη το ασκορβικό οξύ προστατεύει τα υγρά επικάλυψης των πνευμόνων από τις οξειδωτικές ενώσεις της ατμοσφαιρικής ρύπανσης. (Βαλαβανίδης, 2006) και παίζει ρόλο στην παρεμπόδιση ή την προστασία από το άσθμα και την αλλεργική φλεγμονή. (Gershwin, et al, 2008) Ενώ ιδιαίτερη σημασία έχει αποδοθεί στη μείωση του κινδύνου για κακοήθεις νεοπλασίες και την ενίσχυση του ανοσιακού συστήματος. (Βαλαβανίδης, 2006)

Επομένως η σημασία του ασκορβικού οξέος βρίσκεται στην αντιοξειδωτική της δράση, καθώς προστατεύει τον οργανισμό από τις συνέπειες των επιβλαβών οξειδώσεων, στην προστασία έναντι των εμφανίσεων διαφόρων ασθενειών και στην συμβολή της ενίσχυσης του ανοσιακού συστήματος.

- Καροτενοειδή (β-καροτένιο, λουτεΐνη, ζεαξανθίνη),

Τα καροτενοειδή είναι μια ομάδα φυσικών λιποδιαλυτών χρωστικών που περιλαμβάνει πάνω από 600 ενώσεις. Στα φρούτα και τα λαχανικά προσδίδουν

χρώματα όπως κόκκινο, κίτρινο, πορτοκαλί ή ακόμη και πράσινο. Έχουν αντιοξειδωτική δράση μέσω της απενεργοποίησης των ελευθέρων ριζών και ιδιαίτερα της ρίζας οξυγόνου. Το πιο σημαντικό καροτενοειδές είναι το β-καροτένιο, το οποίο μετατρέπεται στα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου σε δύο όμοια μόρια βιταμίνης Α. Ως πρόδρομη ένωση της βιταμίνης Α συμμετέχει στην λειτουργία της όρασης, στη μορφοποίηση των οστών, την ανάπτυξη, την αναπαραγωγή, στη σύνθεση των γλυκοπρωτεϊνών, την κυτταρική διαφοροποίηση, στην έκκριση της βλέννας από τα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου, καθώς και στο ανοσοποιητικό σύστημα. (Μανιός 2006, & Παπανικολάου 2005, & Κυρανάς 2001, & Gershwin et al 2008)

Η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη ανήκουν στην οικογένεια των καροτενοειδών ξανθοφύλλων, που προέρχονται από τη διατροφή. Από τα 40-50 καροτενοειδή που προσλαμβάνονται με τη διατροφή, μόνο η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη είναι χρωστικές που σχετίζονται με την ηλιακή εκφύλιση της ωχράς κηλίδας. (Gale et al, 2003) Είναι τα μόνα καροτενοειδή που βρίσκονται στην ωχρά κηλίδα αλλά και στον φακό του οφθαλμού επιτελώντας διπλή λειτουργία και στους δύο αυτούς ιστούς, όπως να δρουν ως ισχυροί αντιοξειδωτικοί παράγοντες αλλά και να δρουν ως φίλτρο στην υπεριώδη ακτινοβολία στο επίπεδο μπροστά στους φωτοϋποδοχείς. (krinsky et al, 2003) Η ύπαρξη προϊόντων οξειδωσης της λουτεΐνης και της ζεαξανθίνης στον αμφιβληστροειδή και σε άλλες περιοχές του οφθαλμού, υποστηρίζει την πιθανότητα του αντιοξειδωτικού τους ρόλου. (Khachik et al, 1997 & Berstein et al, 2001)

Η αυξημένη κατανάλωση τροφίμων πλούσιων σ' αυτές τις χρωστικές (Hammond et al, 1997 & Johnson et al, 2000) ή η πρόσληψη συμπληρωμάτων λουτεΐνης και ζεαξανθίνης, αποδείχθηκε ότι αυξάνει την πυκνότητα της χρωστικής στον αμφιβληστροειδή υγείων ενηλίκων. (Bone et al, 2003)

Η διατήρηση της οπτικής ευαισθησίας σε ηλικιωμένα άτομα, έχει συσχετιστεί με την πυκνότητα χρωστικής στην ωχρά κηλίδα. (Hammond et al, 1998) Θετική σχέση έχει αναφερθεί μεταξύ της λήψης χρωστικής και συγκέντρωσης χρωστικής πυκνότητας στην ωχρά κηλίδα. (Curran- Celentano et al, 2001)

Οι ξανθοφύλλες επίσης φαίνεται να έχουν αντι-μεταλλαξιακό και αντικαρκινικό ρόλο. Ο πιθανός προστατευτικός ρόλος ενάντια στην καρκινογένεση φαίνεται να συμπεριλαμβάνει την επιλεκτική ρύθμιση της απόπτωσης (Chew et al, 2003 & Sumantran et al, 2000), την αναστολή της αγγειογένεσης (Chew et al, 2003), τη βελτίωση της διακυτταρικής επικοινωνίας (Zhang et al, 1991) και της κυτταρικής διαφοροποίησης (Gross et al, 1997), την πρόληψη των οξειδωτικών βλαβών (Haegel et al, 2000) και τη ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος. (Jynouchi et al, 1994)

Σε μελέτη που αφορούσε 304 ασθενείς με καρκίνο του οισοφάγου και 743 ομάδες ελέγχου η πρόσληψη λουτεΐνης και ζεαξανθίνης ήταν στατιστικώς σημαντικά αντιστρόφως ανάλογη με τον κίνδυνο για ανάπτυξη του συγκεκριμένου καρκίνου. (Franceschi et al, 2000)

Σε 1031 ασθενείς με καρκίνο των ωοθηκών και 2411 άτομα ομάδας ελέγχου, βρέθηκε ότι οι γυναίκες με αυξημένη πρόσληψη λουτεΐνης και ζεαξανθίνης, είχαν 40% λιγότερο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου. (Biodoli et al, 2011)

Σε μελέτη που αφορούσε άνδρες χωρίς καρδιαγγειακή νόσο ή σακχαρώδη διαβήτη, αποδείχθηκε μια οριακά στατιστικώς σημαντική αντίστροφη σχέση μεταξύ διατροφικής πρόσληψης λουτεΐνης και ζεαξανθίνης και εμφάνισης εμφράγματος. (Stampfer & Willett, 1999)

Η αντίστροφη σχέση της πρόσληψης λουτεΐνης και ζεαξανθίνης και ανάπτυξης καρκίνου αποδείχθηκε επίσης, μέσα από μελέτες για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως (Nomura et al, 2003), του ενδομητρίου (Jain et al, 2000), των νεφρών (Yuan et al, 1998) και του στομάχου. (Abneth et al, 2003)

Επομένως η σημασία των καροτενοειδών αυτών φαίνεται στην προστασία όχι μόνο των παθήσεων του οφθαλμού, αλλά και σε άλλες σοβαρές παθήσεις με υψηλή θνησιμότητα.

- Φαινολικές ενώσεις

Το βύσσινο έχει υψηλή περιεκτικότητα σε ανθοκυανίνες οι οποίες ανήκουν στα φλαβονοειδή και είναι η πιο σημαντική ομάδα των υδατοδιαλυτών φυτικών χρωστικών, που είναι υπεύθυνες και το κόκκινο χρώμα του φρούτου. Οι ανθοκυανίνες του βύσσινου έχει αποδειχθεί ότι έχουν ισχυρή αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδης ιδιότητες, αναστέλλουν τη ανάπτυξη όγκων σε ποντίκια και καρκινικών κυττάρων και των καρκινικών κυτταρικών σειρών στο παχύ έντερο. Επιπλέον η κυανιδίνη, ανθοκυανίνη που απαντάμε στο βύσσινο, έχει επιδείξει μεγαλύτερη αντιφλεγμονώδη δράση από την ασπιρίνη.

Κλινικές αναφορές τριών περιστατικών με ουρική αρθρίτιδα έδειξαν ότι η κατανάλωση 227g προϊόντων από κεράσι ημερησίως για 3 μέρες έως 3 μήνες βοηθά να μειωθούν τα επίπεδα του ουρικού οξέος στο πλάσμα σε φυσιολογικά επίπεδα και να αμβλυθούν επιθέσεις της ουρικής αρθρίτιδας. (Jacob et al., 2003) Δεν γνωρίζουμε ποιες ουσίες του είναι υπεύθυνες για αυτές τις ενέργειες και κυρίως θα πρέπει να δούμε αποτελέσματα από ελεγχόμενες πειραματικές δοκιμές ώστε να αξιολογηθούν αυτά τα αποτελέσματα.

Σε μία τυχαίοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη από το πανεπιστήμιο του Όρεγκον σε αθλητές μεγάλων αποστάσεων είδαν ότι ο χυμός βύσσινο είχε επίδραση στην μειωμένη αύξηση του πόνου. Και οι δύο ομάδες αθλητών ανέφεραν αύξηση μυϊκού πόνου μετά την ολοκλήρωση του αγώνα. Οι αθλητές όμως που έπιναν χυμό βύσσινο 2 φορές την ημέρα για μία εβδομάδα πριν τον αγώνα και την ημέρα του αγώνα ανέφεραν σημαντικά μικρότερη αύξηση του πόνου μετά το τέλος του αγώνα σε σχέση με τους αθλητές που λάμβαναν εικονικό ρόφημα. Η σημαντική αυτή μείωση μας δείχνει ότι ο χυμός βύσσινο παρείχε στους αθλητές μία προστατευτική δράση έναντι του οξέος πόνου των μυών που προκαλείται από το τρέξιμο μεγάλων αποστάσεων.

Εκτός από τη βιταμίνη C και τις ανθοκυανίνες τα βύσσινια περιέχουν άλλες τρεις ουσίες που έχουν δείξει ότι σταματούν τον μετασχηματισμό των κυττάρων, που οδηγεί σε καρκίνο. Αυτά είναι το perillyl alcohol, λεμονένιο και το ελλαγικό οξύ. Μόνο τα κεράσια περιέχουν και τις τρεις αυτές ενώσεις μαζί.

Σε ένα πείραμα που δημοσιεύτηκε το 2003 στο “Cancer Letters”, σχεδιασμένο έτσι ώστε να εξεταστεί η δυνατότητα των ανθοκυανινών του βύσσινου να αναστέλλουν την ανάπτυξη όγκων στο έντερο σε ποντίκια, οι ερευνητές είδαν ότι τα ποντίκια που κατανάλωναν στη διατροφή τους βύσσινα είχαν λιγότερα και μικρότερα αδενώματα από αυτά που ήταν στην ομάδα ελεγχόμενης δίαιτας. Οι ανθοκυανίνες του βύσσινου μείωσαν επίσης την κυτταρική ανάπτυξη ορισμένων ανθρώπινων κυτταρικών γραμμών καρκίνου παχέος εντέρου *in vitro*. (S.-Y. Kang et al. 2003) Αυτό μας δείχνει ότι οι ανθοκυανίνες του βύσσινου και σε συνδυασμό με τα υπόλοιπα συστατικά του, μπορεί να έχουν τη δυνατότητα να μειώσουν τον κίνδυνο για καρκίνο του παχέος εντέρου. Χρειάζονται όμως κι άλλα ελεγχόμενα πειράματα ώστε να είμαστε σε θέση να το πούμε αυτό με απόλυτη βεβαιότητα.

Επομένως η σημασία των φαινολικών ενώσεων του βύσσινου, βρίσκεται στον αντιοξειδωτικό τους ρόλο, καθώς μπορούν να παρέχουν προστασία ενάντια στον καρκίνο, στην αντιφλεγμονώδη δράση τους, στην προστατευτική δράση έναντι του οξέος πόνου σε αθλητές μεγάλων αποστάσεων, στην άμβλυση των επιθέσεων της ουρικής αρθρίτιδας καθώς βοηθά να μειωθούν τα επίπεδα του ουρικού οξέος στο πλάσμα σε φυσιολογικά επίπεδα.

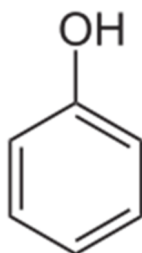
1.3. Φαινολικές ενώσεις

1.3.1. Γενικά

Οι φαινολικές ενώσεις ανήκουν στα φυσικά αντιοξειδωτικά. Αποτελούν μια ευρεία ομάδα βιολογικών μορίων, με βασικό τους ρόλο την προστασία των φυτικών κυττάρων. Μέχρι σήμερα ταυτοποιήθηκαν πάνω από 8000 ενώσεις με φαινολική δομή. Αποτελούν προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών και προκύπτουν από δύο ανεξάρτητα ή συνδυασμένα βιοσυνθετικά μονοπάτια, του σικιμικού και του οξικού οξέος. (Κυρανάς, 2011) Οι φαινολικές ενώσεις μπορούν να κυμαίνονται από απλά μόρια όπως τα φαινολικά οξέα έως υψηλά πολυμερισμένες ενώσεις.

1.3.2. Δομή και κατηγορίες φαινολικών ενώσεων

Οι φαινολικές ενώσεις περιέχουν στο μόριό τους, έναν τουλάχιστον αρωματικό δακτύλιο υποκατεστημένο με ένα ή περισσότερα υδροξύλια.



Σχήμα 1.1.: Δομή φαινόλης

Ως προς τη χημική δομή (Σχήμα 1.1.) τους μπορεί να είναι απλές, χαμηλού μοριακού βάρους ενώσεις με έναν αρωματικό δακτύλιο έως σύνθετες, μεγάλου μοριακού βάρους ενώσεις, όπως οι λιγνίνες, οι ταννίνες και άλλες πολυμερείς φαινολικές ενώσεις. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτών των φαινολικών ενώσεων είναι:

Οι απλές μονοκυκλικές φαινόλες και τα φαινολικά οξέα

Η κατηγορία των απλών φαινολικών ενώσεων περιλαμβάνει τις φαινόλες, τις βενζοκινόνες, τα φαινολικά οξέα, τις ακετοφαινόλες, τα φαινολοξικά, τις φαινολοαλκοόλες, τα υδροκιναμμωμικά οξέα και τα φαινολοπροπένια. Το κύριο δομικό χαρακτηριστικό αυτών των ενώσεων, είναι η ύπαρξη ενός μόνο φαινολικού δακτυλίου στο μόριό τους. Απαντώνται στα ανώτερα φυτά είτε ελεύθερες, είτε με τη μορφή μεθυλο- και αίθυλο- εστέρων ή γλυκοζυτών. (Κυρανάς, 2011)

Τα φαινολικά οξέα είναι αρωματικά οξέα. Τα πιο συχνά απαντούμενα στα φυτά διακρίνονται σε δύο ομάδες, στα παράγωγα του βενζοϊκού οξέος και τα παράγωγα του κινναμωμικού οξέος. Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα υδροξυ-παράγωγα του κινναμωμικού οξέος που βρίσκονται σχεδόν σε όλα τα

φυτά και συνήθως είναι δεσμευμένα με την μοφή εστέρων ή γλυκοζιτών. (Κυρανάς, 2011 & Παπαγεωργίου, 2005)

Τα υδροξυ-παράγωγα του κινναμωμικού οξέος είναι τα: ο-κουμαρικό, π-κουμαρικό, καφεϊκό, φερουλικό, σιναπτικό, χλωρογενικό και το ροσμαρινικό οξέα. Ενώ του βενζοϊκού οξέος υδροξυ-παράγωγα είναι τα: υδροξυβενζοϊκό, βανιλλικό, συρινγικό, πρωτοκατεχικό και το γαλλικό, οξέα. Ο κύριος αντιπρόσωπος των υδροξυ-παραγώγων του κινναμωμικού οξέος είναι καφεϊκό οξύ που παράγεται από το βιοσυνθετικό μονοπάτι του σικιμικού οξέος, από τα αρωματικά αμινοξέα φαινυλαλανίνη και τυροσίνη. (Παπαγεωργίου, 2005)

Τα φαινυλοπροπανοειδή

Έχουν στο φαινολικό δακτύλιο μια πλάγια αλυσίδα τριών ατόμων άνθρακα. Σε αυτή την κατηγορία εντάσσονται οι κουμαρίνες, τα υδροξυκινναμωμικά οξέα (φερουλικό, καφεϊκό κ.ά.) και τα φαινυλοπροπένια (ευγενόλη, μυριστική κ.ά.)

Η κουμαρίνη είναι η μητρική ένωση των κουμαρινών. Αυτές οι γλυκές στη γεύση ενώσεις είναι λακτόνες του ο- υδροξυκινναμωμικού οξέος. Απαντώνται στα φρούτα, στα αιθέρια έλαια, στο πράσινο τσάι κ.ά. Οι κουμαρίνες έχουν αντιαλλεργική, αντιπηκτική και αντιφλεγμονώδη δράση. (Yarnell, et al., 2009) Επίσης εμφανίζουν αντικαρκινικές αντιμυκητιακές και βακτηριοστατικές ιδιότητες. (Budzisz, 2003)

Οι φαινολικές κινόνες

Πρόκειται για φυσικές χρωστικές που στο μόριό τους περιέχουν κινουειδή δακτύλιο, υδροξύλια και έχουν φαινολικές ιδιότητες. Απαντώνται στα φυτά ενωμένες με σάκχαρα ως γλυκοζίτες ή ως διμερείς κινόνες. Σε αυτές ανήκουν οι ναφθοκινόνες οι οποίες αποτελούν μια ευρέως διαδεδομένη ομάδα φαινολικών ενώσεων, όπου η χημική τους δομή αποτελεί τη βάση σε πολλές χρωστικές, αντιβιοτικά, συνένζυμα και επίσης για την βιταμίνη Κ. Εμφανίζουν αντιφλεγμονώδεις και αντιπυρετικές ιδιότητες, ενώ η χημική τους δομή αποτελεί τον πυρήνα πολλών χημειοθεραπευτικών ενώσεων. (Κυρανάς, 2011)

Τα φλαβονοειδή

Είναι η πολυπληθέστερη ομάδα φυσικών φαινολικών ενώσεων καθώς βρίσκεται σχεδόν σε όλα τα φυτικά τρόφιμα. Στα τρόφιμα και στα ποτά φυτικής προέλευσης προσδίδουν την χαρακτηριστική γεύση και άρωμα. Όλα τα φλαβονοειδή έχουν κοινό βιοσυνθετικό δρόμο. Με βάση τη δομή τους χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: στα παράγωγα της φλαβόνης και στις ανθοκυανίνες.

A) Στα παράγωγα της φλαβόνης που περιλαμβάνουν τις φλαβόνες (απινεγίνη, χρυσίνη, λουτεολίνη, 4',7-διγλυκοσιδιο-λουτεολίνης), τις φλαβονόνες (εσπερίτίνη, ναριγκενίνη), τις φλαβονόλες (κατεχίνη, επικατεχίνη, καμφερόλη, κερκετίνη μυρικετίνη) τις χαλκόνες (φλωρετίνη, αρμπουτίνη, χαλκοναρινγενίνη) και τις ισοφλαβόνες (γενιστίνη, γενιστείνη κ.ά.).

B) Στις ανθοκυανίνες όπου είναι η σπουδαιότερη ομάδα φυτικών χρωστικών. Είναι υδατοδιαλυτές χρωστικές των φυτών, υπεύθυνες για τα χρώματα κόκκινο, μπλε και βιολετί. Οι περισσότερες ανθοκυανίνες είναι μονογλυκοζίτες και διγλυκοζίτες της πελαργονιδίνης, της κυανιδίνης, της πεονιδίνης, της δελφινιδίνης, της μαλβιδίνης και της πελαργοζιδίνης. (Βαλαβανίδης, 2011) Οι σημαντικότερες ανθοκυανιδίνες είναι η πελαργονιδίνη, η απιγενιδίνη, η κυανιδίνη, και η δελφινίνη. (Heim et al., 2002) Τα κεράσια περιέχουν την ανθοκυανίνη πεονιδίνη-3-γλυκοζίτη. (Βαλαβανίδης, 2011)

Τα τελευταία χρόνια μελετώνται εντατικά τα φλαβονοειδή, επειδή θεωρούνται πως προστατεύουν τον ανθρώπινο οργανισμό από την αθηροσκλήρωση αλλά και από ορισμένες μορφές καρκίνου. (Παπαγεωργίου, 2005)

Οι πολυμερείς φαινολικές ενώσεις

Οι ταννίνες, οι λιγνίνες και οι μελανίνες, ανήκουν στις πολυμερείς φαινολικές ενώσεις. Πρόκειται για ενώσεις φαινολικού χαρακτήρα που σχηματίζονται μέσω του οξειδωτικού πολυμερισμού, από συμπύκνωση μονομερών φαινολικών ή φλαβονικών μονάδων.

Οι ταννίνες είναι πολυμερή φαινολικού χαρακτήρα και είναι γνωστές και ως προανθοκυανιδίνες. Πρόκειται για άχρωμες μη κρυσταλλικές ουσίες και υπάρχουν στον φλοιό πολλών φυτικών ειδών. Διαλύονται στο νερό και σχηματίζουν κολλοειδή διαλύματα, τα οποία έχουν στυφή γεύση. Ανάλογα με τη δομή τους διακρίνονται στις υδρολυομένες ή ταννίνες του γαλλικού οξέος και στις συμπυκνωμένες ή ταννίνες της κατεχίνης. Οι βασικές δομικές μονάδες των συμπυκνωμένων ταννινών η κατεχίνη και η επικατεχίνη. Έχουν την ιδιότητα να ενώνονται με πρωτεΐνες ή άλλα πολυμερή όπως οι πολυσακχαρίτες. Η σύνδεση των πρωτεϊνών με τις ταννίνες εμποδίζει την ολοκλήρωση της πέψης στα θηλαστικά, καθώς μπλοκάρουν τα πεπτικά ένζυμα. Επίσης σχηματίζουν αδιάλυτα σύμπλοκα με ιόντα μετάλλων μειώνοντας τη βιοδιαθεσιμότητα τους.

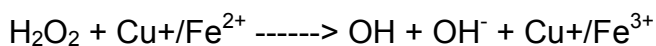
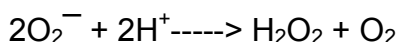
Οι ευεργετικές δράσεις στον άνθρωπο σχετίζονται με την προστασία που προσφέρουν έναντι των λοιμώξεων. Εκδηλώνουν αντιπαρασιτικά αποτελέσματα και καταπολεμούν βακτήρια και ιούς γρίπης. Σε συνεργασία με την βιταμίνη C βοηθούν στην δημιουργία κολλαγόνου, ενώ σε συνεργασία με τις ανθοκυανιδίνες δρουν αντιχοληστεριναιμικά. (Κυρανάς, 2011)

Οι λιγνίνες θεωρούνται πολυμερή του φαινυλο-προπανίου και είναι η πιο διαδεδομένη ουσία στα φυτά. Αποτελούν βασικό τμήμα της διαιτητικής ίνας όλων των φυτικών τροφίμων που είναι πλούσια σε διαιτητική ίνα. Διασπώνται από τα βακτήρια του εντέρου κυρίως προς δύο τύπους φυτοοιστρογόνα, την εντερολακτόνη και την εντεροδιόλη. Επιδημιολογικές και φαρμακολογικές μελέτες έδειξαν ότι αυτοί οι δύο μεταβολίτες δρουν προληπτικά κατά της οστεοπόρωσης, των καρδιαγγειακών παθήσεων, της υπερλιπιδαιμίας, καθώς και των καρκινικών κυττάρων του μαστού, του παχέος εντέρου και του προστάτη. (Κυρανάς, 2011)

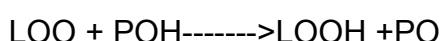
1.3.3. Μηχανισμός αντιοξειδωτικής δράσης φαινολικών ουσιών

Οι πολυφαινόλες *in vitro* δρουν αντιοξειδωτικά με τους παρακάτω τρόπους:

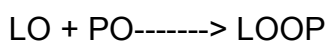
a) Εκκαθαρίζουν τις ρίζες σουπεροξειδίου ($O^{\cdot -}$) στο αρχικό στάδιο.



b) Εξουδετερώνουν τις λιπούπεροξειδικές ρίζες (LOO) που σχηματίζονται κατά τη λιπιδική υπεροξειδωση. Η εξουδετέρωση των λιπούπεροξειδικών ριζών γίνεται με πρόσληψη ενός ατόμου υδρογόνου από μια υδροξυλομάδα της πολυφαινόλης (POH).



Η ρίζα των πολυφαινολών (PO) που παράγεται από την παραπάνω αντίδραση είναι σχετικά πιο σταθερή και δεν αντιδρά εύκολα με λιπαρά οξέα αλλά μόνο με ελεύθερες ρίζες.



Έτσι σχηματίζεται ένα αδρανές προϊόν (LOOP) και τερματίζεται η διάδοση των αλυσιδωτών αντιδράσεων. (Παπαγεωργίου, 2005)

Μεγάλο μέρος της αντιοξειδωτικής δράσης των φαινολικών ενώσεων οφείλεται στην ικανότητα του αρωματικού υδροξυλίου να λειτουργεί ως δότης πρωτονίων. Η ρίζα που σχηματίζεται σταθεροποιείται με την μεταφορά του ασύζευκτου ηλεκτρονίου εντός του δακτυλίου και τη δημιουργία δομών κίνησης (συντονισμός). (Duthie, 1999)

1.3.4. Βιολογικές δράσεις φαινολικών ενώσεων

- Αντιοξειδωτική δράση

Οι έρευνες επισημαίνουν ότι η αντιοξειδωτική τους δράση οφείλεται στην ικανότητα που έχουν να χηλικοποιούν τα μέταλλα, όπως για παράδειγμα το σίδηρο Fe^{+2} , προστατεύοντας τα από την βλαπτική επίδραση των ελευθέρων

ριζών, στην προστασία που ασκούν σε διάφορα μακρομόρια όπως DNA, λιπίδια, κ.ά. από την οξειδωση. (Doenecke et al, 2012)

Οι φαινολικές ενώσεις είναι σημαντικές στην διατροφή του ανθρώπου καθώς χρησιμοποιούνται από τον οργανισμό για την καταπολέμηση των ελευθέρων ριζών και των αρνητικών τους συνεπειών. Η ποσότητα κατανάλωσης των φαινολικών ενώσεων καθώς και η βιοδιαθεσιμότητά τους, καθορίζει την επίδρασή τους στην ανθρώπινη υγεία. (Manach et al., 2004)

Πέρα όμως από τις ευεργετικές επιδράσεις που προκύπτουν από την κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν φαινολικές ενώσεις, υπάρχει ο κίνδυνος τοξικής δράσης από αυξημένη κατανάλωση. Οι πολυφαινόλες δρουν προοξειδωτικά καταλύοντας το κυτταρικό DNA, σε παρουσία μετάλλων, όπως ο χαλκός. (Hadi et al, 2007) Αλλά και ορισμένες πολυφαινόλες έχουν αναφερθεί ότι είναι μεταλλαξιογόνες και δείχνουν να προάγουν την καρκινογένεση στο δέρμα. (Chung et al, 1998)

Ορισμένα όμως φλαβονοειδή, *in vitro* παρουσιάζουν προ-οξειδωτική δράση, που οδηγεί στην παραγωγή των ελευθέρων ριζών. Στη διαμόρφωση της προ-οξειδωτικής δράσης των φλαβονοειδών φαίνεται να παίζει ρόλο η βιταμίνη C, η οποία σε υψηλές συγκεντρώσεις μειώνει τις δραστικές μορφές οξυγόνου που παράγονται από φλαβονοειδή *in vitro*. (Παπαγεωργίου, 2005)

Γενικά για την αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών και την εκκαθάριση των ελευθέρων ριζών *in vivo* δεν υπάρχουν ξεκάθαρες μαρτυρίες και χρειάζονται περισσότερα ερευνητικά αποτελέσματα για να εκτιμηθεί η φυσιολογική σημασία των πολυφαινολών ως αντιοξειδωτικών στο ανθρώπινο σώμα. (Παπαγεωργίου, 2005)

- Καρδιοπροστατευτική δράση

Τα φλαβονοειδή έχουν καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες καθώς έχουν την ικανότητα να αναστέλουν την οξειδωση της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης LDL. (Kondo, et al., 1996) Η παρεμπόδιση της οξειδωσης των LDL, από τα φλαβονοειδή και τις απλές φαινολικές ενώσεις, γίνεται κυρίως με

την ικανότητά τους να δεσμεύουν ενεργά είδη αζώτου (ONOO- και NO•) (Nijveldt et al., 2001 & Heim et al., 2002)

- Αγγειοδιασταλτική δράση

Εκτός από την αναστολή της οξειδωσης της LDL χοληστερόλης και της αναστολής της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων, οι φαινολικές ενώσεις φαίνεται να προκαλούν αγγειοδιαστολή. Το φλαβονοειδές διοκλίνη βρέθηκε ότι επηρεάζει θετικά τα αγγεία προκαλώντας αγγειοδιαστολή. (Lemos, et al., 1999)

- Αντιθρομβωτική δράση

Πολλές έρευνες έχουν δείξει ότι οι φαινολικές ενώσεις αναστέλλουν την συσσώρευση αιμοπεταλίων, με αποτέλεσμα να μειώνεται η σύνθεση προθρομβωτικών παραγόντων, η έκφραση των μορίων προσκόλησης και η δράση των ιστικών παραγόντων. (Rotonclo, et al., 2000)

- Αντιφλεγμονώδη δράση

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι οι φαινολικές ενώσεις των τροφίμων συμβάλουν στην πρόληψη αρκετών παθήσεων ιδιαίτερα αυτών που προκαλούνται από οξειδωτικό stress και τις φλεγμονώδεις καταστάσεις. (Scalbert et al, 2005)

- Αντιαλλεργική δράση

Τα φλαβονοειδή χαρακτηρίζονται και ως αντιαλλεργικά. Η ικανότητα αυτή των φλαβονοειδών οφείλεται στην έκκριση της ισταμίνης. (Berg, et al., 1988)

- Οιστρογόνο δράση

Τις τελευταίες δεκαετίες έχουν διεξαχθεί αρκετά πειράματα για να πιστοποιηθεί η οιστρογονος δράση ισοφλαβονοειδών όπως η γενιστεΐνη, η δαϊδζεΐνη και η φορμονονετίνη σε διάφορα πειραματόζωα. Τα αποτελέσματα έδειξαν οιστρογόνο δράση για πολλά φλαβονοειδή και ισοφλαβονοειδή, με σειρά οιστρογόνου δραστηριότητας: γενιστεΐνη > кемπφερόλη > ναριγενίνη > απιγενίνη > δαϊδζεΐνη > βιοχανίνη A > φορμονονετίνη > λουτεονίνη. Η

ευεργετική επίδραση της κατανάλωσης τροφίμων πλούσιων σε φυτοοιστρογόνα έδειξε ότι συμβάλλει στην πρόληψη της οστεοπόρωσης, στη βελτίωση των συμπτωμάτων της μετεμηνόπαυσης και μείωση της χοληστερόλης. (Βαλαβανίδης 2011)

- Αντικαρκινική δράση

Η πρόληψη του καρκίνου συνδέεται άμεσα με την αναστολή, αναστροφή ή καθυστέρηση του υπερπολλαπλασιασμού των κυττάρων. Τα φλαβονοειδή κερκετίνη, ταξιφολίνη, νομπιλετίνη και τανγκερετίνη σε ποσότητες 2-8μg/mL αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό καρκινικών κυττάρων. (Βαλαβανίδης 2011)

- Νευροπροστατευτική δράση

Σημαντικός αριθμός ερευνών σε πειραματόζωα και σε καλλιέργειες σειρών κυττάρων, δείχνει ότι οι περισσότερες αντιοξειδωτικές φλαβονοειδείς και πολυφαινολικές ενώσεις αναστέλλουν ή μειώνουν την πρόωρη εμφάνιση νευροεκφυλιστικών ασθενειών (Alzheimer, Parkinson κ.ά.) που παρουσιάζονται στους ηλικιωμένους. (Son et al, 2008 & Spenser 2010)

Ακόμη η συνεισφορά των τροφών πλούσια σε φαινολικές ενώσεις είναι σημαντική για την πρόληψη πολλών ασθενειών όπως του σακχαρώδη διαβήτη (Tsuda et al, 2003), του καρκίνου (Lambert et al, 2005) και διάφορων άλλων καρδιαγγειακών παθήσεων. (Vita, 2005) Επίσης έχουν αντιμικροβιακές, αντιιολογικές και αντιγηραντικές ιδιότητες στον ανθρώπινο οργανισμό, καθώς βοηθούν στην ανανέωση και των πολλαπλασιασμό των κυττάρων αλλά και με την έμμεση προστασία που παρέχουν, ενεργοποιώντας διάφορα ενδογενή αμυντικά συστήματα. (Lule & Xia, 2005)

1.3.5. Απορρόφηση μεταβολισμός φαινολικών ενώσεων

Αυτό που καθορίζει την ταχύτητα και την έκταση της απορρόφησης στο έντερο, είναι η χημική δομή των πολυφαινολών αλλά και η φύση των μεταβολιτών που κυκλοφορούν στο πλάσμα. (Manach, et al., 1995) Οι

πολυφαινόλες αποτελούν υπόστρωμα δράσης διαφόρων ενζύμων στο λεπτό έντερο, όπως οι β-γλυκοσιδάσες, οι UDP-γλυκουρο νοσυλοτρανσφεράσες και οι κατεχολο-Ο-μεθυλοτρανσφεράσες, καθώς επίσης και των ενζύμων της φάσης I και II στο ήπαρ. Όταν χορηγούνται πολυφαινόλες σε μικρές δόσεις, η υδρολυτική διάσπαση γίνεται κυρίως στα βλεννογόνα κύτταρα του εντέρου και το ήπαρ παίζει δευτερεύοντα ρόλο και λαμβάνει μέρος στην επιπλέον μετατροπή των πολυφαινολών. Αντίθετα, όταν χορηγούνται μεγάλες δόσεις ο μεταβολισμός των πολυφαινολών γίνεται κυρίως στο ήπαρ. (Jacobson et al, 1983) Αυτό δηλώνει το σημαντικό ρόλο του εντέρου στο μεταβολισμό των πολυφαινολών που λαμβάνονται με την διατροφή.

1.3.6. Πηγές φαινολικών ενώσεων

Οι φαινολικές ενώσεις είναι ιδιαίτερα διαδεδομένες στα τρόφιμα καθώς περιέχονται σε μια μεγάλη ποικιλία τροφίμων, όπως φρούτα, λαχανικά, όσπρια, δημητριακά, ελιές, ελαιόλαδο, ξηροί καρποί, βότανα, σοκολάτα, κακάο κ.λπ. αλλά και σε ποτά όπως κρασί, μπίρα και σε ροφήματα όπως της σοκολάτας, του κακάο, του καφέ και σε πολλά αφεψήματα βοτάνων κ.ά. (Boskou, 2006 & D'Archivio, et al., 2007 & Han, et al., 2007 & Pokorny, 2007)

Η ημερήσια συνολική πρόσληψη των πολυφαινολών κυμαίνεται στο 1g. Αυτή η ποσότητα είναι αρκετά υψηλότερη από άλλα διαιτητικά αντιοξειδωτικά, όπως για παράδειγμα συγκριτικά με την πρόσληψη της βιταμίνης C, η συνολική πρόσληψη των πολυφαινολών είναι δέκα φορές υψηλότερη, ενώ είναι εκατό φορές υψηλότερη από την πρόσληψη της βιταμίνης E και των καροτενοειδών. (Manach et al., 2004) (Scalbert & Williamson, 2000)

1.3.7. Η τεχνολογική σημασία των φαινολικών ενώσεων

Οι φαινολικές ενώσεις επηρεάζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων. Οι ταννίνες προσδίδουν στυφή, αδρή γεύση, ενώ οι φλαβανόνες πικρή. Μπορούν να συμβάλλουν άλλοτε θετικά, όπως η ευχάριστη γεύση και

οσμή, το επιθυμητό χρώμα και άλλοτε να συμβάλλουν αρνητικά όπως μαύρισμα επεξεργασμένων τροφίμων και άλλες φυσιολογικές ανωμαλίες. (Lule & Xia, 2005)

Τα ένζυμα πολυφαινολοξειδάσες χρησιμοποιούν ως υποστρώματα τις φαινολικές ενώσεις, οι οποίες υδροξυλιώνουν τις ο-δифαινόλες προς ο-κινόνες. Οι ο-κινόνες λαμβάνουν μέρος σε μεγάλο αριθμό αντιδράσεων δίνοντας έτσι το ανεπιθύμητο καφέ χρωματισμό στα φρούτα και τα προϊόντα τους. Η αδρανοποίηση των ενζύμων γίνεται με θερμική επεξεργασία και με χρήση αναγωγικών ουσιών όπως SO₂ ή ασκορβικού οξέος, ή με απομάκρυνση του οξυγόνου. (Belitz et al., 2011)

Οι φαινολικές ενώσεις έχουν την ιδιότητα να σχηματίζουν σύμπλοκα με τις πρωτεΐνες και να αυξάνουν τη θολερότητα των φρουτοχυμών. Η τάση για τη δημιουργία αυτών των συμπλόκων αυξάνει τον βαθμό πολυμερισμού των φαινολών. Επομένως ο διαχωρισμός των ενώσεων που προκαλούν θόλωμα είναι ιδιαίτερα χρήσιμος. (Belitz et al., 2011)

1.4.Βιταμίνη C

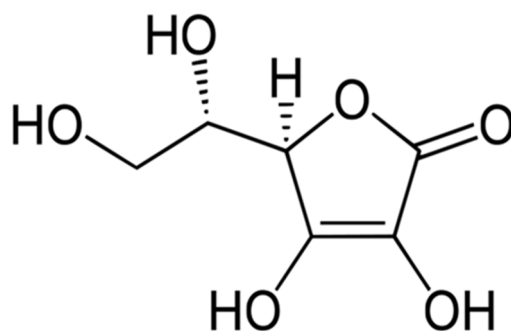
1.4.1. Γενικά

Η βιταμίνη C ή ασκορβικό οξύ, απομονώθηκε από τα επινεφρίδια το 1928 από τον Ούγγρο βιοχημικό νομπελίστα Άλμπερτ Ζεντ Γκιόργκι και αναγνωρίστηκε ως παράγοντας θεραπείας του σκορβούτου το 1932. Η νόσος της ανεπάρκειας της βιταμίνης C, το σκορβούτο, είναι γνωστό εδώ και πολλούς αιώνες και έχει περιγραφεί στον αιγυπτιακό ιατρικό πάπυρο του Έμπερς το 1500π.Χ., καθώς και από τον Ιπποκράτη. Ότι το σκορβούτο οφείλεται στη διατροφική ανεπάρκεια, έγινε με τη διεξαγωγή της πρώτης κλινικής δοκιμής το 1757, όταν ο Σκωτσέζος ιατρός James Lind της ναυτικής υγιεινής του Βασιλικού Ναυτικού έδειξε ότι ο χυμός του πορτοκαλιού και του λεμονιού ασκούσαν προστατευτική δράση. (Gibney, et all, 2007)

Η βιταμίνη C είναι μια λευκή, άοσμη κρυσταλλική σκόνη, ιδιαίτερα ανθεκτική στην ξηρασία του περιβάλλοντος. Σε διαλύματα αυτό είναι πιο ασταθές σε σύγκριση με όλες τις άλλες βιταμίνες. Η μεγάλη διαλυτότητα της στο νερό έχει ως αποτέλεσμα να χάνεται ένα μεγάλο ποσοστό κατά το πλύσιμο των κομμένων φρούτων και λαχανικών. Η καταστροφή της επιταχύνεται με τον αέρα, τη θερμότητα, το φως, τα αλκάλια, τα οξειδωτικά ένζυμα και από ίχνη χαλκού και σιδήρου. Επίσης σημαντικές απώλειες παρατηρούνται κατά το βρασμό, ιδιαίτερα σε αλκαλικό pH, ενώ η καταστροφή της βιταμίνης ελαχιστοποιείται σε όξινο περιβάλλον, με τοποθέτηση των τροφών στο ψυγείο και με προφύλαξη τους στον αέρα. (Μπόσκου, 2004 & Παπανικολάου, 2009)

1.4.2. Δομή βιταμίνη C

Η βιταμίνη C είναι μια ένωση σχετικά απλής δομής (Σχήμα 1.2.) που μοιάζει με τη σύνθεση των μονοσακχαριτών, καλείται επίσης ασκορβικό οξύ ή αφυδροασκορβικό οξύ ή εξουρανικό οξύ ή και αντισκορβουτική βιταμίνη. Συντίθεται από τη γλυκόζη ή άλλα απλά σάκχαρα στα φυτά και στα περισσότερα είδη ζώων (Παπανικολάου, 2009 & Doenecke et al, 2012)



Σχήμα 1.2.: Δομή της βιταμίνης C

Τα περισσότερα είδη ζώων είναι σε θέση να συνθέσουν το ασκορβικό οξύ από γλυκόζη και έτσι να καλύπτουν τις ανάγκες τους μέσω της δικής τους σύνθεσης. Εξαιρέση αποτελούν ο άνθρωπος και κάποια ελάχιστα είδη ζώων, όπως τα ανθρωποειδή, τα ινδικά χοιρίδια, οι νυχτερίδες, ορισμένα πουλιά και τα

περισσότερα ψάρια, τα οποία επειδή δεν διαθέτουν το ένζυμο, οξειδάση L-γουλονολακτόνη δεν μπορούν να συνθέσουν το ασκορβικό οξύ. Για τον λόγο αυτό η βιταμίνη είναι απαραίτητη για αυτούς και πρέπει να λαμβάνεται με τη διατροφή.

Το ασκορβικό οξύ ανήκει στα βιοχημικά οξειδοαναγωγικά συστήματα και μπορεί να μετατραπεί σε δεϋδροασκορβικό οξύ. (Doenecke et al, 2012) Όταν το L-ασκορβικό οξύ οξειδωθεί προς δεϋδροασκορβικό οξύ, παράγεται το εξαιρετικά δραστικό ενδιάμεσο, ημιδεϋδρο-L-ασκορβικό οξύ. Αυτές οι τρεις μορφές της βιταμίνης C αντιπροσωπεύουν ένα αναστρέψιμο οξειδοαναγωγικό σύστημα. (Biesalski, and Grimm, 2008)

Η οξειδωμένη μορφή του ασκορβικού οξέος το δεϋδροασκορβικό οξύ, χάνει τη βιταμινική του δράση, όμως μέσα στον οργανισμό ανάγεται και ανακτά τη βιταμινική του δράση. (Κεφαλάς, 2010)

1.4.3. Λειτουργίες βιταμίνης C

Οι βιοχημικές λειτουργίες της βιταμίνης C στις οποίες συμμετέχει αναλύονται παρακάτω:

1) Σχηματισμός κολλαγόνου

Το κολλαγόνο η ουσία που συνδέει τα κύτταρα του σώματος μεταξύ τους, είναι το σπουδαιότερο ποσοτικά στοιχείο του συνδετικού ιστού και αποτελεί το ένα τρίτο περίπου της συνολικής πρωτεϊνικής μάζας του ανθρώπου. Ο ρόλος της δράσης της βιταμίνης C είναι από τους πλέον αποδεδειγμένους στη σύνθεση και τη διατήρηση της ακεραιότητας του.

Το κολλαγόνο είναι μια πρωτεΐνη ινώδης που περιέχει μεγάλες ποσότητες των αμινοξέων προλίνης και υδροξυπρολίνης. Η βιταμίνη C ενεργοποιεί το ένζυμο προλυλο-υδροξυλάση, με αποτέλεσμα η προλίνη να μετατρέπεται σε υδροξυπρολίνη. Επίσης, χρησιμεύει για μετατροπή της λυσίνης σε υδρολυσίνη, που είναι απαραίτητο για τη σύνθεση του κολλαγόνου. (Παπανικολάου, 2009)

Η ανεπάρκεια του συστήματος σύνθεσης –σχηματισμός κολλαγόνου έχει ως αποτέλεσμα την καθυστέρηση επούλωσης πληγών και εγκαυμάτων. Για αυτό η χορήγηση της βιταμίνης C επιταχύνει την επούλωση παρόμοιων βλαβών. (Παπανικολάου, 2009 & Doenecke et al, 2012)

2) Μεταβολισμός της τυροσίνης και της τρυπτοφάνης

Η βιταμίνη C προστατεύει το ένζυμο οξειδάση-υδροξυφαινυλ-πυροσταφιλικό οξύ και ενισχύει τη σύνθεση της νοραδρεναλίνης, ενός νευροδιαβιβαστή που προέρχεται από την τυροσίνη. Επίσης η βιταμίνη C απαιτείται για τη μετατροπή της τρυπτοφάνης σε 5-υδροξυτρυπτοφάνη, το πρώτο στάδιο του σχηματισμού της σεροτονίνης, μιας ένωσης που αυξάνει την αρτηριακή πίεση εξαιτίας της αγγειοσυσπαστικής της επίδρασης

3) Χρησιμοποίηση σιδήρου

Η βιταμίνη C αυξάνει την απορρόφηση του σιδήρου με τη μετατροπή του δισθενούς σιδήρου (Fe^{+2}) σε τρισθενή (Fe^{+3}), που απορροφάται ευκολότερα. Το ασκορβικό οξύ στον εντερικό αυλό κατακρατεί σίδηρο στην ανηγμένη του μορφή σχηματίζοντας χηλική ένωση, αυξάνοντας έτσι την ποσότητα που απορροφάται. Η πρόσληψη 25mg βιταμίνης C μαζί με ένα γεύμα αυξάνει την απορρόφηση του σιδήρου κατά περίπου 65%. Επίσης θεωρείται απαραίτητη για τη φυσιολογική λειτουργία της τρανσφερίνης. (Gibney, et all, 2007 & Παπανικολάου, 2009)

4) Μεταβολισμός των λιπών και των λιπιδίων

Η δράση της βιταμίνης C είναι:

α) Λιπάση του λιπώδους ιστού: Η βιταμίνη C προσφέρεται ως συνένζυμο το οποίο κινητοποιεί τα ελεύθερα λιπαρά οξέα από το λιπώδη ιστό στην περιφέρεια για την αντιμετώπιση των ενεργειακών αναγκών του οργανισμού.

β) Χοληστερίνη: Τα επίπεδα της χοληστερίνης στο ήπαρ και στον ορό του αίματος φαίνεται να αυξάνονται σε ανεπάρκεια της βιταμίνης C και να μειώνονται σε χορήγησή της.

γ) Θειική χοληστερίνη: Πιστεύεται ότι ο θειικός μεταβολίτης της βιταμίνης C, το θειικό ασκορβικό οξύ, πιθανόν να σχηματίζει τη θειική χοληστερίνη μια ένωση υδατοδιαλυτή που εύκολα αποβάλλεται με τα ούρα, με αποτέλεσμα να μειώνονται τα επίπεδα της χοληστερίνης στο αίμα.

- Αντιοξειδωτική δράση

Η βιταμίνη C είναι ένα ιδιαίτερα αντιοξειδωτικό μέσο για την προφύλαξη των βιταμινών A και E και των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων από οξείδωση.

- Στήριξη των δοντιών και των οστών

Η βιταμίνη C απαιτείται για τη φυσιολογική ανάπτυξη των οδοντοβλαστών, μια στιβάδα κυττάρων που σχηματίζει την οδοντίνη ουσία των δοντιών. Επίσης απαιτείται για την σωστή εναπόθεση αλάτων και την ισχυροποίηση των οστών.

- Ισχυροποίηση των τοιχωμάτων των τριχοειδών και αιμοφόρων αγγείων

Η βιταμίνη C είναι απαραίτητη για την ενδυνάμωση των τοιχωμάτων των αιμοφόρων αγγείων, ιδιαίτερα των τριχοειδών. Η ανεπάρκεια της προκαλεί εξασθένιση και μείωση της ελαστικότητας τους που τελικά οδηγούν σε ρήξεις και δημιουργία αιμορραγικών εστιών.

- Μεταβολισμός του φυλλικού οξέος

Η βιταμίνη C απαιτείται για την μετατροπή της ανενεργούς μορφής της βιταμίνης που είναι το φυλλικό οξύ σε ενεργό μορφή που είναι το φυλλινικό οξύ. Σε ανεπάρκεια της βιταμίνης C ο μεταβολισμός του φυλλικού οξέος μειώνεται, με αποτέλεσμα να προκαλείται μεγαλοβλαστική αναιμία του σκορβούτου.

- Σύνθεση ή απελευθέρωση στεροειδών ορμονών

Έχει παρατηρηθεί ότι: α) υψηλές ποσότητες βιταμίνης C υπάρχουν φυσιολογικά στα επινεφρίδια και β) υπάρχουν αυξημένες απαιτήσεις σε καταστάσεις stress, όπως χαμηλές θερμοκρασίες περιβάλλοντος, σε εγκαύματα, σε χειρουργικές επεμβάσεις, κατά το κάπνισμα κ.λ.π.

- Προφύλαξη από λοιμώξεις και πυρετό

Κατά τη διάρκεια λοιμώξεων και πυρετού παρατηρούνται χαμηλά επίπεδα βιταμίνης C στο αίμα και στους ιστούς. Για μεγαλύτερη προφύλαξη θα πρέπει να αυξάνεται η πρόσληψή της.

- Φαγοκυτταρική δραστηριότητα και σχηματισμός αντισωμάτων

Γενικά η βιταμίνη C εμφανίζει ιδιαίτερα διεγερτική επίδραση στις παραπάνω λειτουργίες του οργανισμού.

- Μείωση των απαιτήσεων ορισμένων βιταμινών

Επειδή εμφανίζει μάλλον παρόμοια επίδραση μειώνει τις απαιτήσεις της θειαμίνης, της ριβοφλαβίνης, του παντοθενικού οξέος, του φυλλικού οξέος, της βιταμίνης A και της βιταμίνης E στον άνθρωπο.

- Καρκίνος

Παρόλο που πολλά ελέχθησαν για τη σχέση της βιταμίνης C και του καρκίνου, σχετικά με τις πιθανές θεραπευτικές του ιδιότητες μέχρι στιγμής δεν υπάρχουν σαφείς ενδείξεις της υπεροχής της συγκριτικά με τα κλασικά θεραπευτικά μέσα.

- Απομάκρυνση της αμμωνίας στην απαμίνωση αμινοξέων και πεπτιδίων

Η βιταμίνη C φαίνεται να επιταχύνει την απαμίνωση των αμινοξέων και πεπτιδίων και τη μετατροπή της αμμωνίας σε ουρία, ώστε να μην αποβάλλεται γρήγορα, γιατί η διεργασία της επιβραδυνόμενης αποβολής της συνδέεται με το γήρας.

- Αντιισταμινική δράση

Η βιταμίνη C έχει αντιισταμινική δράση και χρησιμοποιείται για ασθένειες τύπου αλλεργικής αντίδρασης, όπως η ισταμίνη.

- Αποτοξινωτική επίδραση

Η βιταμίνη C φαίνεται ότι εμπλέκεται σε ομάδα βιοχημικών αντιδράσεων, που στόχο έχουν την αποτοξίνωση του οργανισμού από την επίδραση τοξικών ουσιών και φαρμάκων (Παπανικολάου, 2009)

- Αναστολή του σχηματισμού των νιτροζαμινών

Η ασφάλεια των νιτρικών αλάτων και των νιτρωδών αλάτων τα οποία χρησιμοποιούνται παραδοσιακά για τη συντήρηση των κρεάτων, έχει αμφισβητηθεί λόγω του σχηματισμού νιτροζαμινών από την αντίδραση μεταξύ των νιτρωδών αλάτων και των αμινών που απαντώνται φυσιολογικά στις τροφές υπό όξινες συνθήκες που υπάρχουν στο στομάχι. Το ασκορβικό οξύ έχει τη δυνατότητα να αναστέλλει τον σχηματισμό των νιτροζαμινών αντιδρώντας μη-ενζυμικά με τα νιτρώδη άλατα και άλλα νιτριπιοιά αντιδραστήρια, σχηματίζοντας NO, NO₂ και N₂. Η αντίδραση αυτή πραγματοποιείται όταν το ασκορβικό οξύ βρίσκεται στο στομάχι την ίδια στιγμή με τα νιτρώδη άλατα και τις αμίνες της διατροφής, χωρίς να παίζουν ρόλο τα επίπεδα της βιταμίνης C στον οργανισμό. (Gibney et al, 2007)

1.4.4. Απορρόφηση του ασκορβικού οξέος

Η απορρόφηση του ασκορβικού οξέος ξεκινά από το στοματικό βλεννογόνο αλλά το μεγαλύτερο μέρος της απορροφάται στο εγγύς λεπτό έντερο. Κατόπιν οδηγείται στα διάφορα όργανα. Το 80-95% της συνήθους πρόσληψης του ασκορβικού οξέος της δίαιτας απορροφάται (έως 100mg/ημέρα). Η απορρόφηση μεγαλύτερων ποσοτήτων της βιταμίνης είναι μικρότερη και η ποσότητα από τις μεγαλύτερες δόσεις ασκορβικού οξέος που δεν απορροφάται, αποτελεί υπόστρωμα για τον μεταβολισμό των εντερικών βακτηριδίων προκαλώντας δυσφορία και διάρροια. Στο πλάσμα τα τρία τέταρτα περίπου απαντώνται ως ελεύθερο ασκορβικό οξύ με το υπόλοιπο ένα τέταρτο να είναι ενωμένο με πρωτεΐνες. Η βέλτιστη συγκέντρωση του L-ασκορβικού οξέος στο πλάσμα εκτιμάται πως είναι 1 mg/l τα κλασικά συμπτώματα ανεπάρκειας στα 0,2 mg/l περίπου. (Gibney, et all 2007 & Biesalski, and Grimm, 2008)

1.4.5. Απέκκριση ασκορβικού οξέος

Η ικανότητα του οργανισμού να μεταβολίζει τη βιταμίνη C σε πρόσληψη πάνω από 100mg παρουσιάζει κορεσμό και έτσι οποιαδήποτε περαιτέρω πρόσληψη απεκκρίνεται με τα ούρα. Τόσο το ασκορβικό οξύ όσο και το δεϋδροασκορβικό οξύ διηθούνται στα σπειραματικά σωληνάρια και κατόπιν επαννοροφώνται. Στη περίπτωση που η σπειραματική διήθηση του ασκορβικού και του δεϋδροασκορβικού οξέος υπερβαίνει της ικανότητας των συστημάτων μεταφοράς, σε συγκεντρώσεις πλάσματος μεταξύ 70 και 85 $\mu\text{mol/l}$ η βιταμίνη απεκκρίνεται με τα ούρα. Σε ποσότητες ανάλογες με την πρόσληψη. (Gibney, et all, 2007)

1.4.6. Πηγές βιταμίνη C

Το ασκορβικό οξύ είναι πανταχού παρόν στη φύση, αφού το συνθέτουν τα φυτά, καθώς και σε πολλά από τα ζώα, με τα οποία τρέφεται ο άνθρωπος. (Biesalski, and Grimm, 2008) Οι τροφές ανάλογα με την περιεκτικότητά τους διακρίνονται σε:

Πολύ καλές πηγές: Πορτοκάλια, γκρέιπ-φρουτ, λεμόνια, πιπεριές σέλινο.

Καλές πηγές: Πράσινα φυλλώδη λαχανικά, μπρόκολο, λάχανο, κουνουπίδι, σπανάκι, ντομάτα, ντοματοχυμός (αντίθετα με ότι πιστεύεται ο χυμός περιέχει το 1/3 της βιταμίνης C της ντομάτας ή του φρούτου).

Φτωχές πηγές: Μήλο, σπαράγγια, μπανάνα, μούρα, κεράσια, συκώτι, ροδάκινα, αχλάδια, γλυκοπατάτες.

Πολύ φτωχές πηγές: Δημητριακά και τα προϊόντα τους, γάλα αγελάδας, αυγό, λίπος, ψάρι, κρέας, ξηροί καρποί, πουλερικά, ζάχαρη. Το μητρικό γάλα περιέχει 4-6 φορές περισσότερη βιταμίνη C. (Παπανικολάου, 2009)

1.4.7. Απαιτήσεις σε ασκορβικό οξύ

Οι ανάγκες του ανθρώπου σε ασκορβικό οξύ είναι μεγαλύτερες συγκριτικά με τις άλλες βιταμίνες. Ωστόσο, σήμερα η έλλειψη σε ασκορβικό οξύ είναι σπάνια, διότι προστίθεται σε πολλά τρόφιμα συνθετικό ασκορβικό οξύ. (Doenecke et al, 2012)

Καθημερινά ένας ενήλικος άνδρας χρειάζεται 90mg βιταμίνης C, ενώ μία ενήλικη γυναίκα 75mg. Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και του θηλασμού οι απαιτήσεις αυξάνονται, έτσι μια ενήλικη γυναίκα θα χρειαστεί 85mg βιταμίνης C στη διάρκεια της εγκυμοσύνης της, ενώ στο θηλασμό θα χρειαστεί 120mg. Οι ανάγκες στους καπνιστές αυξάνονται στα 100mg/ημέρα. (Παπαγεωργίου, 2005)

Η βιταμίνη C, είναι απαραίτητο να προσλαμβάνεται μέσω της διατροφής, καθώς δεν συντίθεται στον ανθρώπινο οργανισμό. Από την έλλειψη της μπορεί να προκληθεί στον ενήλικα το σκορβούτο (Κατσίκας, 2004), και η νόσος των Moeller-Barlow (Doenecke et al, 2012) η οποία εμφανίζεται σε παιδιά μετά τον έκτο μήνα της ζωής, όταν έχουν εξαντληθεί τα αποθέματα βιταμίνης C που έχουν μεταφερθεί από την μητέρα. Ωστόσο η αιτία της έλλειψης βιταμίνης C μπορεί να είναι μια άκρως μονόπλευρη διατροφή με πλήρη απουσία από αυτήν φρέσκων τροφών ή η μειωμένη απορρόφηση σε σύνδρομο δυσαπορρόφησης και γαστρεντερικές νόσους. Οι συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη της βιταμίνης C αναφέρεται στον πίνακα 1.4.

Πίνακας 1.4.: Τιμές αναφοράς διαιτητικής πρόσληψης θρεπτικών συστατικών των ΗΠΑ και του Καναδά για την βιταμίνης C (Μανιός, 2006)

Συνιστώμενη Ημερήσια Πρόσληψη της βιταμίνης C		
Βιταμίνη C	Ηλικία	RDA (mg/day)
	0-6 μηνών	40
	7-12 μηνών	50
	1-3 ετών	15
	4-6 ετών	25
	Άνδρες	
	9-13 ετών	45
	14-18 ετών	75
	19-30 ετών	90
	31-50 ετών	90

	51-70 ετών	90
	>70 ετών	90
Γυναίκες		
	9-13 ετών	45
	14-18 ετών	65
	19-30 ετών	75
	31-50 ετών	75
	51-70 ετών	75
	>70 ετών	75
Εγκυμοσύνη		
	<18 ετών	80
	19-30 ετών	85
	31-50 ετών	85
Θηλασμός		
	<18 ετών	115
	19-30 ετών	120
	31-50 ετών	120

1.4.8. Δράση και εφαρμογές του ασκορβικού οξέος στην τεχνολογία τροφίμων

Το ασκορβικό οξύ, εξαιτίας της οξειδοαναγωγικής του ικανότητας, βρίσκει εφαρμογή σε πολλές βιομηχανίες τροφίμων. Είναι το πιο διαδεδομένο φυσικό υδατοδιαλυτό αντιοξειδωτικό, από αυτά που απαντώνται στα τρόφιμα. Η μισή περίπου από τη συνθετική παραγωγή του, χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τροφίμων, από την οποία ένα μικρό ποσοστό ως συστατικό διατροφής, ενώ το υπόλοιπο καταναλίσκεται ως τεχνολογικά βοηθητικό προϊόν (δραστικό αντιοξειδωτικό). (Φουρτουνόπουλος, 2004)

Οι σημαντικότεροι τομείς της τεχνολογίας τροφίμων, όπου έχει καθιερωθεί να χρησιμοποιείται το ασκορβικό οξύ για την θετική του δράση είναι:

- Στην παρασκευή χυμών φρούτων και ποτών, όπου δρα ως αντιοξειδωτικό για την προφύλαξη του αρώματός τους. Επίσης έχει προστατευτική δράση από την ενζυμική αμαύρωση. Ακόμη χρησιμοποιείται ως συστατικό της διατροφής. (Βαφοπούλου-Μαστρογιαννάκη, 2003 & Φουρτουνόπουλος, 2004)

- Στην αρτοποιία, όπου δρα ως αβλαβές βελτιωτικό της ποιότητας του αλεύρου. Είναι μέσο δημιουργίας ελαστικής ζύμης, καθώς ασκεί προστασία της οξειδωσης των σουλφυδρυλομάδων της γλουτένης.

- Στο κρέας/κρεατοσκευάσματα, όπου δρα ως μέσο προστασίας του χρώματος και επιτάχυνσης του κοκκινίσματος. Επιπλέον καθυστερεί ή αναστέλλει τον σχηματισμό των N-νιτροδοαμινών και άλλων ανεπιθύμητων N-νιτροδοαιθυλαμινών.

- Στην μπίρα δρα ως σταθεροποιητής και ως προστατευτική ουσία.

Η ζήτησή του για τεχνολογικούς σκοπούς αυξάνει συνεχώς, αφού στα τρόφιμα μπορεί να δρα αποτελεσματικά, με την προσθήκη του ως καθαρής και ακίνδυνης ουσίας. Για να διαφυλαχθεί η θετική δράση του ασκορβικού οξέος, κατά τη προσθήκη του ως προστατευτική ουσία, στα διάφορα βιομηχανοποιημένα τρόφιμα λαμβάνεται μια σειρά αυστηρών μέτρων, καθώς αν η εφαρμοσμένη επεξεργασία ή συντήρηση είναι ακατάλληλες ή υφίστανται στα τρόφιμα υψηλές συγκεντρώσεις καταλυτών με προοξειδωτική δράση, τότε το ασκορβικό οξύ αντί να δράση αντιοξειδωτικά, δρα ως επιταχυντής της οξειδωσης. (Φουρτουνόπουλος, 2004)

Το ασκορβικό οξύ των τροφίμων καταστρέφεται εύκολα με οξείδωση και έτσι διάφοροι χυμοί φρούτων και τεμαχισμένα λαχανικά και φρούτα, τα οποία εκτίθενται στον ατμοσφαιρικό αέρα, παρουσιάζουν μειωμένη περιεκτικότητα στη βιταμίνη C. Επίσης απώλειες μέχρι 75% παρουσιάζονται κατά το μαγείρεμα, οι οποίες οφείλονται στην οξείδωση και την εκχύλιση της βιταμίνης στο νερό. Η οξείδωση του ασκορβικού οξέος, οφείλεται στη δράση της οξειδάσης του ασκορβικού οξέος. Οποιαδήποτε κατεργασία καταστρέφει το ένζυμο αυτό, προφυλάσσει τη βιταμίνη από την οξείδωση, π.χ. θέρμανση του τροφίμου πάνω από 85 °C. Η έλλειψη οξυγόνου βοηθάει σ' αυτό. Κατά το μαγείρεμα συνίσταται η χρησιμοποίηση, όσο το δυνατό μικρότερης ποσότητας νερού, ώστε να διαλύονται σ' αυτό μεγάλες ποσότητες της βιταμίνης. (Βαφοπούλου-Μαστρογιαννάκη, 2003)

2.5. Θειώδη

2.5.1. Γενικά

Τα θειώδη άλατα και γενικά τα θειώδη είναι ισχυρά αναγωγικές ουσίες, γιατί οξειδώνονται πολύ εύκολα ακόμη και από το ατμοσφαιρικό οξυγόνο. Χρησιμοποιούνται πολύ ως συντηρητικά τροφίμων και ποτών. Αυτά που χρησιμοποιούνται πιο συχνά, είναι το όξινο θειώδες νάτριο (NaHSO_3), το θειώδες νάτριο (Na_2SO_3) και πολύ σπάνια το θειώδες ασβέστιο (CaSO_3). Το στοιχείο θείο (S) είναι μη-μεταλλικό στοιχείο πολύ διαδεδομένο στη φύση. Παρουσιάζεται με κρυσταλλική μορφή και με άμορφη. Σε θερμοκρασία δωματίου το θείο είναι ένα μαλακό στερεό με έντονο κίτρινο χρώμα. (Εικόνα 1.5.) Ως στοιχείο έχει ανίσχυρη οσμή, παρόμοια με αυτή των σπίρτων. Η οσμή που



Εικόνα 1.5. :Κρυσταλλικό θείο

είναι συσχετισμένη με τα σάπια αυγά οφείλεται στο υδρόθειο (H_2S) και σε οργανικές ενώσεις του θείου και όχι στο θείο σαν στοιχείο.

Όταν καίγεται δημιουργεί μπλε φλόγα και εκπέμπει διοξείδιο του θείου, γνωστό για την περίεργή του οσμή του. Το θείο λόγω του μεγάλου μεγέθους του, της διάχυσης των τροχιακών του και της σχετικά μικρότερης πόλωσης του δεσμού S-H δεν συμμετέχει πολύ αποτελεσματικά σε δεσμούς υδρογόνου. Δεν διαλύεται στο νερό, αλλά διαλύεται στον διθειάνθρακα CS_2 και σε μικρότερο ποσοστό σε άλλες μη πολικές οργανικές ενώσεις όπως το βενζόλιο (C_6H_6) και το τολουόλιο ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$). (Vollhardt & Schore 2012)

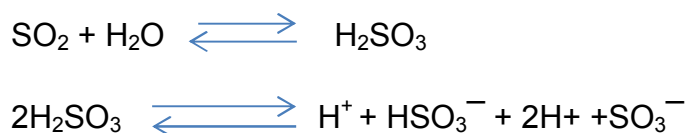
Το θείο ήταν γνωστό στον άνθρωπο από την αρχαιότητα, χωρίς βέβαια να έχει συνείδηση του στοιχειακού του χαρακτήρα, ενώ σύμφωνα με την αλχημιστική αντίληψη των «*tria prima*», αποτελούσε μαζί με το αλάτι και τον υδράργυρο, ένα από τα βασικά στοιχεία του σύμπαντος.

Ο Πέρσης Τζαμπέρ Ιμπν Χαγιάν (Jaber Ibn Hayan), γνωστός στην Ευρώπη ως Geber που θεωρείται ο πατέρας της Αλχημείας, εισήγαγε τη μεθοδική και πειραματική προσέγγιση μιας αλχημιστικής έρευνας, όπου πραγματοποιούνταν σε ένα εργαστήριο και θεωρούσε ότι όλα τα μέταλλα, αποτελούνταν από υδράργυρο και θείο και ότι ο υδράργυρος καθόριζε τη μεταλλικότητά τους και το θείο την αναφλεξιμότητά τους.

2.5.2. Δράση και εφαρμογές θειωδών στην τεχνολογία τροφίμων

Το διοξείδιο του θείου στην τεχνολογία τροφίμων κατέχει μια εξέχουσα θέση στο σύνολο των συντηρητικών ουσιών καθώς η δρα ως αντιμικροβιακό και ως αντιοξειδωτικό. Στην παραγωγή των φρουτοχυμών συνήθως προστίθεται με τις μορφές: θειώδες νάτριο (Na_2SO_3), θειικό νάτριο (NaSO_4), όξινο θειώδες νάτριο (NaHSO_3), μεταδιθειώδες νάτριο ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) σε επίπεδα 200ppm ή και λιγότερο. (Belitz, et al., 2011)

Το διοξείδιο του θείου και τα άλατά του χρησιμοποιούνται με τη μορφή αερίου (SO_2) ή σε μορφή υδατικών διαλυμάτων (θειώδη άλατα). Σε υδατικό περιβάλλον δίδεται ως εξής: (Μπόσκου, 2004)



Έχουν πολλές εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων, γιατί θεωρούνται αβλαβή και χρησιμοποιούνται ως παράγοντες συντήρησης για να καλυφθούν μούχλες μύκητες και βακτήρια. Εφαρμόζονται στην παραγωγή φρουτοχυμών, αφυδατωμένων φρούτων και λαχανικών, σιροπιών, συμπυκνωμάτων ή πολτών.

(Belitz, et al., 2011) Επιπλέον χρησιμοποιείται σε θαλασσινά στις πράσινες σαλάτες, σε πατάτες τσιπς και θαλασσινά που σερβίρονται σε εστιατόρια. (Γαλανοπούλου κ.ά., 2007)

Η αντιμικροβιακή του δράση χρησιμοποιείται για τη παρεμπόδιση της ανάπτυξης των μικροοργανισμών, με κύριο σκοπό την επιμήκυνση της διάρκειας ζωής του προϊόντος. (Belitz, et al., 2011) Κατέχει μια εξέχουσα θέση στο σύνολο των συντηρητικών ουσιών, γιατί δράση του διοξειδίου του θείου είναι συγχρόνως και αντιοξειδωτική, δηλαδή παρεμποδίζει τη δράση των ενζύμων και παράλληλα δρα αναγωγικά. (Φουρτουνόπουλος, 2004)

Το SO₂ όχι μόνο είναι αντιμικροβιακά ενεργό, αλλά παρεμποδίζει και τον αποχρωματισμό εμποδίζοντας τις ενώσεις με ενεργή καρβονυλική ομάδα (αντίδραση Maillard, μη ενζυμικό μαύρισμα) ή εμποδίζοντας την οξειδωση των φαινολών από φαινολοξειδάσες (ενζυμικό μαύρισμα). (Belitz, et al., 2011)

Στα κρασιά και στη μπίρα το διοξείδιο του θείου (SO₂) και τα άλλα θειώδη βρίσκουν εφαρμογή ως αντιμικροβιακοί παράγοντες. Χρησιμοποιείται εδώ και εκατοντάδες χρόνια για τον έλεγχο των μικροοργανισμών στα κρασιά. Κατά την παρασκευή κρασιού η θείωση ξεκινά αμέσως από τα πρώτα στάδια επεξεργασίας του σταφυλιού, με σκοπό την διατήρηση των συστατικών που είναι ευαίσθητα στην οξειδωση, την παρεμπόδιση της ενζυμικής αμάρωσης μέσω της οξειδωσης των φαινολών και την καταστολή της ανάπτυξης των ανεπιθύμητων μικροοργανισμών, όπως βακτήρια οξικού οξέος, άγριες ζύμες και μύκητες. (Belitz, et al., 2011)

Στα αφυδατωμένα τρόφιμα χρησιμοποιούνται για να τα προστατέψουν από την ενζυμική και μη ενζυμική αμάρωση. Κάθε βλάβη των φυτικών ιστών (τραυματισμός, θέρμανση κτλ.), μπορεί να προκαλέσει δραστηριοποίηση της οξειδάσης της πολυφαινολάσης. Το διοξείδιο του θείου και τα θειώδη άλατα, συνήθως το θειώδες και το υποθειώδες, είναι ισχυροί αναστολείς της πολυφαινολάσης. Παρεμποδίζουν και τα δύο είδη αμάρωσης την ενζυμική και τη μη ενζυμική αμάρωση.

Στα πλεονεκτήματά τους αναφέρονται οι αντισηπτικές ιδιότητες που διαθέτουν, η προστασία που παρέχουν στη βιταμίνη C, η εύκολη χρησιμοποίηση και το χαμηλό κόστος, ενώ στα μειονεκτήματά τους, η ανεπιθύμητη γεύση και οσμή σε συγκεντρώσεις 0,01M, η επικάλυψη του φυσικού χρώματος των τροφίμων, η τοξικότητα που παρουσιάζει σε μεγάλες συγκεντρώσεις, και η διάβρωση των δοχείων συσκευασίας. (Βαφοπούλου-Μαστρογιαννάκη, 2003)

Υπάρχει μια πληθώρα ποικιλία τροφίμων στα οποία προστίθεται το διοξείδιο του θείου όπως ημισυμπυκνωμένα ξηρά φρούτα γκλασσέ, φρούτα ζαχαρωτά και ζαχαρωτά κομμάτια φρούτων, σε είδη από λεμόνι και πορτοκάλι καθώς και τεμάχια λεμονιού και μήλων για την αρτοποιία και πολλά άλλα τρόφιμα. Η τοξικότητα του είναι αμελητέα στα συνήθη χρησιμοποιούμενα επίπεδα, όμως σε υψηλές συγκεντρώσεις παρουσιάζεται τοξικότητα. Σε κάθε τρόφιμο που προστίθεται ορίζεται μια επιτρεπτή ποσότητα ολικού θειώδους οξέως σε mgSO₂/kg σωματικού βάρους.) Ο παγκόσμιος οργανισμός υγείας (World Health Organization) από το 1986 έχει ορίσει 0,7mg/κιλό σωματικού βάρους ως μέγιστη ημερήσια δόση που πρέπει να λαμβάνει ο άνθρωπος από το σύνολο των τροφίμων και ποτών που καταναλώνει. (Φουρτουνόπουλος, 2004) Όμως οι διάφορες θειώδεις ενώσεις χρησιμοποιούνται ευρύτατα στη βιομηχανία τροφίμων και τα εστιατόρια ως απολυμαντικά δοχείων και σκευών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι θειώδεις ενώσεις να καταναλώνονται έμμεσα και να αυξάνεται η ποσότητα κατανάλωσής τους. (Γαλανοπούλου, κ.ά., 2007)

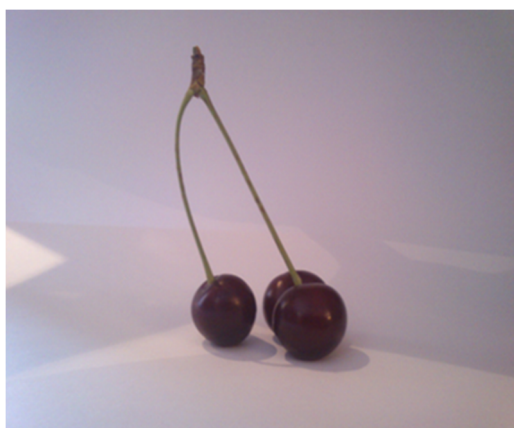
Γενικά το διοξείδιο του θείου και τα παράγωγά του μεταβολίζονται σε θειικά και αποβάλλονται με τα ούρα. Ένα πρόβλημα που μπορεί να δημιουργηθεί από τη χρήση του είναι η οξεία αλλεργική αντίδραση σε άτομα που πάσχουν από άσθμα. Στην φαρμακευτική και στην ιατρική χρησιμοποιείται για τη θεραπεία δερματικών παθήσεων. (Γαλανοπούλου, κ.ά., 2007)

Στις νομοθεσίες των διαφόρων χωρών υπάρχει ασυμφωνία, όσον αφορά τις επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις προσθήκης, ιδιαίτερα τις μέγιστες, που κυμαίνονται από 20 έως 2.000ppm είναι όμως σαφές, πως σε πολλά προϊόντα

είναι αδιαφιλονίκητη η αναγκαιότητα της τεχνολογικής χρήσης του ως αντιμικροβιακής ουσίας. Στα περισσότερα τρόφιμα η χρήση του έχει αντικατασταθεί από άλλα συντηρητικά ή από σύγχρονες τεχνικές επεξεργασίας. (Φουρτουνόπουλος, 2004)

1.6. Σκοπός

Ο σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH και ο προσδιορισμός του ολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin, σε χυμό βύσσινο εμπορίου, σε φρέσκο φυσικό χυμό βύσσινο καθώς και σε άλλα δύο δείγματα φυσικού χυμού όπου προστέθηκαν στο ένα ασκορβικό οξύ και στο άλλοθειώδη. Ακολούθησε ανάλυση και καταγραφή της μεταβολής των δειγμάτων κατά την αποθήκευσή τους σε ψύξη. Η αποθήκευση των χυμών έγινε σε οικιακό ψυγείο και οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε χρονική διάρκεια 12 ημερών.



2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Σκεύη και Όργανα

Τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν είναι:

- Οικιακός ηλεκτρικός αποχυμωτής
- Ζυγός ακριβείας
- Φυγόκεντρος
- Μαγνητικός αναδευτήρας Barnstead
- Συσκευή ανάδευσης Vortex
- Υδατόλουτρο
- Φασματοφωτόμετρο τύπου Thermo Spectronic Nicolet evolution 100

Τα σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν είναι:

- Ποτήρια ζέσεως των 30, 50, 100 και 200ml
- Ογκομετρικές φιάλες των 25, 50, 100, 500 και 1000ml
- Κωνικές φιάλες των 50 ml
- Σιφώνια μετρήσεως των 2, 5, 10ml
- Σιφώνια πληρώσεως των 5 και 10ml
- Γυάλινα φιαλίδια δειγμάτων
- Δοκιμαστικοί σωλήνες των 12ml
- Δοκιμαστικοί σωλήνες κατάλληλοι για φυγόκεντρο
- Πιπέτες των 100, 200, 1000 και 5000μl
- Ρύγχη
- Γυάλινοι αναδευτήρες
- Μαγνήτες ανάδευσης
- Γυάλινα χωνιά διήθησης
- Πλαστικές κυψελίδες
- Σπάτουλες

2.2. Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια της εργασίας είναι:

■ Μέθοδος Folin-Ciocalteu

- Διάλυμα Γαλικού οξέος (0,3 g στερεού Γαλλικού οξέος/1L)
- Πυκνό διάλυμα Folin που αραιώνεται 1:1 με αποσταγμένο νερό
- Διάλυμα Solution παρασκευασμένο από:
 - i. 1ml διαλύματος (A) : διάλυμα Θειϊκού Χαλκού 1%,
παρασκευασμένο από 5g στερεού $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ /50ml
 - ii. 1ml διαλύματος (B): διάλυμα τρυγικού K-Na 2%,
παρασκευασμένο από 1g στερεού $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ /50ml
 - iii. 98ml διαλύματος (Γ): διάλυμα Ανθρακικού Νατρίου,
παρασκευασμένο από 20g στερεού NaCO_3 και 4 g στερεού NaOH /1L

■ Μέθοδος DPPH

- Διάλυμα Trolox ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5\text{-CH}_2\text{OH}$), 50mg στερεού Trolox/0,5L)
- Διάλυμα πυκνού DPPH (19,3mg στερεού DPPH/0,1L μεθανόλης
- Μεθανόλη

Σε όλη τη πειραματική διαδικασία το νερό που χρησιμοποιήθηκε ήταν αποσταγμένο.

2.3. Δείγματα

Στην παρούσα εργασία παρασκευάστηκαν 4 διαφορετικά δείγματα, τα οποία ήταν:

1. Φυσικός Χυμός Βύσσινο
2. Φυσικός Χυμός Βύσσινο με προσθήκη βιταμίνης C
3. Φυσικός Χυμός Βύσσινο με προσθήκη θειωδών (SO_2)

4. Χυμός Βύσσινο Εμπορίου (HBH)

Πριν την Παρασκευή των Δειγμάτων παρασκευάστηκαν τα διαλύματα βιταμίνης C και θειωδών (SO₂) με τα οποία εμπλουτίστηκαν τα δείγματα 2 και 3 αντίστοιχα.

- Παρασκευή Διαλύματος Βιταμίνης C

Η μέση περιεκτικότητα του βύσσινου σε βιταμίνη C, είναι 6,2mg/100mL. Ζυγίστηκαν 0,2014g στερεής βιταμίνη C και διαλύθηκαν σε 10mL αποσταγμένο νερό σε δοκιμαστικό σωλήνα. Το διάλυμα που παρασκευάστηκε είναι πυκνό και έχει συγκέντρωση 20,14mg/mL

- Παρασκευή Διαλύματος θειωδών

Ζυγίστηκαν 9,84g στερεού Na₂SO₃ τα οποία διαλύθηκαν σε 100mL αποσταγμένο νερό σε ογκομετρική φιάλη. Το διάλυμα που παρασκευάστηκε είχε συγκέντρωση 50,7871gSO₂ /L

- Παρασκευή δείγματος 1-Φυσικός Χυμός Βύσσινο

Για την παρασκευή του φυσικού χυμού, αυθημερόν συλλέχτηκαν βύσσινια, τα οποία πλύθηκαν και αφαιρέθηκε ο ποδίσκος και το ενδοκάρπιο. (Εικόνα 2.1.) Στη συνέχεια ακολούθησε αποχύμωση με οικιακό ηλεκτρικό αποχυμωτή. Ο χυμός που προέκυψε φυγοκεντρήθηκε 2 φορές για 5 λεπτά στα 3000rpm. Από τον διαυγή χυμό που προέκυψε παραλήφθηκαν 50mL, τα οποία αποθηκεύτηκαν σε γυάλινο φιαλίδιο και τοποθετήθηκαν στη συντήρηση του ψυγείου.



Εικόνα 2.1. : Τα βύσσина που χρησιμοποιήθηκαν για την διεξαγωγή του πειράματος

- Παρασκευή δείγματος 2-Φυσικός Χυμός Βύσσινο εμπλουτισμένος με ασκορβικό οξύ

Από τον χυμό που φυγοκεντρήθηκε πάρθηκαν 50mL και τοποθετήθηκαν σε γυάλινο φιαλίδιο με πώμα. Προστέθηκε 1ml διαλύματος ασκορβικού οξέος και τοποθετήθηκε στη συντήρηση του ψυγείου.

- Παρασκευή δείγματος 3-Φυσικός Χυμός Βύσσινο εμπλουτισμένος με διάλυμα θειωδών

Από τον χυμό που φυγοκεντρήθηκε πάρθηκαν 50mL και τοποθετήθηκαν σε γυάλινο φιαλίδιο με πώμα. Προστέθηκαν 50μL διαλύματος θειωδών και πωματισμένο τοποθετήθηκε στη συντήρηση του ψυγείου.

- Παρασκευή δείγματος 4-Χυμός βύσσινο εμπορίου (Ήβη)

Για την παρασκευή του δείγματος, αγοράστηκε φυσικός χυμός εμπορίου, ελήφθησαν 50mL και τοποθετήθηκαν σε γυάλινο φιαλίδιο με πώμα. Το δείγμα τοποθετήθηκε στη συντήρηση του ψυγείου. Ο χυμός εμπορίου ήταν σε συσκευασία των 330mL της εταιρίας Ήβη η οποία ήταν σε άριστη κατάσταση και η ημερομηνία λήξης δεν είχε παρέλθει. Η διατροφική ετικέτα του χυμού φαίνεται στη **εικόνα 2.2**.



Εικόνα 2.2.: Διατροφική ετικέτα χυμού εμπορίου

Τα παραπάνω διαλύματα παρασκευάστηκαν την ίδια ημέρα δηλαδή ημέρα 0 και αποθηκεύτηκαν σε ίδιες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτός. Η φωτομέτρηση των δειγμάτων και στις δύο μεθόδους πραγματοποιήθηκαν τις ημέρες 0, 1, 2, 3, 4, 8 και 11.

2.4. . Μεθοδολογία

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η μέθοδος Folin-Ciocalteu και η μέθοδος DPPH.

2.4.1 Μέθοδος ποσοτικού προσδιορισμού φαινολικών ενώσεων Folin-Ciocalteu

Για την μέτρηση των φαινολικών συστατικών που περιέχονται στα εξεταζόμενα δείγματα χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Folin-Ciocalteu η οποία βασίζεται στην οξειδωση του συνόλου των φαινολικών ενώσεων σε αλκαλικό περιβάλλον από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Το αντιδραστήριο αυτό

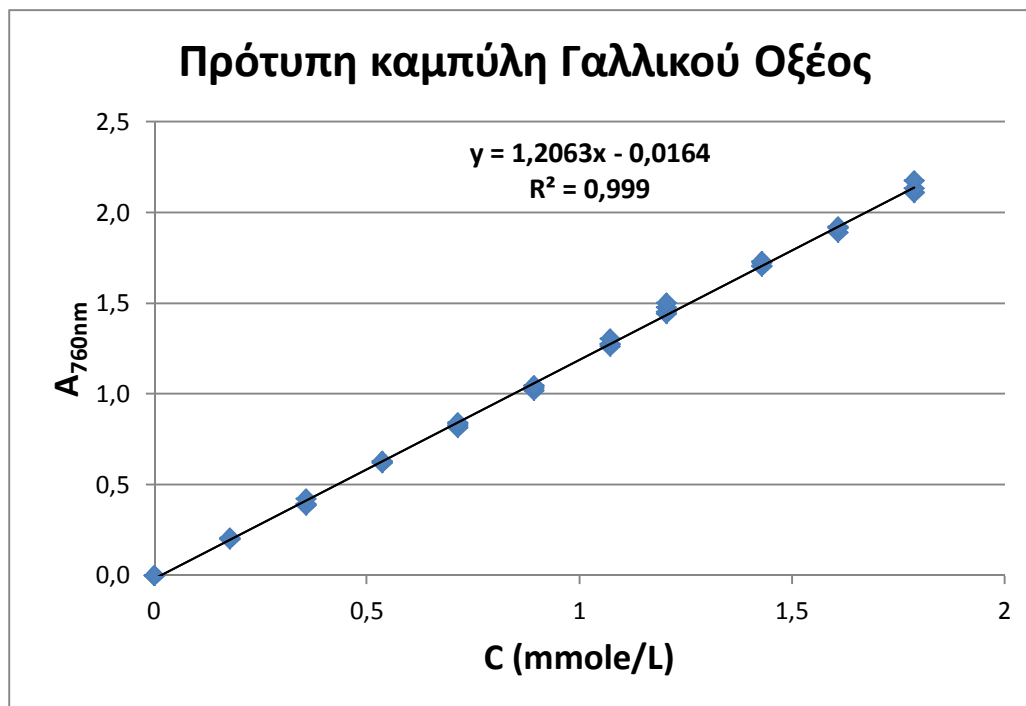
αποτελείται από ένα μίγμα φωσφοροβολφραϊμικού οξέος (H₃PW₁₂O₄₀), το οποίο ανάγεται κατά την οξειδωση των φαινολών, σε μίγμα κυανών οξειδίων του βολφραμίου (W₈O₂₃) και του μολυβδαινίου (Mo₈O₂₃). Το αντιδραστήριο είναι μη ειδικό στα φαινολικά συστατικά διότι μπορεί να αναχθεί από άλλα μη φαινολικά συστατικά όπως η βιταμίνη C και ο Cu. Τα φαινολικά συστατικά αντιδρούν μόνο υπό βασικές συνθήκες, για αυτό πραγματοποιείται ρύθμιση με διάλυμα ανθρακικού νατρίου σε pH 10. Το κυανό χρώμα που προκύπτει παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 750nm, και έτσι είναι ανάλογο της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών.

Οι φαινόλες που προσδιορίζονται με τη μέθοδο αυτή εκφράζονται σε ισοδύναμα Γαλλικού οξέος. Η επιλογή του Γαλλικού Οξέος ως πρότυπο βασίζεται στη διαθεσιμότητα μιας καθαρής και σταθερής ουσίας, και το Γαλλικό Οξύ τηρεί και τους δυο αυτούς παράγοντες και είναι σχετικά φθηνό.

2.4.1.1 Παρασκευή διαλύματος και πρότυπης καμπύλης Γαλλικού οξέος

Για την παρασκευή του πρότυπου διαλύματος Γαλλικού οξέος ζυγίστηκαν 0,3039g στερεού Γαλλικού οξέος στον ζυγό ακριβείας και μεταφέρθηκαν σε ποτήρι ζέσεως των 100mL με αποσταγμένο νερό, το οποίο βρισκόταν ήδη στον μαγνητικό αναδευτήρα. Προστέθηκαν επίσης μερικές σταγόνες NaOH για να διευκολυνθεί η διάλυσή του. Μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη του 1L και συμπληρώθηκε με νερό μέχρι την χαραγή.

Στη συνέχεια παρασκευάσαμε 10 διαλύματα σε δοκιμαστικούς σωλήνες, με 10 διαφορετικές συγκεντρώσεις Γαλλικού οξέος. Οι συγκεντρώσεις αυτών των διαλυμάτων ήταν 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0%, και επιτεύχθηκαν με διαδοχικές αραιώσεις του αρχικού διαλύματος. Στη συνέχεια ακολούθησε η πειραματική διαδικασία Folin-Ciocalteu. Μετρήθηκαν οι απορροφήσεις των πρότυπων διαλυμάτων στο φασματοφωτόμετρο στα 760nm, υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις των 10 διαλυμάτων και κατασκευάστηκε η πρότυπη καμπύλη Γαλλικού Οξέος. (Σχήμα 2.1.)



Σχήμα 2. 1 : Πρότυπη καμπύλη Γαλλικού οξέος που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του ολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων.

2.4.1.2 Αραιώσεις μετρούμενων δειγμάτων

Τα δείγματα υποβλήθηκαν σε αραιώσεις ώστε η συγκέντρωσή τους σε φαινολικές ενώσεις να βρίσκεται άνετα μέσα στα όρια της πρότυπης καμπύλης για να μπορεί να υπολογιστεί από αυτή. Έτσι ακολούθησαν δοκιμαστικές μετρήσεις με διαφορετικές συγκεντρώσεις των δειγμάτων και διαπιστώθηκε πως για την μέθοδο Folin-Ciocalteu, ο χυμός εμπορίου ΗΒΗ δεν χρειαζόταν αραιώση ενώ ο φυσικός χυμός βύσσινου, ο φυσικός χυμός βύσσινου με βιταμίνη C και ο φυσικός χυμός βύσσινου με θειώδη χρειάζονταν αραιώση 1:10 με αποσταγμένο νερό.

2.4.1.3 Πειραματική διαδικασία

Για την εφαρμογή της μεθόδου Folin-Ciocalteu χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια:

- Πυκνό διάλυμα Folin.

- Διαλυμα Solution το οποίο παρασκευάστηκε με την ανάμειξη τριών διαφορετικών διαλυμάτων (Α), (Β) και (Γ), σε ογκομετρική φιάλη των 100mL, χρησιμοποιώντας από το (Α) και το (Β) από 1mL ενώ για το διάλυμα (Γ) 98mL. Αναλυτικά τα διαλύματα παρασκευάστηκαν ως εξής:
 - Διάλυμα (Α) - Διάλυμα Θειϊκού Χαλκού:

Παρασκευάστηκε ζυγίζοντας 0,5041g στερεού ένυδρου θειϊκού χαλκού ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) σε ζυγό ακριβείας, τοποθετήθηκαν σε ποτήρι ζέσεως, αραιώθηκαν με λίγο αποσταγμένο νερό και μεταφέρθηκαν σε ογκομετρική φιάλη των 50mL και συμπληρώθηκε με αποσταγμένο νερό μέχρι την χαραγή.
 - Διάλυμα (Β) – Διάλυμα Τρυγικού Κ-Na:

Παρασκευάστηκε ζυγίζοντας 1,3406g στο ζυγό ακριβείας στερεό ένυδρο τρυγικό Κ-Na ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$), σε ποτήρι ζέσεως αραιώθηκαν με λίγο αποσταγμένο νερό και μεταφέρθηκαν σε ογκομετρική φιάλη των 50mL, που συμπληρώθηκε με αποσταγμένο νερό μέχρι την χαραγή.
 - Διάλυμα (Γ) – Διάλυμα Ανθρακικού Νατρίου και Καυστικού Νατρίου:

Παρασκευάστηκε ζυγίζοντας σε ποτήρια ζέσεως 20,0561g στερεού Na_2CO_3 και 3,9356g NaOH σε ζυγό ακριβείας, αραιώθηκαν με λίγο αποσταγμένο νερό και μεταφέρθηκαν σε ογκομετρική φιάλη 1L. Στην συνέχεια συμπληρώθηκε η φιάλη με αποσταγμένο νερό μέχρι την χαραγή.

Τα στάδια της πειραματικής διαδικασίας της μεθόδου Folin-Ciocalteu έχουν ως εξής:

1. Σε δοκιμαστικό σωλήνα έγινε προσθήκη 200μL δείγματος χυμού στην κατάλληλη αραιώση.
2. Προσθήκη 1mL αραιού διαλύματος Folin-Ciocalteu.
3. Ανάδευση και παραμονή 10' στο σκοτάδι.
4. Προσθήκη 800μL διαλύματος Solution.
5. Ανάδευση και τοποθέτηση στο υδατόλουτρο στους 50° C για 5'.
6. Ψύξη σε τρεχούμενο νερό.

7. Μέτρηση απορρόφησης στο φασματοφωτόμετρο στα 760nm.

Για την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν και τα τέσσερα δείγματα από τέσσερις φορές το καθένα ώστε να εξαλειφθούν τυχόν πειραματικά λάθη. Παρασκευάστηκαν δύο λευκά μεθόδου για τον μηδενισμό του φασματοφωτόμετρου καθώς και τέσσερα λευκά δείγματος όπου αντί για το αντιδραστήριο Folin προστέθηκε αποσταγμένο νερό, ώστε να βρεθεί όποια απορρόφηση υπάρχει η οποία δεν οφείλεται στο αντιδραστήριο Folin.

Τα αποτελέσματα των απορροφήσεων φαίνονται στον **πίνακα 6.1**. Αυτές οι τιμές απορροφήσεων μετατράπηκαν σε συγκεντρώσεις χρησιμοποιώντας την εξίσωση της πρότυπης καμπύλης Γαλλικού οξέος (**Σχήμα 2.1**), η οποία είναι:

$$y = 1,2063x - 0,0164$$

Τα αποτελέσματα βρίσκονται στον **πίνακα 6.2**. Και οι συγκεντρώσεις των ολικών φαινολικών στα αρχικά δείγματα βρίσκονται στον **πίνακα 6.3**. Οι συγκεντρώσεις είναι εκφρασμένες σε ισοδύναμα Γαλλικού Οξέος mmol/L.

2.4.2 Μέθοδος εκτίμησης αντιοξειδωτικής ικανότητας DPPH

Υπάρχουν αρκετές μέθοδοι προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής δράσης ουσιών (φυσικά προϊόντα φυτών, τροφίμων, βιταμίνες, κ.λπ.) στις αντιδράσεις με τις ελεύθερες ρίζες. Μία από τις πλέον χρήσιμες μεθόδους είναι η χρησιμοποίηση της σταθερής ρίζας 1,1διφαινυλο-2-πικρολυδραζυλικής (DPPH) σε διάλυμα αιθυλικής αλκοόλης. Αποτελεί μια από τις λίγες σταθερές και εμπορικά διαθέσιμες οργανικές ρίζες αζώτου. Η κατανάλωσή του από τα αντιοξειδωτικά με δέσμευση της ελεύθερης ρίζας του έχει ως αποτέλεσμα την εξασθένηση του μωβ χρώματος του διαλύματός του. Η DPPH απορροφά στην ορατή περιοχή στα 517nm, όπου παρατηρείται το μέγιστο του φάσματός του μορίου της ρίζας. Αυτή εντοπίζεται με τη μείωση της απορρόφησης καθώς το χρώμα του αρχικού διαλύματος από μωβ μετατρέπεται σε ανοιχτό μωβ, όταν

όλο το ποσό της ελεύθερης ρίζας δεσμευτεί από τα αντιοξειδωτικά του δείγματος.

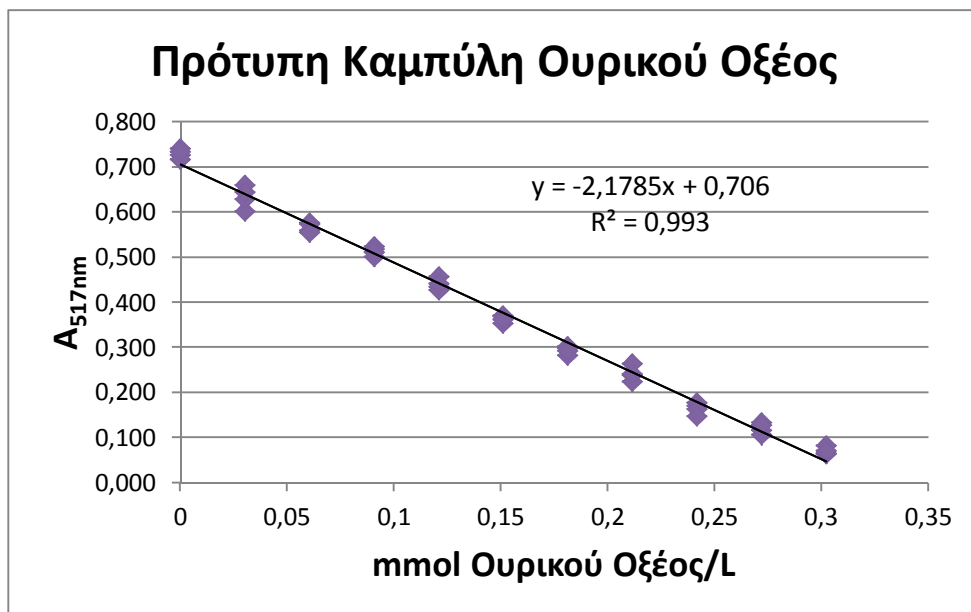
Τα αντιοξειδωτικά συστατικά του βύσσινου δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH και η μείωση της ελέγχεται με τη μείωση της απορρόφησης στα 517nm. Συνεπώς η αντιοξειδωτική δράση του δείγματος είναι αντιστρόφως ανάλογη με την απορρόφηση των δειγμάτων δηλαδή όσο αυξάνεται η απορρόφηση τόσο πιο μικρή είναι η αντιοξειδωτική δράση του δείγματος.

2.4.2.1 Παρασκευή διαλύματος και πρότυπης καμπύλης ουρικού οξέος

Για την παρασκευή του πρότυπου διαλύματος Ουρικού οξέος ζυγίστηκαν 0,0508g στερεού Ουρικού οξέος στον ζυγό ακριβείας και μεταφέρθηκαν σε ποτήρι ζέσεως των 100mL, το οποίο βρισκόταν ήδη στον μαγνητικό αναδευτήρα και περιείχε 50mL αποσταγμένο νερό. Προστέθηκαν επίσης μερικές σταγόνες NaOH για να διευκολυνθεί η διάλυσή του. Στη συνέχεια μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 100mL όπου συμπληρώθηκε με αποσταγμένο νερό μέχρι τη χαραγή.

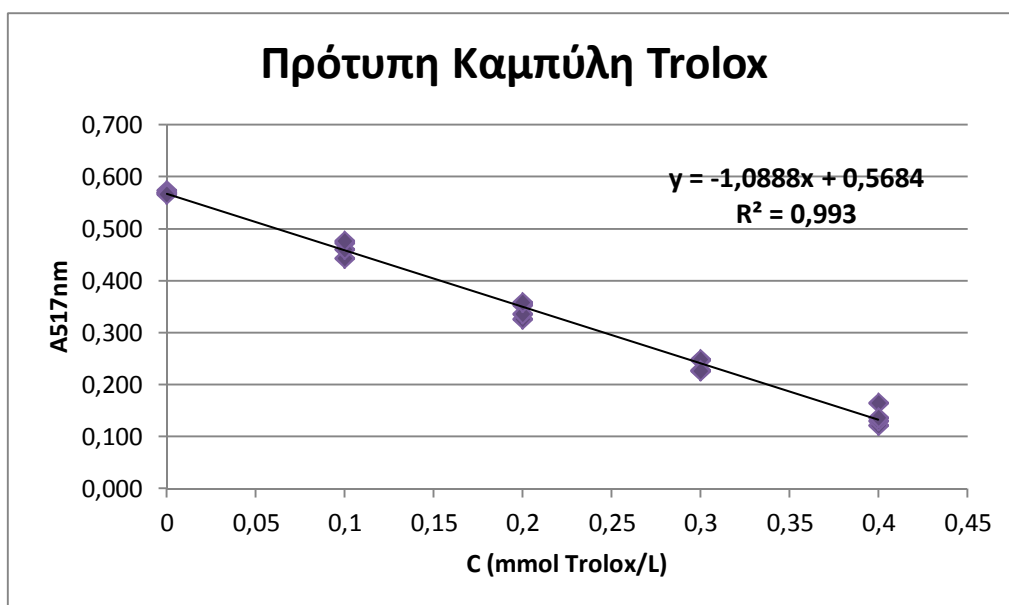
Επειδή ήταν πολύ πυκνό λάβαμε 10ml από το διάλυμα ουρικού οξέος που παρασκευάσαμε και τα αραιώσαμε σε ογκομετρική φιάλη των 100mL συμπληρώνοντας με αποσταγμένο μέχρι τη χαραγή.

Στη συνέχεια παρασκευάσαμε 10 διαλύματα σε δοκιμαστικούς σωλήνες, με 10 διαφορετικές συγκεντρώσεις Ουρικού Οξέος. Οι συγκεντρώσεις αυτών των διαλυμάτων ήταν 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0%, και επιτεύχθηκαν με διαδοχικές αραιώσεις του αρχικού διαλύματος. Στη συνέχεια ακολούθησε η πειραματική διαδικασία DPPH. Μετρήθηκαν οι απορροφήσεις των πρότυπων διαλυμάτων στο φασματοφωτόμετρο στα 517nm, υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις των 10 διαλυμάτων και κατασκευάστηκε η πρότυπη καμπύλη Ουρικού Οξέος (Σχήμα 2.2).



Σχήμα 2.2: Πρότυπη καμπύλη Ουρικού Οξέος που κατασκευάστηκε.

Στην παρούσα εργασία δεν χρησιμοποιήθηκε η πρότυπη καμπύλη Ουρικού Οξέος, αλλά η πρότυπη καμπύλη Trolox λόγω του ότι η καμπύλη Trolox είναι ευρέως διαδεδομένη για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας τροφίμων και ποτών.



Σχήμα 2.3: Πρότυπη καμπύλη Trolox που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων

2.4.2.2 Αραιώσεις μετρούμενων δειγμάτων

Στα άγνωστα δείγματα πραγματοποιήθηκε κατάλληλη αρραίωση ώστε η συγκέντρωσή τους σε αντιοξειδωτικά να βρίσκεται άνετα μέσα στα όρια της πρότυπης καμπύλης για να μπορεί να υπολογιστεί από αυτήν. Έτσι ακολούθησαν δοκιμαστικές μετρήσεις με διαφορετικές συγκεντρώσεις των δειγμάτων και διαπιστώθηκε πως για την μέθοδο DPPH απαιτείται αρραίωση με αποσταγμένο νερό 1:25 για τα δείγματα: φυσικού χυμού, φυσικού χυμού με βιταμίνη C, φυσικού χυμού με θειώδη, ενώ για τον χυμό εμπορίου HBH απαιτείται αρραίωση 1:10 με νερό.

2.4.2.3 Πειραματική διαδικασία

Για την εφαρμογή της μεθόδου DPPH χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια:

➤ **Διάλυμα πυκνού DPPH**

Παρασκευάστηκε ζυγίζοντας 20mg στερεού DPPH στο ζυγό ακριβείας και τοποθετήθηκαν σε ποτήρι ζέσεως με μεθανόλη που βρισκόταν ήδη στον μαγνητικό αναδευτήρα μέχρι να διαλυθεί και να γίνει διαυγές. Στη συνέχεια μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 100mL συμπληρώνοντας με μεθανόλη μέχρι την χαραγή.

➤ **Διάλυμα αραιού DPPH**

Το διάλυμα του αραιού DPPH παρασκευαζόταν πριν από κάθε μέτρηση από πυκνό DPPH. Ο όγκος του τελικού διαλύματος που απαιτείται για την μέθοδο καθορίστηκε από τον αριθμό των δοκιμαστικών σωλήνων που χρησιμοποιήθηκαν. Το διάλυμα που θα παρασκευαστεί πρέπει να δίνει απορρόφηση $A=0,780 \pm 0,03$ για αυτό το λόγω προστέθηκαν μικροποσότητα πυκνού DPPH ή μεθανόλης, κατά περίπτωση μέχρι να επιτευχθεί.

Τα στάδια της πειραματικής διαδικασίας της μεθόδου DPPH έχουν ως εξής:

1. Σε δοκιμαστικό σωλήνα έγινε προσθήκη 200μL δείγματος στην κατάλληλη αραίωση..
2. Ακολούθησε ανάδευση.
3. Προστέθηκαν από 1,8mL αραιού διαλύματος DPPH.
4. Ανάδευση.
5. Μηδενισμός του φασματοφωτόμετρου με μεθανόλη.
6. Μέτρηση στα 517nm.

Για να εξαλειφθούν τυχόν πειραματικά λάθη η διαδικασία έγινε τέσσερις φορές για το καθένα από τα δείγματα. Επίσης για κάθε δείγμα παρασκευάστηκε λευκό δηλαδή χωρίς προσθήκη χυμού αλλά με προσθήκη H₂O. Ακόμη παρασκευάστηκε και από ένα σωλήνας για το κάθε δείγμα, στα οποία αντί για το αντιδραστήριο DPPH προστέθηκε μεθανόλη στην ίδια ποσότητα, με σκοπό να βρεθεί η όποια απορρόφηση υπάρχει η οποία δεν οφείλεται στο αντιδραστήριο DPPH αλλά στο χρώμα του ίδιου του δείγματος.

Οι απορροφήσεις που λάβαμε φαίνονται στους **πίνακες 6.4**. Αυτές οι τιμές απορροφήσεων μετατράπηκαν σε συγκεντρώσεις χρησιμοποιώντας την εξίσωση της πρότυπης καμπύλης Trolox (**Σχήμα 2.3**), η οποία είναι:

$$y = -1,0888x + 0,5684$$

Τα αποτελέσματα βρίσκονται στους **πίνακες 6.5**. Οι Η αντιοξειδωτική ικανότητα στα αρχικά δείγματα φαίνεται στον πίνακα **6.6**. Η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων είναι εκφρασμένη σε ισοδύναμα Trolox mmol/L.

3. Αποτελέσματα-Συζήτηση

Στις μετρήσεις που λάβαμε από τις μεθόδους Folin-Ciocalteu και DPPH, κατά την πειραματική διαδικασία, έγινε στατιστική ανάλυση για τον εντοπισμό στοιχείων ισότητας ή διαφοράς μεταξύ των μετρήσεων που ίσως δεν θα ήταν ορατά σε άλλη περίπτωση. Συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκε ο έλεγχος ANOVA.

Για να πραγματοποιήσουμε τον έλεγχο ANOVA έπρεπε πρώτα να ελεγχθεί αν μπορεί να εφαρμοστεί στα δείγματά μας. Γι αυτό έγινε έλεγχος κανονικότητας και έλεγχος των διακυμάνσεων στα υπολείμματα που παρελήφθησαν από αυτό. Και εφόσον οι διακυμάνσεις είναι ίσες μεταξύ τους μπορεί να πραγματοποιηθεί ο έλεγχος ANOVA. Επιπλέον πραγματοποιήθηκε ο έλεγχος Fisher για τον περαιτέρω έλεγχο και ανάλυση των αποτελεσμάτων από το ANOVA.

Παρακάτω αναφέρεται αναλυτικά η διαδικασία που ακολουθήθηκε καθώς και τα αποτελέσματα, για την κάθε μέθοδο ξεχωριστά.

3.1. Μέθοδος Folin-Ciocalteu

Τα δείγματα «Φυσικός Χυμός», «Φυσικός Χυμός με Βιταμίνη C» και «Φυσικός Χυμός με Θειώδη» μελετήθηκαν μαζί, ενώ το δείγμα «Χυμός Εμπορίου» μόνο του, λόγω της μεγάλης διαφοράς των μετρήσεων που έδωσε σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα, όπως φαίνεται στο **σχήμα 3.1**.

3.1.1. Στατιστική Ανάλυση

Σύγκριση μεταξύ δειγμάτων «Φυσικός Χυμός», «Φυσικός Χυμός με Βιταμίνη C» και «Φυσικός Χυμός με θειώδη»

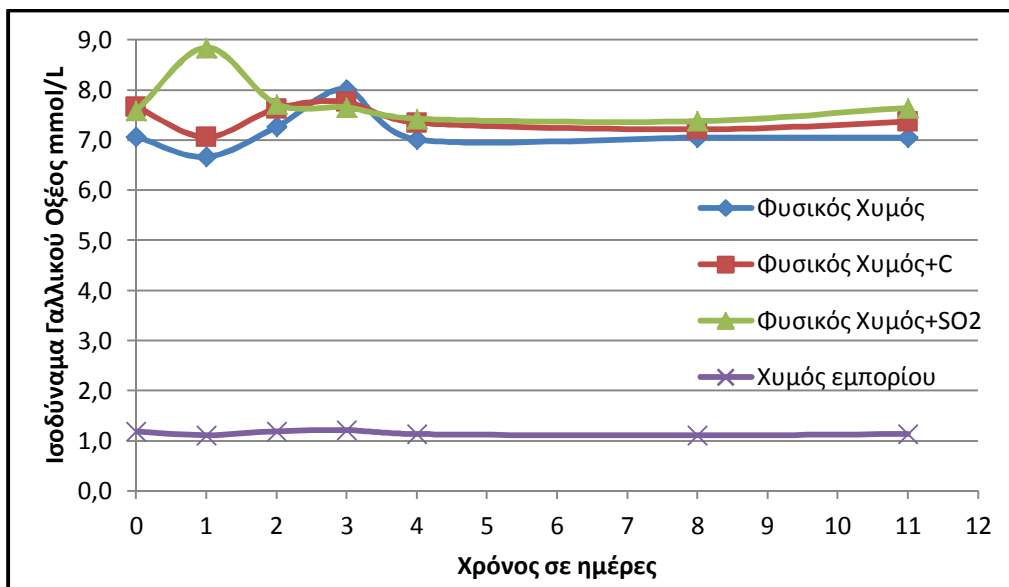
Υπολογίστηκαν τα υπολείμματα από το ANOVA και στη συνέχεια έγινε έλεγχος κανονικότητας σε αυτά με μηδενική υπόθεση ότι τα δείγματα

ακολουθούν κανονική κατανομή και εναλλακτική ότι τα δείγματα δεν ακολουθούν κανονική κατανομή. Με τον έλεγχο Anderson-Darling έδωσε $P > 0,05$, άρα ισχύει η μηδενική υπόθεση, δηλαδή τα δείγματα ακολουθούν κανονική κατανομή (Σχήμα 6.1).

Εφόσον τα υπολείμματα ακολουθούν κανονική κατανομή γίνεται έλεγχος των διακυμάνσεων και λαμβάνεται υπόψη ο έλεγχος Bartlett. Η μηδενική υπόθεση για τον έλεγχο αυτό είναι ότι όλες οι διακυμάνσεις είναι ίσες μεταξύ τους, ενώ η εναλλακτική ότι δεν είναι ίσες μεταξύ τους. Από τον έλεγχο Bartlett το $P > 0,05$, άρα ισχύει η μηδενική υπόθεση, δηλαδή όλες οι διακυμάνσεις είναι ίσες μεταξύ τους (Σχήμα 6.2).

Από τη στιγμή που οι διακυμάνσεις είναι ίσες μεταξύ τους μπορεί να εφαρμοστεί έλεγχος ANOVA. Η μηδενική υπόθεση είναι ότι όλα τα δείγματα είναι ίσα μεταξύ τους και η εναλλακτική ότι τα δείγματα δεν είναι ίσα μεταξύ τους. Ο έλεγχος ANOVA έδωσε $P = 0,1507$, το οποίο είναι μεγαλύτερο από το 0,05, άρα ισχύει η μηδενική υπόθεση, δηλαδή όλα τα δείγματα είναι ίσα μεταξύ τους.

Παρόλο που από τον έλεγχο ANOVA τα δείγματα βγήκαν ίσα μεταξύ τους έγινε και ο έλεγχος Fisher για περαιτέρω ανάλυση της σχέσης των δειγμάτων. Η ομαδοποίηση όλων των δειγμάτων όπως εμφανίζεται στο πακέτο στατιστικής ανάλυσης φαίνεται στην **εικόνα 3.1**, στον **πίνακα 3.1** εμφανίζονται τα αποτελέσματα αυτά ομαδοποιημένα ανά δείγμα ώστε να είναι πιο εύχρηστα για τη σύγκριση των δειγμάτων.



Σχήμα 3. 1: Διάγραμμα περιεκτικότητας των δειγμάτων σε φαινολικά εκφρασμένη σε ισοδύναμα Γαλλικού Οξέος σε συνάρτηση με το χρόνο.

Grouping Information Using Fisher Method			
C1	N	Mean	Grouping
φ.X.+SO2,01	4	8,8423	A
φ.X.,03	4	8,0133	B
φ.X.+C,03	4	7,7605	C
φ.X.+SO2,02	4	7,7170	C
φ.X.+C,0	4	7,6569	C
φ.X.+SO2,03	4	7,6527	C
φ.X.+SO2,11	4	7,6424	C
φ.X.+C,02	4	7,6299	C D
φ.X.+SO2,0	4	7,5823	C D E
φ.X.+SO2,04	4	7,4227	D E F
φ.X.+SO2,08	4	7,3750	E F
φ.X.+C,11	4	7,3647	F
φ.X.+C,04	4	7,3481	F
φ.X.,02	4	7,2652	F G
φ.X.+C,08	4	7,2134	F G H
φ.X.+C,01	4	7,0600	G H
φ.X.,0	4	7,0600	G H
φ.X.,11	4	7,0538	G H
φ.X.,08	4	7,0476	H
φ.X.,04	4	7,0124	H
φ.X.,01	4	6,6621	I

Means that do not share a letter are significantly different.

Εικόνα 3. 1: Πληροφορίες ομαδοποίησης με τη χρήση του ελέγχου Fisher όπως εμφανίζονται στο πακέτο στατιστικής ανάλυσης. Οι μέσοι όροι που δεν ανήκουν στο ίδιο γράμμα είναι σημαντικά διαφορετικοί. Για τις μετρήσεις από τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.

Ανάλυση του δείγματος «Χυμός Εμπορίου»

Υπολογίστηκαν τα υπολείμματα από το ANOVA και έγινε έλεγχος κανονικότητας με μηδενική υπόθεση ότι τα δείγματα ακολουθούν κανονική κατανομή και εναλλακτική ότι τα δείγματα δεν ακολουθούν κανονική κατανομή. Ο έλεγχος Anderson-Darling έδωσε $P > 0,05$, άρα ισχύει η μηδενική υπόθεση, δηλαδή όλα τα δείγματα ακολουθούν κανονική κατανομή (Σχήμα 6.3).

Εφόσον τα υπολείμματα ακολουθούν κανονική κατανομή γίνεται έλεγχος των διακυμάνσεων και λαμβάνεται υπόψη ο έλεγχος Bartlett. Ως μηδενική υπόθεση θεωρήθηκε ότι όλες οι διακυμάνσεις είναι ίσες μεταξύ τους, ενώ ως εναλλακτική ότι δεν είναι ίσες μεταξύ τους. Από τον έλεγχο Bartlett το $P < 0,05$, άρα ισχύει η εναλλακτική υπόθεση, δηλαδή όλες οι διακυμάνσεις δεν είναι ίσες μεταξύ τους (Σχήμα 6.4). Από τη στιγμή που οι διακυμάνσεις δεν είναι ίσες μεταξύ τους δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί ο έλεγχος ANOVA.

Επομένως έγινε λογαριθμικός μετασχηματισμός των μετρήσεων και στη συνέχεια υπολογίστηκαν τα υπολείμματα από το ANOVA. Έγινε έλεγχος κανονικότητας στα καινούργια υπολείμματα με μηδενική υπόθεση ότι το δείγμα ακολουθεί κανονική κατανομή και εναλλακτική υπόθεση ότι δεν ακολουθεί κανονική κατανομή. Ο έλεγχος Anderson-Darling έδωσε $P > 0,05$, άρα ισχύει η μηδενική υπόθεση, δηλαδή όλα τα δείγματα ακολουθούν κανονική κατανομή (Σχήμα 6.5)

Εφόσον τα υπολείμματα ακολουθούν κανονική κατανομή γίνεται έλεγχος των διακυμάνσεων και λαμβάνεται υπόψη ο έλεγχος Bartlett. Ως μηδενική υπόθεση λαμβάνεται το ότι οι διακυμάνσεις είναι ίσες μεταξύ τους, ενώ ως εναλλακτική ότι όλες οι διακυμάνσεις δεν είναι ίσες μεταξύ τους. Από τον έλεγχο Bartlett το $P < 0,05$, άρα ισχύει η εναλλακτική υπόθεση, δηλαδή όλες οι διακυμάνσεις δεν είναι ίσες μεταξύ τους (Σχήμα 6.6).

Δεν συνεχίστηκε η στατιστική ανάλυση του δείγματος «Χυμός εμπορίου» λόγω του ότι ακόμη και μετά το λογαριθμικό μετασχηματισμό των μετρήσεων οι διακυμάνσεις των υπολειμμάτων δεν βγήκαν ίδιες. Αυτό συνέβη κατά πάσα

πιθανότητα λόγω του πολύ μικρού αριθμητικού εύρους των τιμών των μετρήσεων.

Πίνακας 3. 1: Ομαδοποίηση των μετρήσεων για τα δείγματα «Φυσικός Χυμός», «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» και «Φυσικός Χυμός με Θειώδη» ανά δείγμα κατά Fisher

Ημέρα	Μέτρηση	Ομαδοποίηση μετρήσεων κατά Fisher			
Δείγμα: Φυσικός Χυμός					
0	7,0600			G	H
1	6,6621				I
2	7,2652			F	G
3	8,0133	B			
4	7,0124				H
8	7,0476				H
11	7,0538			G	H
Δείγμα: Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C					
0	7,6569		C		
1	7,0600			F	G
2	7,6299		C	D	
3	7,7605		C		
4	7,3481			F	
8	7,2134			F	G H
11	7,3647			F	
Δείγμα: Φυσικός Χυμός με Θειώδη					
0	7,5823		C	D	E
1	8,8423	A			
2	7,7170		C		
3	7,6527		C		
4	7,4227			D	E F
8	7,3750			E	F
11	7,6424		C		

3.1.2. Συζήτηση αποτελεσμάτων

3.1.2.1. Συμπεριφορά δείγματος «Φυσικός Χυμός» κατά την αποθήκευση

Από τη στατιστική ανάλυση των δειγμάτων στο δείγμα «Φυσικός Χυμός» φαίνεται ότι η συγκέντρωση ολικών φαινολικών μειώνεται έντονα την ημέρα 1 των μετρήσεων σε σχέση με την ημέρα 0 και στη συνέχεια αυξάνεται τις ημέρες 2 και 3. Την ημέρα 3 το δείγμα μας έδειξε την υψηλότερη συγκέντρωση ολικών φαινολικών, στη διάρκεια του πειράματος. Την ημέρα 4 η συγκέντρωση ολικών φαινολικών μειώνεται έντονα και στη συνέχεια τις ημέρες 8 και 11 ελάχιστα, τόσο ώστε τις ημέρες 4, 8 και 11 οι τιμές της συγκέντρωσης είναι στατιστικά ίσες μεταξύ τους. Η τιμή της συγκέντρωσης την τελευταία μέρα (ημέρα 11) είναι επίσης στατιστικά ίση με την τιμή της συγκέντρωσης της ημέρας 0.

3.1.2.2. Συμπεριφορά δείγματος «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» κατά την αποθήκευση

Ο στατιστικός έλεγχος των δειγμάτων στο δείγμα «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» έδειξε ότι την ημέρα 1 η συγκέντρωση ολικών φαινολικών μειώνεται πολύ έντονα σε σχέση με τη μέτρηση της ημέρας 0 (Σχήμα 3.3). Στη συνέχεια υπάρχει μια έντονη αύξηση την ημέρα 2 που συνεχίζεται την ημέρα 3 με μία ελάχιστη άνοδο, τόσο μικρή ώστε οι δύο τιμές είναι στατιστικά ίσες μεταξύ τους. Οι τιμές των δύο αυτών ημερών είναι στατιστικά ίσες και την τιμή της ημέρας 0. Αυτές οι τρεις αποτελούν και τα στατιστικά μέγιστα που εμφανίζει το δείγμα αυτό κατά τη διάρκεια του πειράματος, με αριθμητική μέγιστη συγκέντρωση ολικών φαινολικών την ημέρα 3. Την ημέρα 4 παρατηρείται μείωση στατιστικά σημαντική. Τις ημέρες 8 και 11 η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών διατηρείται στατιστικά στο ίδιο επίπεδο με την ημέρα 4. Σημαντικό είναι το ότι η συγκέντρωση των φαινολικών την ημέρα 0 είναι στατιστικά μεγαλύτερη από την μέτρηση την ημέρα 11.

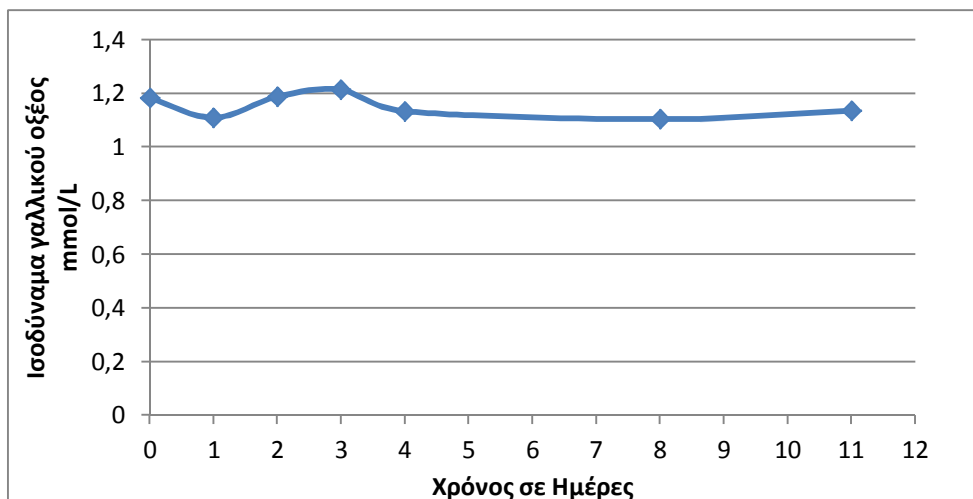
3.1.2.3. Συμπεριφορά δείγματος «Φυσικός Χυμός με θειώδη» κατά την αποθήκευση

Από τη στατιστική ανάλυση φαίνεται ότι στο δείγμα «Φυσικός Χυμός με θειώδη» μία έντονη στατιστικά αύξηση της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών την ημέρα 1 σε σχέση με την ημέρα 0. Η συγκέντρωση φαινολικών την ημέρα 1 είναι και η υψηλότερη που καταγράφηκε στο δείγμα κατά τη διάρκεια του πειράματος. Στη συνέχεια την ημέρα 2 παρατηρείται μία έντονη μείωση της συγκέντρωσης των φαινολικών όπου και φτάνει σε επίπεδο στατιστικά ίσο με την ημέρα 0. Η συγκέντρωση την ημέρα 3 παραμένει σε στατιστικά ίσο επίπεδο. Τις ημέρες 4 και 8 παρατηρείται σταδιακή μείωση της συγκέντρωσης, οι οποίες όμως είναι στατιστικά ίσες μεταξύ τους. Και τέλος την τελευταία ημέρα του πειράματος η συγκέντρωση των φαινολικών κατέληξε σε ίσο στατιστικά επίπεδο με την αρχική τιμή συγκέντρωσης την ημέρα 0.

3.1.2.4. Συμπεριφορά δείγματος «Χυμού Εμπορίου» κατά την αποθήκευση

Δεν καταφέραμε να πραγματοποιήσουμε στατιστική ανάλυση στο δείγμα του χυμού εμπορίου, επειδή οι τιμές συγκέντρωσης στην πορεία του πειράματος δεν είχαν μεγάλες διαφορές. (Σχήμα 3.2). Επομένως στο δείγμα «Χυμός Εμπορίου» η συγκέντρωση παρέμεινε εξαιρετικά σταθερή στη διάρκεια του πειράματος αν και οι τιμές που έδωσε ήταν περίπου επτά φορές μικρότερη σε σχέση με τα υπόλοιπα τρία δείγματα (Σχήμα 3.1).

Ο χυμός εμπορίου έχει δώσει τόσο χαμηλά αποτελέσματα αντιοξειδωτικής ικανότητας λόγω του ότι οι χυμοί εμπορίου από βύσσινο βρίσκονται σε μορφή φρουτοποτού και η περιεκτικότητά του σε συμπυκνωμένο χυμό βύσσινο ήταν 20%.



Σχήμα 3. 2: Διάγραμμα συγκέντρωσης φαινολικών σε ισοδύναμα Γαλλικού οξέος mmol/L σε συνάρτηση με το χρόνο του δείγματος «Χυμού Εμπορίου»

3.1.2.5. Σύγκριση όλων των δειγμάτων κατά την αποθήκευση εκτός του Χυμού Εμπορίου

Την ημέρα 0, τα δείγματα «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» και «Φυσικός Χυμός με θειώδη» έδωσαν συγκεντρώσεις φαινολικών ουσιών στατιστικά ίσες μεταξύ τους. Οι συγκεντρώσεις των δύο αυτών δειγμάτων ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες από τη συγκέντρωση του δείγματος «Φυσικός Χυμός». Η διαφορά αυτή από το διάγραμμα συγκεντρώσεων όλων των δειγμάτων μαζί δεν ήταν ορατή (Σχήμα 3.1). Με το αποτέλεσμα αυτό της στατιστικής ανάλυσης αφαιρέθηκε από το διάγραμμα το δείγμα «Χυμός Εμπορίου» και εστιάστηκε στις τιμές των τριών δειγμάτων (Σχήμα 3.3). Σε αυτό φάνηκε αυτή η στατιστικά σημαντική διαφορά των δύο εμπλουτισμένων δειγμάτων σε σχέση με το δείγμα «Φυσικός Χυμός».

Την ημέρα 1 τα δείγματα «Φυσικός Χυμός» και «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» παρουσιάζουν μείωση των φαινολικών συστατικών, με την τιμή του δεύτερου να είναι στατιστικά μεγαλύτερη. Ενώ, το δείγμα με την προσθήκη θειωδών εμφανίζει μία πολύ έντονη αύξηση της συγκέντρωσης η οποία είναι και η υψηλότερη τιμή συγκέντρωσης ολικών φαινολικών που παρατηρείται όχι μόνο στο δείγμα αλλά και σε όλα τα δείγματα μαζί σε όλη τη περαματική διαδικασία.

Αντίθετα, την ημέρα 2 τα δείγματα «Φυσικός Χυμός» και «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» εμφανίζουν αύξηση συγκέντρωσης φαινολικών, με το δεύτερο δείγμα να συνεχίζει να εμφανίζει τιμή στατιστικά μεγαλύτερη. Το δείγμα «Φυσικός Χυμός με θειώδη», από την άλλη, εμφανίζει μία πολύ έντονη μείωση, ώστε φτάνει στο ίδιο στατιστικά επίπεδο με την τιμή συγκέντρωσης του δείγματος «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C».

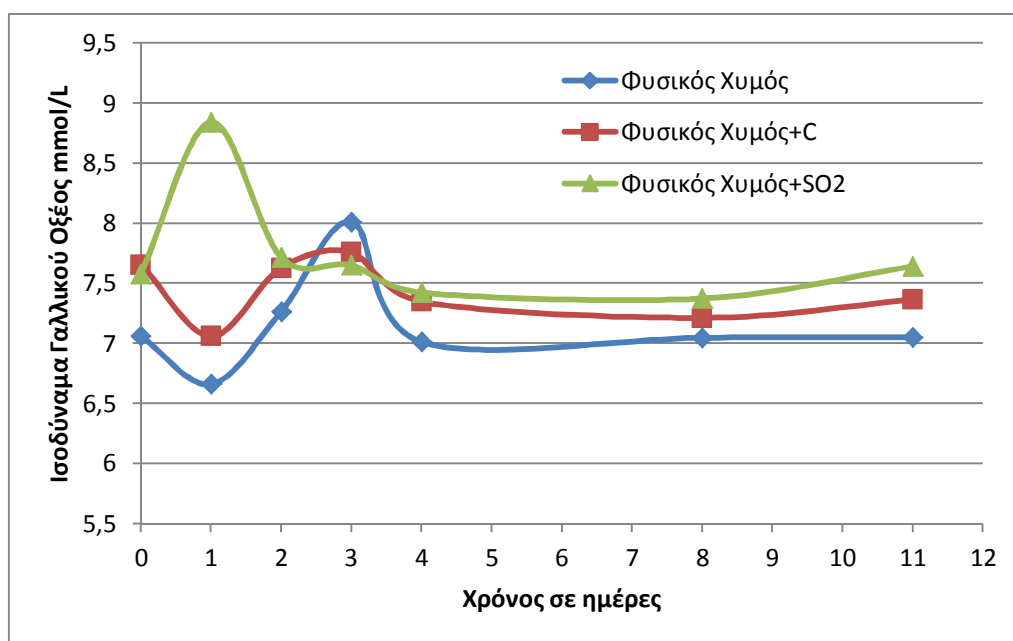
Την ημέρα 3 το δείγμα «Φυσικός Χυμός» παρουσιάζει μία έντονη στατιστικά αύξηση της συγκέντρωσης φαινολικών σε αντίθεση των άλλων δύο δειγμάτων όπου παραμένουν σε στατιστικά ίσο επίπεδο.

Την ημέρα 4 όλα τα δείγματα εμφανίζουν μείωση της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών ενώσεων με αυτή του δείγματος «Φυσικός Χυμός» να πολύ έντονη ενώ των άλλων δύο δειγμάτων όχι τόσο πολύ, με το δείγμα «Φυσικός Χυμός με θειώδη» να εμφανίζει τη μικρότερη στατιστικά μείωση. Οι τιμές συγκέντρωσης των δειγμάτων «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» και «Φυσικός Χυμός με θειώδη» είναι στατιστικά ίσες ενώ του δείγματος «Φυσικός Χυμός» στατιστικά χαμηλότερη.

Τις υπόλοιπες ημέρες που πειράματος, 8 και 11, όλα τα δείγματα εμφάνισαν στατιστικά ίσες συγκεντρώσεις σε σχέση με την ημέρα 4, εκτός από το δείγμα «Φυσικός Χυμός με θειώδη» όπου την ημέρα 11 παρουσίασε αύξηση της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών. Το δείγμα «Φυσικός Χυμός» έχει τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις από τα άλλα 2. Την ημέρα 8 τα δείγματα «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» και «Φυσικός Χυμός με θειώδη» παρουσιάζουν στατιστικά ίση συγκέντρωση.

Γενικά τα δείγματα «Φυσικός Χυμός» και «Φυσικός Χυμός με θειώδη» εμφάνισαν στο τέλος του πειράματος ίση στατιστικά συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων με την αρχική τους, την ημέρα 0, ενώ το δείγμα «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» καταλήγει την τελευταία μέρα σε συγκέντρωση μικρότερη από την αρχική, η οποία είναι και στατιστικά μεγάλη.

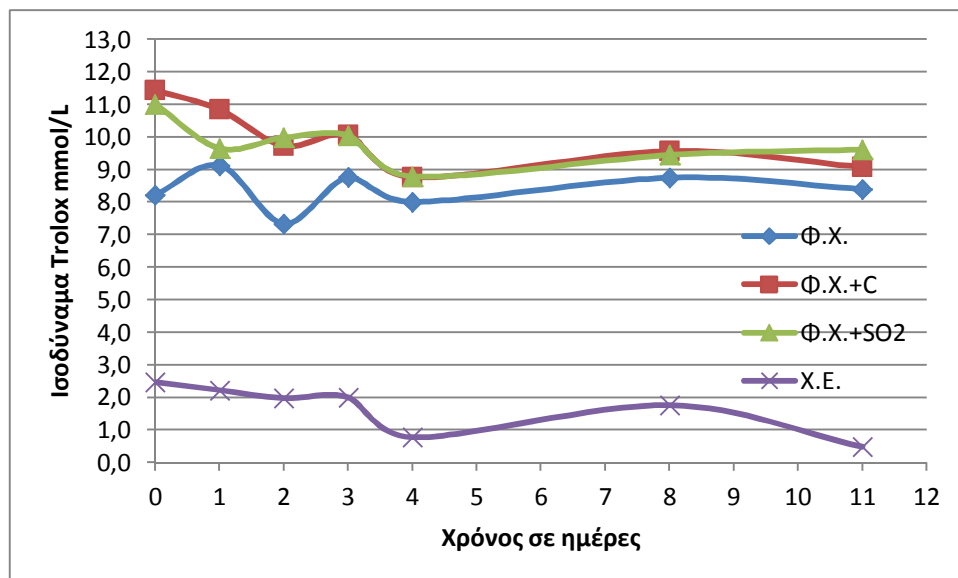
Γενικά στην πορεία του πειράματος οι τιμές στο κάθε δείγμα δεν είχαν παρουσιάσαν μεγάλες διαφορές. Η προσθήκη βιταμίνης C και θειωδών ενώ φαινομενικά δεν φαίνεται να επιφέρει μεγάλη αύξηση στην συγκέντρωση των φαινολικών, όταν γίνεται η στατιστική ανάλυση φαίνεται ότι έχει αρκετά ικανοποιητική επίδραση.



Σχήμα 3. 3: Διάγραμμα συγκέντρωσης φαινολικών σε ισοδύναμα Γαλλικού οξέος mmol/L σε συνάρτηση με το χρόνο για τα δείγματα «Φυσικός Χυμός», «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» και «Φυσικό Χυμό με θειώδη»

3.2. Μέθοδος DPPH

Τα δείγματα «Φυσικός Χυμός», «Φυσικός Χυμός με Βιταμίνη C» και «Φυσικός Χυμός με Θειώδη» μελετήθηκαν μαζί, ενώ το δείγμα «Χυμός Εμπορίου» μόνο του, λόγω της μεγάλης διαφοράς των μετρήσεων που έδωσε σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα, όπως φαίνεται στο **σχήμα 3.4**. Οι μετρήσεις των δειγμάτων «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» και «Φυσικός Χυμός με θειώδη» είναι σχεδόν 10 φορές μεγαλύτερες από αυτές που έδωσε το δείγμα «Χυμός Εμπορίου», ενώ το δείγμα «Φυσικός Χυμός» έδωσε μετρήσεις σχεδόν 7 φορές μεγαλύτερες από αυτό.



Σχήμα 3. 4: Διάγραμμα αντιοξειδωτικής ικανότητας μετρούμενη σε συγκέντρωση ισοδύναμων Trolox mmol/L σε συνάρτηση με το χρόνο.

3.2.1. Στατιστική Ανάλυση

Σύγκριση μεταξύ δειγμάτων «Φυσικός Χυμός», «Φυσικός Χυμός με Βιταμίνη C» και «Φυσικός Χυμός με θειώδη»

Υπολογίστηκαν τα υπολείμματα από το ANOVA και στη συνέχεια έγινε έλεγχος κανονικότητας σε αυτά με μηδενική υπόθεση ότι τα δείγματα ακολουθούν κανονική κατανομή και εναλλακτική ότι τα δείγματα δεν ακολουθούν κανονική κατανομή. Ο έλεγχος Anderson-Darling έδωσε $P > 0,05$, άρα ισχύει η μηδενική υπόθεση, δηλαδή τα δείγματα ακολουθούν κανονική κατανομή (Σχήμα 6.7).

Εφόσον τα υπολείμματα ακολουθούν κανονική κατανομή γίνεται έλεγχος των διακυμάνσεων και λαμβάνεται υπόψη ο έλεγχος Bartlett. Η μηδενική υπόθεση για τον έλεγχο αυτό είναι ότι όλες οι διακυμάνσεις είναι ίσες μεταξύ τους, ενώ η εναλλακτική ότι δεν είναι ίσες μεταξύ τους. Από τον έλεγχο Bartlett φαίνεται ότι το $P > 0,05$, άρα ισχύει η μηδενική υπόθεση, δηλαδή όλες οι διακυμάνσεις είναι ίσες μεταξύ τους (Σχήμα 6.8).

Από τη στιγμή που οι διακυμάνσεις είναι ίσες μεταξύ τους μπορεί να εφαρμοστεί έλεγχος ANOVA. Η μηδενική υπόθεση είναι ότι όλα τα δείγματα είναι ίσα μεταξύ τους και η εναλλακτική ότι τα δείγματα δεν είναι ίσα μεταξύ τους. Ο έλεγχος ANOVA έδωσε **P=0,302**, το οποίο είναι μεγαλύτερο από το 0,05 , άρα ισχύει η μηδενική υπόθεση, δηλαδή όλα τα δείγματα είναι ίσα μεταξύ τους.

Παρόλο που από τον έλεγχο ANOVA τα δείγματα βγήκαν ίσα μεταξύ τους έγινε και ο έλεγχος Fisher για περαιτέρω ανάλυση της σχέσης των δειγμάτων. Η ομαδοποίηση όλων των δειγμάτων όπως εμφανίζεται στο πακέτο στατιστικής ανάλυσης φαίνεται στην **εικόνα 3.2**. και στον **πίνακα 3.2** εμφανίζονται τα αποτελέσματα αυτά ομαδοποιημένα ανά δείγμα ώστε να είναι πιο εύχρηστα για τη σύγκριση των δειγμάτων.

Grouping Information Using Fisher Method			
C1	N	Mean	Grouping
Φ.X. +C, 0	4	11,4381	A
Φ.X.+SO2, 0	4	11,0075	B
Φ.X. +C, 01	3	10,8468	B
Φ.X. +C, 03	4	10,0719	C
Φ.X.+SO2, 03	3	10,0432	C D
Φ.X.+SO2, 02	4	9,9800	C D
Φ.X. +C, 02	3	9,7294	C D E
Φ.X.+SO2, 01	4	9,6528	C D E
Φ.X.+SO2, 11	4	9,6184	D E
Φ.X. +C, 08	3	9,5686	D E F
Φ.X.+SO2, 08	3	9,4462	E F G
Φ.X., 01	4	9,1305	F G H
Φ.X. +C, 11	4	9,0788	G H
Φ.X.+SO2, 04	4	8,7918	H I
Φ.X., 03	3	8,7650	H I
Φ.X. +C, 04	4	8,7631	H I
Φ.X., 08	3	8,7497	H I
Φ.X., 11	4	8,4015	I J
Φ.X., 0	3	8,2216	J
Φ.X., 04	4	8,0054	J
Φ.X., 02	4	7,3395	K

Means that do not share a letter are significantly different.

Εικόνα 3. 2: Πληροφορίες ομαδοποίησης με τη χρήση του ελέγχου Fisher όπως εμφανίζονται στο πακέτο στατιστικής ανάλυσης. Οι μέσοι όροι που δεν ανήκουν στο ίδιο γράμμα είναι σημαντικά διαφορετικοί. Για τις μετρήσεις από τη μέθοδο DPPH

Πίνακας 3. 2: Ομαδοποίηση των μετρήσεων για τα δείγματα «Φυσικός Χυμός», «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» και «Φυσικός Χυμός με Θειώδη» ανά δείγμα κατά Fisher

Ημέρα	Μέτρηση	Ομαδοποίηση μετρήσεων κατά Fisher							
Δείγμα: Φυσικός Χυμός									
0	8,2216								J
1	9,1305				F	G	H		
2	7,3375								K
3	8,7650						H	I	
4	8,0054								J
8	8,7497						H	I	
11	8,4015							I	J
Δείγμα: Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C									
0	11,4381	A							
1	10,8468		B						
2	9,7294			C	D	E			
3	10,0917			C					
4	8,7631						H	I	
8	9,5686				D	E	F		
11	9,0788							G	H
Δείγμα: Φυσικός Χυμός με Θειώδη									
0	11,0075	B							
1	9,6528			C	D	E			
2	9,9800			C	D				
3	10,0432			C	D				
4	8,7918						H	I	
8	9,4462					E	F	G	
11	9,6184			D	E				

Ανάλυση του δείγματος «Χυμός Εμπορίου»

Υπολογίστηκαν τα υπολείμματα από το ANOVA και έγινε έλεγχος κανονικότητας με μηδενική υπόθεση ότι τα δείγματα ακολουθούν κανονική

κατανομή και εναλλακτική ότι τα δείγματα δεν ακολουθούν κανονική κατανομή. Ο έλεγχος Anderson-Darling έδωσε $P > 0,05$, άρα ισχύει η μηδενική υπόθεση, δηλαδή όλα τα δείγματα ακολουθούν κανονική κατανομή (Σχήμα 6.9).

Εφόσον τα υπολείμματα ακολουθούν κανονική κατανομή γίνεται έλεγχος των διακυμάνσεων και λαμβάνεται υπόψη ο έλεγχος Bartlett. Ως μηδενική υπόθεση ορίζεται ότι όλες οι διακυμάνσεις είναι ίσες μεταξύ τους, ενώ ως εναλλακτική ότι δεν είναι ίσες μεταξύ τους. Από τον έλεγχο Bartlett το $P > 0,05$, άρα ισχύει η εναλλακτική υπόθεση, δηλαδή όλες οι διακυμάνσεις είναι ίσες μεταξύ τους (Σχήμα 6.10).

Από τη στιγμή που οι διακυμάνσεις είναι ίσες μεταξύ τους μπορεί να εφαρμοστεί έλεγχος ANOVA. Η μηδενική υπόθεση είναι ότι όλα τα δείγματα είναι ίσα μεταξύ τους και η εναλλακτική ότι τα δείγματα δεν είναι ίσα μεταξύ τους. Ο έλεγχος ANOVA έδωσε $P = 0,1318$, το οποίο είναι μεγαλύτερο από το 0,05, άρα ισχύει η μηδενική υπόθεση, δηλαδή όλα τα δείγματα είναι ίσα μεταξύ τους.

Παρόλο που από τον έλεγχο ANOVA τα δείγματα βγήκαν ίσα μεταξύ τους έγινε και ο έλεγχος Fisher για περαιτέρω ανάλυση της σχέσης των δειγμάτων. Η ομαδοποίηση όλων των δειγμάτων όπως εμφανίζεται στο πακέτο στατιστικής ανάλυσης φαίνεται στην **εικόνα 3.2**.

Grouping Information Using Fisher Method			
C5	N	Mean	Grouping
X.E. 0	4	2,4743	A
X.E. 01	4	2,2263	B
X.E. 03	4	2,0036	C
X.E. 02	4	1,9806	C
X.E. 08	4	1,7602	D
X.E. 04	4	0,7752	E
X.E. 11	4	0,4882	F

Means that do not share a letter are significantly different.

Εικόνα 3. 3: Πληροφορίες ομαδοποίησης με τη χρήση του ελέγχου Fisher όπως εμφανίζονται στο πακέτο στατιστικής ανάλυσης. Οι μέσοι όροι που δεν ανήκουν στο ίδιο γράμμα είναι σημαντικά διαφορετικοί. Για τις μετρήσεις από τη μέθοδο DPPH.

3.2.2. Συζήτηση αποτελεσμάτων

3.2.2.1. Συμπεριφορά δείγματος «Φυσικός Χυμός» κατά την αποθήκευση

Από την στατιστική ανάλυση φαίνεται ότι στο δείγμα «Φυσικός Χυμός» την ημέρα 1 παρατηρείται η υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση και είναι σαφώς μεγαλύτερη από αυτή της ημέρας 0. Την ημέρα 2 παρατηρείται έντονη μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του δείγματος, η οποία είναι και η χαμηλότερη που παρατηρείται στο δείγμα. Την ημέρα 3 παρατηρείται μικρή αύξηση και στη συνέχεια την ημέρα 4 μικρή μείωση της αντιοξειδωτικής δράσης. Εμφανίζεται μικρή αύξηση την ημέρα 8 που ακολουθείται, την ημέρα 11, από μία μικρή μείωση, η οποία είναι τόσο μικρή ώστε παραμένει στατιστικά ίση με την ημέρα 8. Επιγραμματικά η μέτρηση της ημέρας 1 (υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση) είναι στατιστικά ίση με τις μετρήσεις των ημερών 3 και 8. Ακόμη στατιστικά ίσες εμφανίζονται και οι μετρήσεις των ημερών 3, 8 και 11. Οι μετρήσεις των ημερών 0, 4 και 11 εμφανίζονται στατιστικά ίσες. Τέλος παρατηρούμε πως η αντιοξειδωτική ικανότητα του δείγματος την ημέρα 0 είναι ίση με την ημέρα 11.

3.2.2.2. Συμπεριφορά δείγματος «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» κατά την αποθήκευση

Από την στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε για την σύγκριση των δειγμάτων, το δείγμα «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» εμφανίζει την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα την ημέρα 0, ενώ η χαμηλότερη εμφανίζεται την ημέρα 4. Την ημέρα 1 η αντιοξειδωτική ικανότητα μειώνεται και η μείωση αυτή συνεχίζεται και την ημέρα 2. Την ημέρα 3 η αντιοξειδωτική ικανότητα εμφανίζει μία αύξηση, όχι ιδιαίτερα μεγάλη και γι αυτό η μέτρηση είναι στατιστικά ίση με την ημέρα 2. Την ημέρα 4 η αντιοξειδωτική ικανότητα μειώνεται έντονα και εμφανίζει τη χαμηλότερη τιμή όπως αναφέρθηκε. Αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας παρατηρείται την ημέρα 8, η οποία συνεχίζεται την ημέρα 11 χωρίς όμως να εμφανίζεται κάποια στατιστική διαφορά. Τα δείγματα της ημέρας 11 εμφανίζουν έντονα μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα από τα δείγματα της ημέρας 0.

3.2.2.3. Συμπεριφορά δείγματος «Φυσικός Χυμός με θειώδη» κατά την αποθήκευση

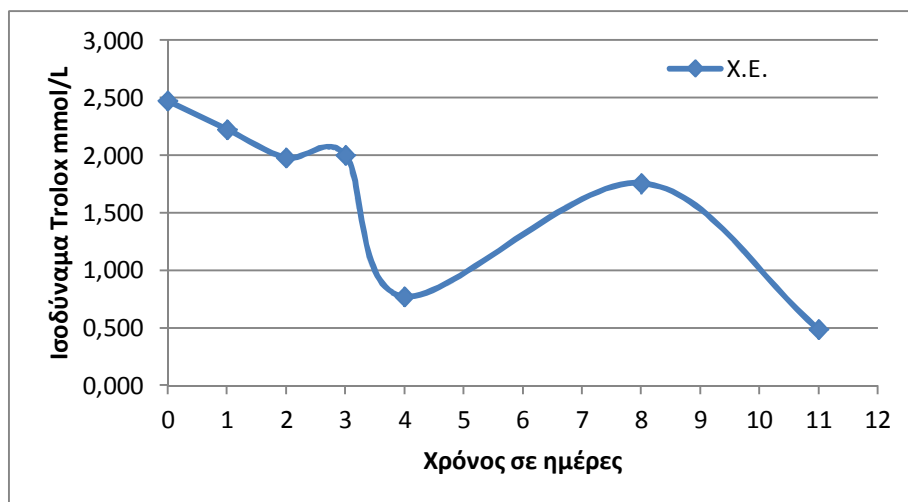
Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι στο δείγμα «Φυσικού Χυμού με θειώδη» η υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση παρατηρείται στα δείγματα της ημέρας 0, ενώ η μικρότερη της ημέρας 4. Την ημέρα 1 η αντιοξειδωτική ικανότητα μειώνεται. Στη συνέχεια τις ημέρες 2 και 3 οι μετρήσεις εμφανίζονται ελαφρώς αυξημένες σε σχέση με την ημέρα 1. Η αύξηση είναι τόσο μικρή που στατιστικά οι τιμές των ημερών 1, 2 και 3 εμφανίζονται ίσες. Την ημέρα 4 παρατηρείται απότομη μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Τις ημέρες 8 και 11 το δείγμα έδειξε μικρή σταδιακή αύξηση που όμως στατιστικά δεν είναι υπολογίσιμη και για αυτό οι μετρήσεις των δύο αυτών ημερών εμφανίζονται ως στατιστικά ίσες. Από την σύγκριση της ημέρας 0 με την ημέρα 11 προέκυψε πως την ημέρα 11 το δείγμα εμφανίζει αρκετά μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα.

3.2.2.4. Συμπεριφορά δείγματος «Χυμός Εμπορίου» κατά την αποθήκευση

Από τη στατιστική ανάλυση του δείγματος «Χυμός Εμπορίου» οι μετρήσεις βγήκανε ίσες μεταξύ τους από τον έλεγχο ANOVA αλλά ο έλεγχος Fisher έδειξε διαφοροποιήσεις. Η αντιοξειδωτική ικανότητα του δείγματος ήταν υψηλότερη την ημέρα 0. Την ημέρα 1 υπάρχει μία μείωση που συνεχίζεται και την ημέρα 2. Την ημέρα 3 παρατηρείται μία μικρή άνοδος την αντιοξειδωτικής ικανότητας που όμως είναι στατιστικά ίση με την μέτρηση της ημέρας 2. Την ημέρα 4 παρατηρείται μία έντονη πτώση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, όπως φαίνεται και στο **σχήμα 3.5**, η οποία ακολουθείται, την ημέρα 8, από μία έντονη άνοδο, όχι όμως τόσο έντονη ώστε να φτάσει στο επίπεδο της αντιοξειδωτικής ικανότητας των ημερών 2 και 3. Τέλος την ημέρα 11 παρατηρείται πάλι έντονη μείωση. Η αντιοξειδωτική ικανότητα του δείγματος «Χυμού Εμπορίου» την ημέρα 11 είναι σαφώς μικρότερη από την ημέρα 0.

Ο χυμός εμπορίου έχει δώσει τόσο χαμηλά αποτελέσματα αντιοξειδωτικής ικανότητας λόγω του ότι οι χυμοί εμπορίου από βύσσινο

βρίσκονται σε μορφή φρουτοποπού και η περιεκτικότητά του σε συμπυκνωμένο χυμό βύσσινο ήταν 20%.



Σχήμα 3. 5: Διάγραμμα αντιοξειδωτικής ικανότητας μετρούμενη σε συγκέντρωση ισοδύναμων Trolox mmol/L με το χρόνο του δείγματος «Χυμού Εμπορίου»

3.2.2.5. Σύγκριση όλων των δειγμάτων κατά την αποθήκευση εκτός του δείγματος «Χυμός Εμπορίου»

Την ημέρα 0 το δείγμα «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» εμφανίζει τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα, ακολουθεί το δείγμα «Φυσικός Χυμός με θειώδη» και τέλος το δείγμα «Φυσικός Χυμός» με τη μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα, η οποία είναι μάλιστα 3 φορές μικρότερη σε σχέση με τα άλλα δύο δείγματα. Η διαφορά αυτή φαίνεται έντονα και στο **διάγραμμα 3.5.** αλλά και στον **πίνακα 3.2** από την ομαδοποίηση των μετρήσεων. Η πολύ έντονη αυτή διαφορά των εμπλουτισμένων δειγμάτων πιθανόν οφείλεται στην προσθήκη των δύο ουσιών στο καθένα, στη βιταμίνη C και στα θειώδη.

Την ημέρα 1 τα δείγματα «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» και «Φυσικός Χυμός με θειώδη» εμφανίζουν μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, με του δεύτερου να είναι πιο έντονη. Αντίθετα το δείγμα «Φυσικός Χυμός» παρουσιάζει αύξηση.

Την ημέρα 2 τα δείγματα «Φυσικός Χυμός» και «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» παρατηρείται μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με αυτή του πρώτου να είναι ιδιαίτερα έντονη και να καταλήγει στη χαμηλότερη μέτρηση που παρατηρήθηκε κατά τη διάρκεια του πειράματος και στα τρία δείγματα με φυσικό χυμό. Η μέτρηση του δείγματος με βιταμίνη C είναι στατιστικά ίση με την μέτρηση του δείγματος «Φυσικός Χυμός με θειώδη», το οποίο δεν μεταβλήθηκε στατιστικά σε σχέση με την προηγούμενη μέτρηση.

Οι μετρήσεις των δειγμάτων «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» και «Φυσικός Χυμός με θειώδη» την ημέρα 3 παραμένουν στατιστικά ίσες με τις αντίστοιχες προηγούμενές τους και συνεχίζουν να είναι στατιστικά ίσα μεταξύ τους, ενώ στο δείγμα «Φυσικός Χυμός» παρατηρείται αύξηση συνεχίζοντας να παραμένει σε χαμηλότερα επίπεδα από τα άλλα δύο.

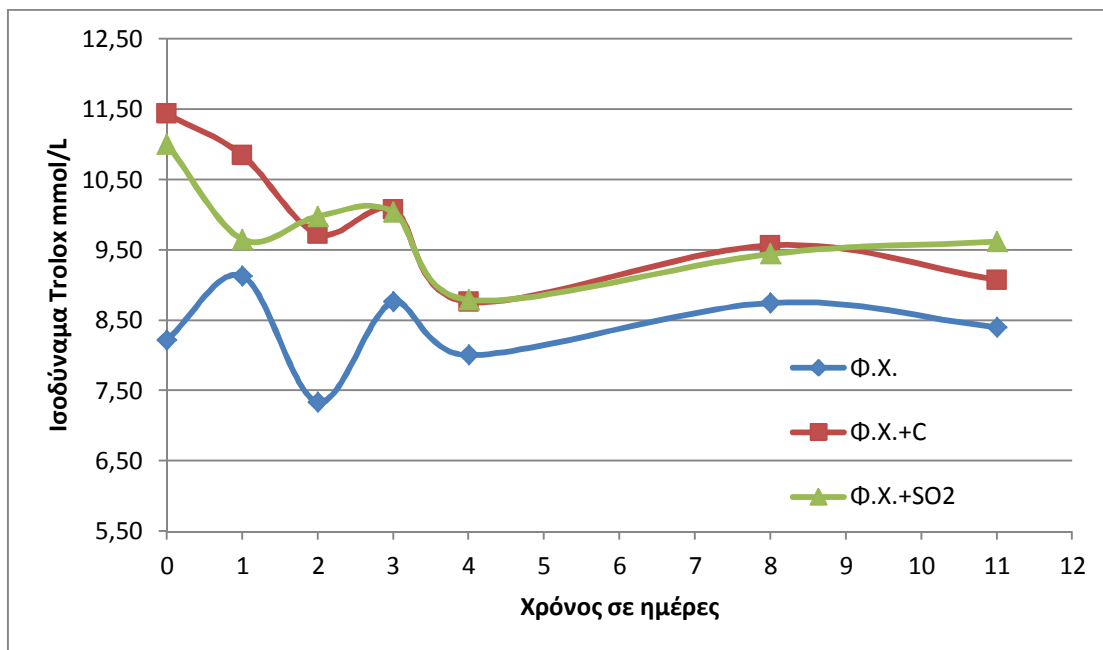
Τα δείγματα «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» και «Φυσικός Χυμός» με θειώδη φαίνεται ότι ακολουθούν την ίδια πορεία από την ημέρα 3, με στατιστικά ίσες τιμές συγκέντρωσης ισοδυνάμων Trolox mmol/L, έως την ημέρα 0 όπου το δείγμα με τα θειώδη παρουσιάζει μία αύξηση στην αντιοξειδωτική ικανότητα.

Τα δείγματα «Φυσικός Χυμός» και «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» από το διάγραμμα συγκεντρώσεων σε συνάρτηση με το χρόνο φαίνεται να ακολουθούν παράλληλες πορείες από την ημέρα 4 στην ημέρα 8. Αυτό επιβεβαιώνεται και από τη στατιστική ανάλυση.

Γενικά το δείγμα «Φυσικό Χυμός» εμφανίζει το μέγιστό του την ημέρα 1 και καταλήγει την τελευταία μέρα σε στατιστικά ίση μέτρηση με την αρχική ενώ τα άλλα δύο δείγματα εμφανίζουν το μέγιστό τους την ημέρα 0 και καταλήγουν σε συγκεντρώσεις μικρότερες από την αρχική.

Παρατηρούμε ακόμα πως τα δείγματα, που εμφανίζουν κοινή πορεία είναι του φυσικού χυμού με βιταμίνη C και του φυσικού χυμού με SO₂, καθώς προκύπτει πως τα δείγματα που έχουν την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση είναι αυτά της ημέρας 0 ενώ τη μικρότερη της ημέρας 4.

Τα δείγματα με προσθήκη βιταμίνης C και με προσθήκη θειωδών παρουσιάζουν σε όλη την πορεία του πειράματος αντιοξειδωτική ικανότητα μεγαλύτερη από αυτή του δείγματος σκέτου φυσικού χυμού.



Σχήμα 3. 6: Διάγραμμα αντιοξειδωτικής ικανότητας μετρούμενη σε συγκέντρωση ισοδύναμων Trolox mmol/L σε συνάρτηση με το χρόνο για τα δείγματα «Φυσικός Χυμό», «Φυσικός Χυμός με βιταμίνη C» και «Φυσικό Χυμό με θειώδη»

4. Συμπεράσματα

Ο εμπλουτισμός του φυσικού χυμού βύσσινου με βιταμίνη C και θειώδη, επιδρά θετικά στην περιεκτικότητα του φυσικού χυμού σε ολικά φαινολικά, καθώς την ημέρα εκκίνησης του πειράματος, τα δείγματα έδωσαν τιμές συγκέντρωσης στατιστικά μεγαλύτερες, 7,66 και 7,58 mmol ισοδύναμα γαλλικού οξέος/L αντίστοιχα, σε σχέση με το φυσικό χυμό βύσσινου που έδωσε τιμή συγκέντρωσης 7,06 mmol ισοδύναμα γαλλικού οξέος/L. Η θετική επίδραση διαπιστώθηκε και από την ημέρα λήξης του πειράματος καθώς τα εμπλουτισμένα δείγματα έδωσαν τιμές συγκέντρωσης στατιστικά μεγαλύτερες, 7,36 και 7,64 mmol ισοδύναμα γαλλικού οξέος/L αντίστοιχα, σε σχέση με τον φυσικό χυμό που έδωσε τιμή συγκέντρωσης 7,05 mmol ισοδύναμα γαλλικού οξέος/L.

Ο εμπλουτισμός του φυσικού χυμού βύσσινου με βιταμίνη C και θειώδη, επιδρά θετικά στην αντιοξειδωτική ικανότητα του φυσικού χυμού, καθώς την ημέρα εκκίνησης του πειράματος τα δείγματα έδωσαν τιμές συγκέντρωσης στατιστικά μεγαλύτερες, 11,44 και 11,01 mmol ισοδύναμα trolox/L αντίστοιχα, ενώ ο φυσικός χυμός βύσσινου έδωσε τιμή συγκέντρωσης 8,22 mmol ισοδύναμα trolox/L. Η θετική επίδραση φάνηκε και από την ημέρα λήξης του πειράματος καθώς τα εμπλουτισμένα δείγματα έδωσαν τιμές συγκέντρωσης στατιστικά μεγαλύτερες, 9,08 και 9,62 mmol ισοδύναμα trolox/L αντίστοιχα, σε σχέση με τον φυσικό χυμό με τιμή συγκέντρωσης 8,40 mmol ισοδύναμα trolox/L. Σε όλη την πειραματική διαδικασία οι τιμές συγκέντρωσης των εμπλουτισμένων χυμών ήταν στατιστικά μεγαλύτερες από τον μη εμπλουτισμένο φυσικό χυμό βύσσινου.

Η βιταμίνη C και τα θειώδη είναι οι παράγοντες που επαυξάνουν την σταθερότητα των ευπαθών στην οξειδωση βιταμινών και άλλων ενώσεων λόγω της ικανότητας τους να δεσμεύουν οξυγόνο και ελεύθερες ρίζες, γεγονός που καθιστά την προσθήκη τους στους χυμούς απαραίτητη, για να διατηρηθεί η αντιοξειδωτική ικανότητα των χυμών, ώστε με την κατανάλωση τους, να υπάρξει θετική συμβολή στην υγεία του ανθρώπινου οργανισμού, για όλους τους λόγους που προαναφέρθηκαν στην παρούσα πτυχιακή εργασία.

Ο χυμός εμπορίου έδωσε στατιστικά πολύ χαμηλότερες τιμές και στην περιεκτικότητα φαινολικών ενώσεων αλλά και στην αντιοξειδωτική ικανότητα. Αυτό οφείλεται στο ότι ο χυμός εμπορίου βύσσινο ήταν σε μορφή φρουτοποτού και περιείχε 20% μόνο συμπυκνωμένο χυμό βύσσινο. Παρόλα αυτά η συμπεριφορά του δείγματος αυτού ήταν εξαιρετικά σταθερή.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική βιβλιογραφία

- Αθήναιος Ναυκρατίτης, Αλεξιάδης Σ.Ι., **1949-1963**. Αθήναιου Δειπνοσοφισταί: αρχαίον κείμενον, εισαγωγή, μεταφράσεις, σημειώσεις. Εν Αθήναις Πάπυρος.
- Βαλαβανίδης Α, **2011**. Φυτοχημικές Ουσίες της Διατροφής με Αντιοξειδωτικές & Αντικαρκινικές Ιδιότητες, Προστατευτικός Ρόλος για Κακοήθεις Νεοπλασίες και Νευροεκφυλιστικές Παθήσεις. Αθήνα: Εκδόσεις Βήτα
- Βαλαβανίδης Α, **2006**. Ελεύθερες Ρίζες και ο Ρόλος τους στα Βιολογικά Συστήματα Αθήνα: Εκδόσεις Βήτα
- Βασιλακάκης Μ, Θεριός, Ι., **1990**. Μαθήματα Ειδικής Δενδροκομίας Φυλλοβόλα Οπωροφόρα Δέντρα. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Αίβαζή
- Βασιλακάκης Μ, **1991**. Στοιχεία Γενικής και Ειδικής δενδροκομίας. Θεσσαλονίκη: Γραφικές Τέχνες Γ. Μ. Δεδούσης
- Βασιλακάκης Μ, **2010**. Γενική και Ειδική Δενδροκομία. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Γαρταγάνη
- Βαφοπούλου Α- Μαστρογιαννάκη, **2003**. Βιοχημεία τροφίμων Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις ΖΗΤΗ
- Γαλανοπούλου Ν, Ζαμπετάκης Γ, Μαύρη Μ, Σιαφάκα Α, **2007**. Διατροφή και χημεία τροφίμων, Αθήνα: Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης
- Θεόφραστος, **1916** Historia plantarum, vol.2, Harvard University Press
- Ζαχαρόπουλος Ι, **1997**. Δενδροκομία Δεντροτεχνική Γενική και Ειδική. Θεσσαλονίκη Εκδόσεις Ψυχαλού
- Καλογιάννης Σ. **2012** Εισαγωγή στη Βιοχημεία. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις ΑΤΕΙΘ.
- Κατσίκας Χ, **2004**. Βιοχημεία Ι. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις ΑΤΕΙΘ.
- Κεφαλάς Π, **2010**. Εργαστηριακές Ασκήσεις Χημείας και Ανάλυσης Τροφίμων, Θεσσαλονίκη ΤΕΙΘ

- Κυρανάς Ε, 2011. Λειτουργικές Ιδιότητες Νερού, Πρωτεϊνών, Σακχάρων, Λιπιδίων & Φυσικών Χρωστικών Επίδραση στην Ποιότητα & τη Θρεπτική αξία των τροφίμων. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Τζιόλα.
- Κυρανάς Ε, 2012. Πρόσθετα Τροφίμων και Νομοθεσία. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Τζιόλα.
- Μανιός Γ, Δημητρίου ΑΝ, Ελισάφ Μ, Καφάτος Α, Κοροβέση Π, Κρανίου Γ, Λυρίτης Γ, Μηλιώνης Χ, Μοσχώνης Γ, Μπιτσώρης Γ, Μπιτσώρη Μ, Ντετοπούλου Β, Παναγιωτάκος Δ, Παπαδημητρίου Λ, Παπαδόπουλος Ν, Πίτσαβος Χ, Σκενδέρη ΑΠ, Σκουρολιάκου Μ, Τροβάς Γ, Φαρατζιάν Π, 2006. Διατροφική Αξιολόγηση: Διαιτολογικό & Ιατρικό Ιστορικό, Σωματομετρικοί Κλινικοί & Βιοχημικοί Δείκτες. Αθήνα Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης.
- Μόρτογλου Τ, Μόρτογλου Κ, 2002. Διατροφή από το σήμερα για το αύριο Αθήνα Εκδόσεις Γιαλλελή.
- Μπόσκου 2004. Χημεία Τροφίμων Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Γαρταγάνη
- Παπαγεωργίου ΓΕ, 2005. Βιοχημεία Ελευθέρων Ριζών Αντιοξειδωτικά και Λιπιδική Υπεροξειδάση Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις University Studio Press
- Παπανικολάου Γ, 2009. Σύγχρονη Διατροφή και Διαιτολογία, Βασικοί κανόνες διατροφής και δίαιτας για όλες τις ηλικίες. Δίαιτες για όλες τις παθήσεις. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Θυμάρι.
- Πετρίδης Δ, 2000. Εφαρμοσμένη Στατιστική Θεσσαλονίκη Όμηρος εκδοτική
- Πλίνιος ο Πρεσβύτερος: Πλίνιος, 1967 Naturalis Historia, Schneider Otto, G. Olms
- Φουρτουνόπουλος Δ, 2004. Επιστήμη Τροφίμων II. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Τ.Ε.Ι.Θ.

Ξένη βιβλιογραφία

- Abneth CC, Qiao YL, Dawsey SM, Buckman DW, Yang CS, Blot WJ, Dong ZW, Taylor PR, Mark SD, **2003**. Prospective study of serum retinol, beta-carotene, beta-cryptoxanthin, and lutein/zeaxanthin and esophageal and gastric cancers in China. *Cancer Causes Control* 14:645-655.
- Belitz H-D, Grosch W, Schieberle P, **2011**. Χημεία τροφίμων. Θεσσαλονίκη Εκδόσεις Τζιόλα
- Berg P.A., Daniel P.T., **1988**. Plant flavonoids in Biology and Medicine II. Progress in clinical and biological research. New York; 280:171-157
- Berstein PS, Khachik F, Carvalho LS, Myir GJ, Zhao DY, Katz NB, **2001**. Identification and quantitation of carotenoids and their metabolites in the tissues of the human eye. *Exp Eye Res* 72:215-223
- Biesalski H, K, Grimm P, **2008**. Εγχειρίδιο Διατροφής. Αθήνα. Εκδόσεις Πασχαλίδης.
- Biodoli E, La Vecchia C, Talamini R, Negri E, Parpinel M, Conti E, Montella M, Carbone MA, Franceschi S, **2011**. Micronutrients and ovarian cancer:a case-control study in Italy.*Am Oncol* 12:1589-1593
- Bone RA, Landrum JT, Guerra LH, Ruiz CA, **2003**. Lutein and zeaxanthin dietary supplements raise macular pigment density and serum concentrations of these carotenoids in humans. *J Nutr* 133:992-998
- Boskou D, **2006**. Sources of natural phenolic antioxidants. *Food Science and Technology*. 17(9):505-512.
- Budzisz E, Brzezinska E, Krajeewska U, Rozalski M, **2003**. Cytotoxic Effects, Alkylating Properties and Molecular Modelling of Coumarin Derivatives and Their Phosphonic Analogues. *Eur. J. Med. Chem.* 38:603-597
- Chew BP, Brown CM, Park JS, Mixter PF, **2003**. Dietary lutein inhibits mouse mammary tumor growth by regulating angiogenesis and apoptosis. *Anticancer Res* 23:3333-3339
- Chung KT, Wong TY, Wei CI, Huang YW, Lin Y, **1998**. Tannins and human health: a review. *Crit Rev Food Sci* 38(6):421-464.
- Curran- Celentano J, Hammond Jr BR, Ciulla TA, Cooper DA, Pratt LM, Danis RB, **2001**. Relation Between dietary intake, serum concentrations,

and retinal concentrations of lutein and zeaxanthin in adults in a Midwest population. *Am J Clin Nutr* 74:796-802

- D'Archivio M, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C, Masella R, **2007**. Polyphenols dietary sources and bioavailability. *Am Ist Super Sanita* 43(4):348-361.
- Doenecke D, Koolman J, Fuchs G, Gerok W, **2012**. Βιοχημεία και Παθοβιοχημεία. Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας
- Duthie G, **1999**. Determination of activity antioxidants in human subjects. *Proceedings of the Nutrition Society*, 58: 1050-1024
- Federica Blando, Carmela Gerardi and Isabella Nicoletti, **2004**. Sour Cherry (*Prunus cerasus* L) Anthocyanins as Ingredients for Functional Foods, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 1; 2004(5): 253-258.
- Franceschi S, Bidoli E, Negri E, Zambon P, Talamini R, Ruol A, Parpinel M, Levi F, Simonato L, La Vecchia C, **2000**. Role the aetiology of squamous-cell carcinoma of the oesophagus. *Int J Cancer* 86:626-631
- Frei B, England L, Ames BN, **1989**. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:6377-6381
- Fuhrman B and Aviram M, **2002**. Polyphenols and Flavonoids Protect LDL Against Atherogenic Modifications, *Handbook of Antioxidants*, 2nd Edition, Marcel Dekker Inc., USA, p.312
- Gale CR, hall NF, Phillips DIW, Martyn CN, **2003**. Lutein and zeaxanthin status and risk of age - related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 44:2461-2465
- Galli C & Visioli F, Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil, **2002**. *Med Res Rev* 22:6S-7S
- Gerschman R, Gilbert DL, Nye SW, Dwyer P, Fenn WO, **1954** Oxygen poisoning and x-irradiation-A mechanism in common. *Science*. 119:623-626
- Gershwin ME, Nestel P, Keen CL, **2008**. Εγχειρίδιο Διατροφής και Ανοσίας. Αθήνα. Επιστημονικές εκδόσεις Παρισιάνου

- Gibney M,J, Ellia M, Ljungqvist O, Dowsett J, **2010**. Κλινική Διατροφή, Αθήνα, Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε.
- Gibney MJ, Vorster HH, Kok FJ, **2007** Εισαγωγή στη Διατροφή του Ανθρώπου. Αθήνα: Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε.
- Gropper SS, Smith JL, Groff JL, **2005**. Advanced and human Metabolism 4th edition, Wadsworth Publishing
- Gross MD, Bishop TD, Belcher JD, Jacobs Jr DR, **1997**. Induction of HL-60 cell differentiation by carotenoids. *Nutr Cancer* 27:160-173
- Hadi SM, Bhat S, Azmi AS, Hanif S, Shamim U, Ullah MF, **2007**. Oxidative breakage of cellular DNA by plant polyphenols: A putative mechanism for anticancer properties. *Seminars in Cancer Biology*. 17(5):370-376
- Haegel AD, Gillette C, O' Neill C, Wolfe P, Heimendinger J, Sedlacek S, Thompson HJ, **2000**. Plasma xanthophyll carotenoids correlate inversely with indices of oxidative DNA damage and lipid peroxidation. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 9:421-425
- Halvorsen BL, Holte K, Myhrstad MC, Barikmo I, Hvattum E, Remberg SF, Wold AB, Haffner K, Baugerød H, Andersen LF, Moskaug O, Jacobs DR Jr, Blomhoff R., **2002** A systematic screening of total antioxidants in dietary plants, *J Nutr*. 132(3):461-71
- Hammond Jr BR, Johnson EJ, Russel RM, Krinsky NI, Yeum KJ, Edwards RB, Snodderly DM, **1997**. Dietary modification of human macular pigment density. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38: 1795-1801
- Hammond BR, Wooten BR, Snodderly DM, **1998**. Preservation of visual sensitivity of older subjects: association with macular pigment density. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39:397-406
- Han X, Shen T, Lou H, **2007**. Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *Int J Mol Sci* 8:950-988.
- Heim KE, Tagliaferro AR, & Bobilya DJ, **2002**. Flavonoid antioxidants: chemistry metabolism and structure-activity relationships. *Journal of nutritional Biochemistry*. 13:572-584.

- Jacobson EA, Newmark H, Baptista J, Bruce WR, **1983**. A preliminary investigation of the metabolism of dietary phenolics in humans. *Nutr Rep Int* 28:1409-1418
- Jain MG, Rohan TE, Howe GR, Mille AB, **2000**. A cohort study of nutritional factors and endometrial cancer. *Eur J Epidemiol* 16:889-905
- Johnson EJ, Hammond BR, Yeum KJ, Qin J, Wang XD, Castaneda C, Snodderly DM, Russell RM, **2000**. Relation among serum and tissue concentrations of lutein and zeaxanthin and macular pigment. *Am J Clin Nutr* 71:1555-1562
- Jynouchi H, Zhang L, Gross MP, Tomita Y, **1994**. Immunomodulating actions of carotenoids: enhancement of in vivo and in vitro antibody production to T- dependent antigens. *Nutr Cancer* 21:47-58
- Khachik F, Bernstein PS, Garland DL, **1997**. Identification of Lutein and Zeaxanthin oxidation products in human and monkey retinas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38:1802-1811
- Kondo K, Hirano R, Matsumoto A, Igarashi O, Hakura H, **1996**. Inhibition of LDL oxidation by cocoa. *Lancet* 344:193-194.
- Krinsky NI, Landrum JT, Bone RA, **2003**. Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. *Am Rev Nutr* 23:171-201
- Manach C, Morand C, Texier O, Favier ML, Agullo G, Demigne C, et al, **1995**. Quercetin metabolites in plasma of rats fed diets containing rutin or quercetin. *J Nutr* 298:659-60.
- Lambert JD, Hong J, Yang G, Liao J & Yang CS, **2005**. Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 284- 291
- Lemos VS, Freitas MR, Muller B, Lino YD, Cortes SF, **1999**. Dioclein a new nitric- oxide - and endothelium - dependent vasodilator flavonoid. *Eur J Pharmacol* 386:41-46.
- Lule SU, Xia W, **2005**. Food Phenolics, Pros and Cons: A Review. *Food Reviews International*, 21 (4) 366-389.

- Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jimenez L, **2004**. Polyphenols: Food Sources and Bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79: 727-747.
- Nijveldt, R.J. van Nood, E. van Hoorn, D.E.C., Boelens, P.G., van Norren, K., van Leeuwen, P.A.M. **2001**. Flavonoids, a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*, 74, 418-425
- Nomura AM, Lee J, Sttemmermann GN, Franke AA, **2003**. Serum vitamins and the subsequent risk of bladder cancer. *J Urol* 170:1146-1150
- Pokorny J, **2007**. Are natural antioxidants better-and safer-than synthetic antioxidants? *Eur J Lipid Sci Technol* 109:629-642.
- Rotonclo S, De Gaetano G, **2000**. Protection from cardiovascular disease by wine and its derived products. *Epidemiological evidence and biological mechanisms. World Rev Nutr Diet* 87:90-113
- Scalbert A, Williamson G, **2000**. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition* 130(8S):2073S-2085S.
- Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C, Jimenez L, **2005**. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr* 45:287-306
- Spencer JP, **2010**. Beyond antioxidants: the cellular and molecular interactions of flavonoids and how these underpin their actions on the brain. 112:1415-1430
- Stampfer MJ, Willett WC, **1999**. Relation of consumption of vitamin E, vitamin C, and carotenoids to risk for stroke among men in the United States. *Am Intern Med* 130:963-970
- Son TG, Camandola S, Mattson MP, **2008**. Hormetic dietary phytochemicals. *Neuromolecular Med* 10:236-246
- Sumantran VN, Zhang R, Lee DS, Wicha MS, **2000**. Differential regulation of apoptosis in normal versus transformed mammary epithelium by lutein and retinoic acid. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9:257-263

- Tsuda T, Horio F, Aoki K, Osawa T, **2003**. Dietary cyaniding 3-O-b-d-glucoside- rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *Journal of Nutrition* 133, 2125-2130
- Vita JA, **2005**. Polyphenols and cardiovascular disease: effects on endothelial and platelet function. *American Journal of Clinical Nutrition*. 81, 292S-297S
- Vollhardt P, Schore N, **2012**. Οργανική Χημεία Δομή και λειτουργικότητα Τομος Α Θεσσαλονίκη: Εκδοτικός Οίκος Αδελφών Κυριακίδη Α.Ε.
- Yarnell N,D, and Abascal K, **2009**. Plant Coumarins: Myths and Realities. *Alternative and Complementary Therapies*. 15(1):24-30
- Yuan JM, Gago-Dominguez M, Castelao JE, Hankin JH, Ross RK, Yu M, **1998**. Cruciferous vegetables in relation to renal cell carcinoma. *Int J Cancer* 77:211-216
- Young IS & Woodside JV, **2001**. Antioxidants in Health and Disease. *Journal of Clinical Pathology*. 54:176-186
- Zhang LX, Cooney RV, Bertam JS, **1991**. Carotenoids enhance gap junctional communication an inhibit lipid peroxidation in C3H/ 10T1/2 cells: relationship to their cancer chemo preventive action. *Carcinogenesis* 12:2109-2114

Ηλεκτρονικές πηγές:

- Soo-Young Kanga, Navindra P. Seeramb, Muraleedharan G. Nairb, Leslie D. Bourquin, Tart cherry anthocyanins inhibit tumor development in ApcMin mice and reduce proliferation of human colon cancer cells, 1
- <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304383502005839>
- Kuehl KS, Perrier ET, Elliot DL, Chesnutt JC., Efficacy of tart cherry juice in reducing muscle pain during running: a randomized controlled trial., <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2874510/>
- Robert A. Jacob, Giovanna M. Spinozzi, Vicky A. Simon, Darshan S. Kelley, Ronald L. Prior, Betty Hess-Pierce and Adel A. Kader.,

- Consumption of Cherries Lowers Plasma Urate in Healthy Women,
<http://jn.nutrition.org/content/133/6/1826>
- The RED report: THE SCIENCE BEHIND TART CHERRIES,
http://www.choosecherries.com/pdfs/cherries_FINAL_Red_Report.pdf
 - USDA (United States Department of Agriculture, National Nutrient Database for Standard Reference, Release 25, Nutrient data for 09063, Cherries, sour, red, raw,
<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2195?fg=&man=&facet=&count=&max=&sort=&qlookup=&offset=&format=Full&new>
 - Βικιπαίδεια, η ελεύθερη εγκυκλοπαίδεια. Κατηγορία Βιταμίνη, 2013 Βιταμίνη C, Βικιπαίδεια. <http://el.wikipedia.org/wiki/Βιταμίνη> (Accessed, 13 Φεβρουαρίου 2013)
 - Βικιπαίδεια, η ελεύθερη εγκυκλοπαίδεια. Δομή φαινόλης
<http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A6%CE%B1%CE%B9%CE%BD%CF%8C%CE%BB%CE%B7> (Accessed 13 December 2012)
 - Βικιπαίδεια, η ελεύθερη εγκυκλοπαίδεια. Θείο Κατηγορία: χαρακτηριστικά, 2013
<http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%98%CE%B5%CE%AF%CE%BF#.CE.A7.CE.B1.CF.81.CE.B1.CE.BA.CF.84.CE.B7.CF.81.CE.B9.CF.83.CF.84.CE.B9.CE.BA.CE.AC>
 - Βικιπαίδεια, η ελεύθερη εγκυκλοπαίδεια, 2003 Paracelsus Κατηγορία Philosophy <http://en.wikipedia.org/wiki/Paracelsus> (Accessed 6 February 2013)
 - Βικιπαίδεια, η ελεύθερη εγκυκλοπαίδεια. Κατηγορία “Jābir ibn Hayyān» theories http://en.wikipedia.org/wiki/Jābir_ibn_Hayyān#Theories (Accessed 28 January 2013)
 - Ειδικό αφιέρωμα για το έτος Χημείας 2011 «ΣΥΝΤΟΜΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΜΕΡΙΚΟΙ ΑΠΟ ΤΟΥΣ ΚΥΡΙΟΤΕΡΟΥΣ ΣΤΑΘΜΟΥΣ ΤΗΣ ΕΞΕΛΙΞΗΣ ΤΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ» Κατηγορία: Ιστορία της Χημείας στις Ισλαμικές Χώρες και Αλχημεία. Επιμέλεια σελίδας: Θανάσης Βαλαβανίδης, Καθηγητής - Κωνσταντίνος Ευσταθίου, Καθηγητής
http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_history.htm

6. Παράρτημα

Μέθοδος Folin-Ciocalteu

Πίνακας 6. 1: Απορροφήσεις των δειγμάτων στα 760nm στη μέθοδο Folin-Ciocalteu τις ημέρες 0, 1, 2, 3, 4, 8 & 11.

	Δείγμα	1	2	3	4
Ημέρα 0	Φυσικός Χυμός	0,844	0,827	0,820	0,850
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,913	0,894	0,911	0,911
	Φ.Χ. με SO ₂	0,877	0,924	0,922	0,870
	Χυμός Εμπορίου	1,425	1,419	1,395	1,403
Ημέρα 1	Φυσικός Χυμός	0,788	0,788	0,791	0,782
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,844	0,794	0,827	0,876
	Φ.Χ. με SO ₂	1,047	1,085	1,053	1,016
	Χυμός Εμπορίου	1,273	1,264	1,396	1,355
Ημέρα 2	Φυσικός Χυμός	0,868	0,855	0,853	0,864
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,912	0,896	0,898	0,910
	Φ.Χ. με SO ₂	0,900	0,916	0,931	0,911
	Χυμός Εμπορίου	1,389	1,421	1,421	1,436
Ημέρα 3	Φυσικός Χυμός	0,975	0,945	0,953	0,928
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,929	0,923	0,885	0,942
	Φ.Χ. με SO ₂	0,930	0,900	0,907	0,890
	Χυμός Εμπορίου	1,392	1,467	1,465	1,476
Ημέρα 4	Φυσικός Χυμός	0,834	0,801	0,850	0,833
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,869	0,885	0,857	0,869
	Φ.Χ. με SO ₂	0,896	0,878	0,891	0,851
	Χυμός Εμπορίου	1,349	1,373	1,335	1,347
Ημέρα 8	Φυσικός Χυμός	0,841	0,835	0,824	0,835
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,831	0,862	0,839	0,883
	Φ.Χ. με SO ₂	0,863	0,864	0,891	0,875
	Χυμός Εμπορίου	1,320	1,312	1,318	1,311
Ημέρα 11	Φυσικός Χυμός	0,819	0,847	0,838	0,834
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,871	0,872	0,882	0,863
	Φ.Χ. με SO ₂	0,916	0,894	0,885	0,927
	Χυμός Εμπορίου	1,354	1,355	1,352	1,357

Πίνακας 6. 2: Συγκεντρώσεις των δειγμάτων εκφρασμένες σε mmole ισοδύναμα Γαλλικού οξέος/L στη μέθοδο Folin-Ciocalteu τις ημέρες 0, 1, 2, 3, 4, 8 & 11.

	Δείγμα	1	2	3	4
Ημέρα 0	Φυσικός Χυμός	0,7133	0,6992	0,6934	0,7182
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,7705	0,7547	0,7688	0,7688
	Φ.Χ.με SO ₂	0,7406	0,7796	0,7779	0,7348
	Χυμός Εμπορίου	1,1949	1,1899	1,1700	1,1767
Ημέρα 1	Φυσικός Χυμός	0,6668	0,6668	0,6693	0,6619
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,7133	0,6718	0,6992	0,7398
	Φ.Χ.με SO ₂	0,8815	0,9130	0,8865	0,8558
	Χυμός Εμπορίου	1,0689	1,0614	1,1709	1,1369
Ημέρα 2	Φυσικός Χυμός	0,7332	0,7224	0,7207	0,7298
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,7696	0,7564	0,7580	0,7680
	Φ.Χ.με SO ₂	0,7597	0,7729	0,7854	0,7688
	Χυμός Εμπορίου	1,1651	1,1916	1,1916	1,2040
Ημέρα 3	Φυσικός Χυμός	0,8219	0,7970	0,8036	0,7829
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,7837	0,7787	0,7472	0,7945
	Φ.Χ.με SO ₂	0,7845	0,7597	0,7655	0,7514
	Χυμός Εμπορίου	1,1675	1,2297	1,2281	1,2372
Ημέρα 4	Φυσικός Χυμός	0,7050	0,6776	0,7182	0,7041
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,7340	0,7472	0,7240	0,7340
	Φ.Χ.με SO ₂	0,7564	0,7414	0,7522	0,7191
	Χυμός Εμπορίου	1,1319	1,1518	1,1203	1,1302
Ημέρα 8	Φυσικός Χυμός	0,7108	0,7058	0,6967	0,7058
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,7025	0,7282	0,7091	0,7456
	Φ.Χ.με SO ₂	0,7290	0,7298	0,7522	0,7390
	Χυμός Εμπορίου	1,1079	1,1012	1,1062	1,1004
Ημέρα 11	Φυσικός Χυμός	0,6925	0,7157	0,7083	0,7050
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,7356	0,7365	0,7448	0,7290
	Φ.Χ.με SO ₂	0,7729	0,7547	0,7472	0,7821
	Χυμός Εμπορίου	1,1360	1,1369	1,1344	1,1385

Πίνακας 6. 3: Συγκεντρώσεις αρχικών δειγμάτων (πριν την αραίωση) για την μέθοδο Folin-Ciocalteu εκφρασμένες σε mmole ισοδύναμα Γαλλικού Οξέος /L.1

	Μέρα 0	Μέρα 1	Μέρα 2	Μέρα 3	Μέρα 4	Μέρα 8	Μέρα 11
Φυσικός Χυμός	7,06	6,66	7,27	8,01	7,01	7,05	7,05
Φ.Χ. με Βιτ C	7,66	7,06	7,63	7,76	7,35	7,21	7,37
Φ.Χ. με SO₂	7,58	8,84	7,72	7,65	7,42	7,38	7,64
Χυμός Εμπορίου	1,18	1,11	1,19	1,22	1,13	1,10	1,18

Μέθοδος DPPH

Πίνακας 6. 4: Απορροφήσεις των δειγμάτων στα 517nm στη μέθοδο DPPH τις ημέρες 0, 1, 2, 3, 4, 8 & 11

	Δείγμα	1	2	3	4
Ημέρα 0	Φυσικός Χυμός	0,241	0,245	0,207	0,235
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,102	0,104	0,106	0,107
	Φ.Χ.με SO ₂	0,141	0,124	0,119	0,112
	Χυμός Εμπορίου	0,338	0,357	0,327	0,330
Ημέρα 1	Φυσικός Χυμός	0,196	0,209	0,209	0,189
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,178	0,146	0,124	0,126
	Φ.Χ.με SO ₂	0,185	0,181	0,184	0,182
	Χυμός Εμπορίου	0,390	0,348	0,361	0,361
Ημέρα 2	Φυσικός Χυμός	0,261	0,288	0,282	0,284
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,172	0,130	0,202	0,168
	Φ.Χ.με SO ₂	0,164	0,173	0,159	0,179
	Χυμός Εμπορίου	0,381	0,390	0,397	0,399
Ημέρα 3	Φυσικός Χυμός	0,231	0,206	0,213	0,174
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,186	0,166	0,174	0,137
	Φ.Χ.με SO ₂	0,157	0,176	0,214	0,165
	Χυμός Εμπορίου	0,406	0,337	0,385	0,360
Ημέρα 4	Φυσικός Χυμός	0,267	0,240	0,241	0,251
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,221	0,235	0,220	0,215
	Φ.Χ.με SO ₂	0,216	0,231	0,215	0,220
	Χυμός Εμπορίου	0,528	0,509	0,530	0,525
Ημέρα 8	Φυσικός Χυμός	0,235	0,210	0,207	0,163
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,221	0,237	0,181	0,171
	Φ.Χ.με SO ₂	0,208	0,198	0,170	0,160
	Χυμός Εμπορίου	0,430	0,427	0,398	0,408
Ημέρα 11	Φυσικός Χυμός	0,235	0,220	0,243	0,232
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,208	0,199	0,230	0,199
	Φ.Χ.με SO ₂	0,190	0,180	0,180	0,170
	Χυμός Εμπορίου	0,563	0,549	0,545	0,560

Πίνακας 6. 5: Συγκεντώσεις των δειγμάτων σε mmole ισοδύναμα Trolox/L στη μέθοδο DPPH τις ημέρες 0, 1, 2, 3, 4, 8 & 11

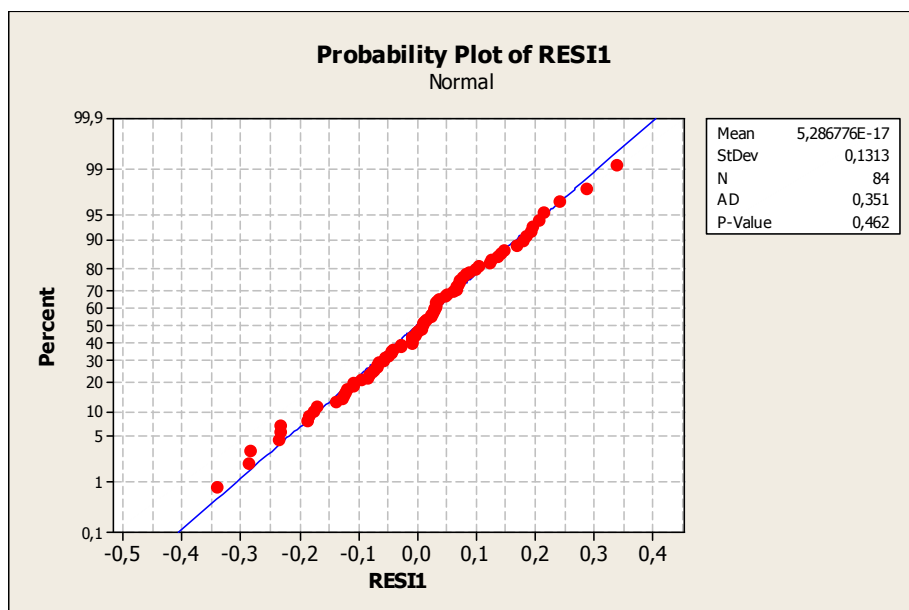
		1	2	3	4
Ημέρα 0	Φυσικός Χυμός	0,3283	0,3246	0,3595	0,3338
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,4614	0,4596	0,4578	0,4568
	Φ.Χ.με SO ₂	0,4247	0,4403	0,4449	0,4513
	Χυμός Εμπορίου	0,2474	0,2300	0,2575	0,2548
Ημέρα 1	Φυσικός Χυμός	0,3696	0,3576	0,3576	0,3760
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,3916	0,4210	0,4412	0,4394
	Φ.Χ.με SO ₂	0,3843	0,3880	0,3852	0,3870
	Χυμός Εμπορίου	0,1997	0,2382	0,2263	0,2263
Ημέρα 2	Φυσικός Χυμός	0,3099	0,2851	0,2906	0,2888
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,3971	0,4357	0,3696	0,4008
	Φ.Χ.με SO ₂	0,4036	0,3953	0,4082	0,3898
	Χυμός Εμπορίου	0,2079	0,1997	0,1932	0,1914
Ημέρα 3	Φυσικός Χυμός	0,3374	0,3604	0,3540	0,3898
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,3843	0,4026	0,3953	0,4293
	Φ.Χ.με SO ₂	0,3925	0,3576	0,4026	0,4100
	Χυμός Εμπορίου	0,850	0,2483	0,2043	0,2272
Ημέρα 4	Φυσικός Χυμός	0,3044	0,3292	0,3283	0,3191
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,3521	0,3393	0,3530	0,3576
	Φ.Χ.με SO ₂	0,3558	0,3420	0,3567	0,3521
	Χυμός Εμπορίου	0,0729	0,0904	0,0711	0,0757
Ημέρα 8	Φυσικός Χυμός	0,3338	0,3567	0,3595	0,3999
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,3521	0,3981	0,3889	0,3374
	Φ.Χ.με SO ₂	0,3632	0,3723	0,3981	0,4072
	Χυμός Εμπορίου	0,1629	0,1657	0,1923	0,1831
Ημέρα 11	Φυσικός Χυμός	0,3338	0,3475	0,3264	0,3365
	Φ.Χ. με Βιταμίνη C	0,3641	0,3723	0,3439	0,3723
	Φ.Χ.με SO ₂	0,3797	0,3889	0,3889	0,3981
	Χυμός Εμπορίου	0,0408	0,0536	0,0573	0,0435

Πίνακας 6. 6: Συγκεντρώσεις αρχικών δειγμάτων (πριν την αραίωση) για την μέθοδο DPPH εκφρασμένες σε mmole ισοδύναμα Trolox /L.

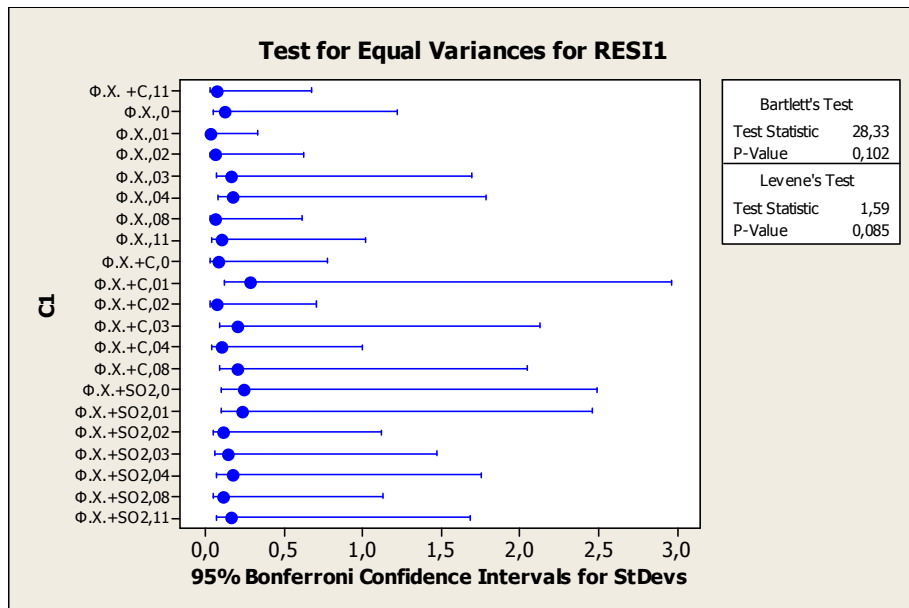
	Ημέρα 0	Ημέρα 1	Ημέρα 2	Ημέρα 3	Ημέρα 4	Ημέρα 8	Ημέρα 11
Φυσικός Χυμός	8,22	9,13	7,34	8,76	8,01	8,75	8,40
Φ.Χ. με Βιτ. C	11,44	10,85	9,73	10,09	8,76	9,57	9,08
Φ.Χ. με SO₂	11,01	9,65	9,98	10,04	8,79	9,45	9,62
Χυμός Εμπορίου	2,47	2,22	1,98	2,00	0,78	1,76	0,48

6.1 Μέθοδος Folin-Ciocalteu

6.1.1 Σύγκριση όλων των δειγμάτων εκτός του Χυμού Εμπορίου.

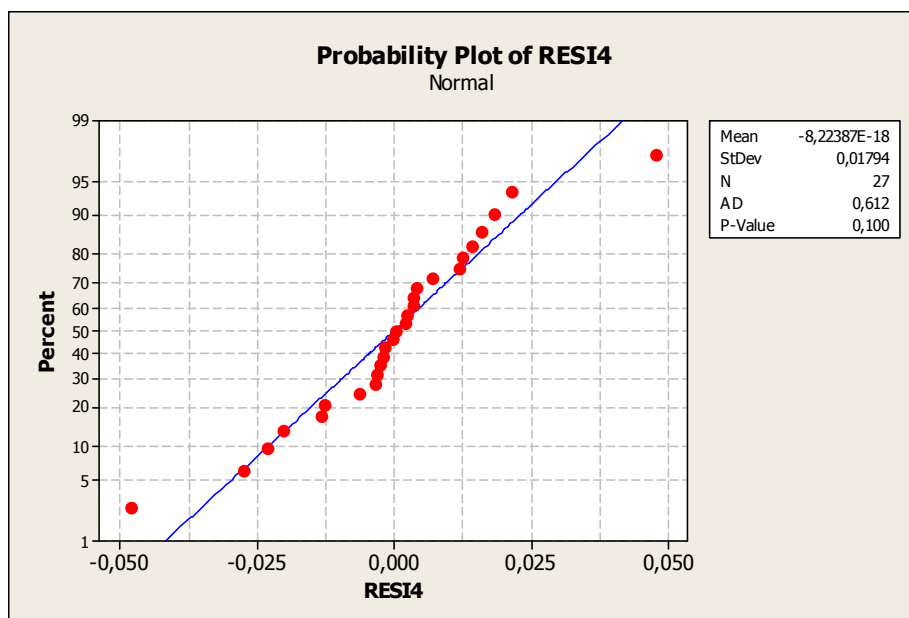


Σχήμα 6. 1: Διάγραμμα ελέγχου κανονικότητας Anderson-Darling στα υπολείμματα του ελέγχου Απονα για τα δείγματα «Φυσικός Χυμός», «Φυσικός Χυμός με Βιταμίνη C» και «Φυσικός Χυμός με Θειώδη» για τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

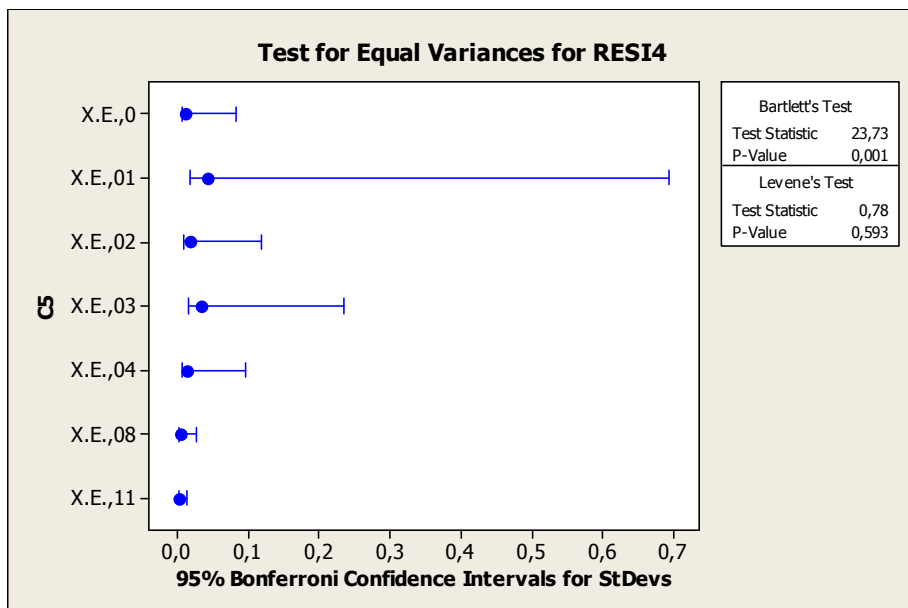


Σχήμα 6. 2: Έλεγχος για ίσες διακυμάνσεις στα υπολείμματα από το Ανονα για τα δείγματα «Φυσικός Χυμός», «Φυσικός Χυμός με Βιταμίνη C» και «Φυσικός Χυμός με Θειώδη» για τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

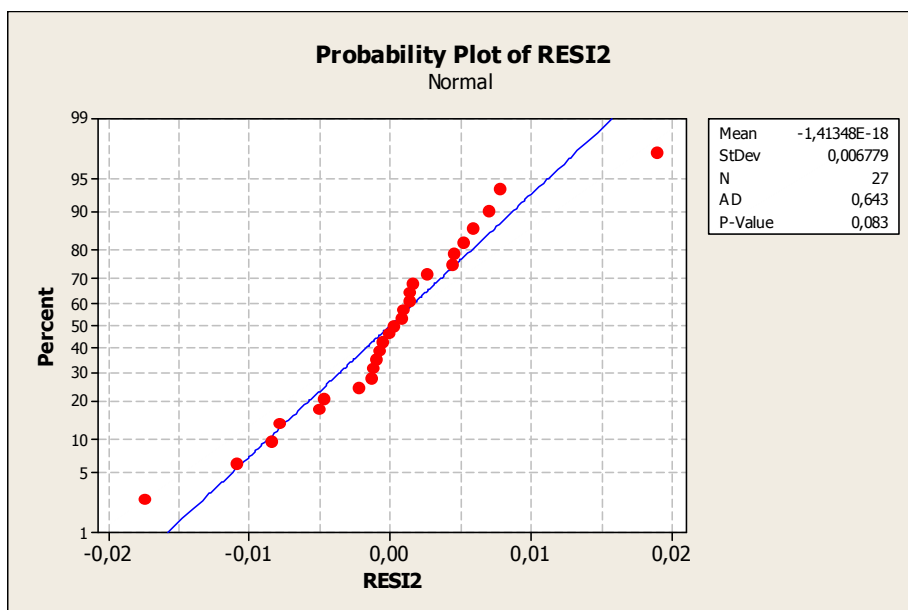
6.1.2 Συμπεριφορά δείγματος «Χυμός Εμπορίου» (Χ.Ε.) κατά την αποθήκευση



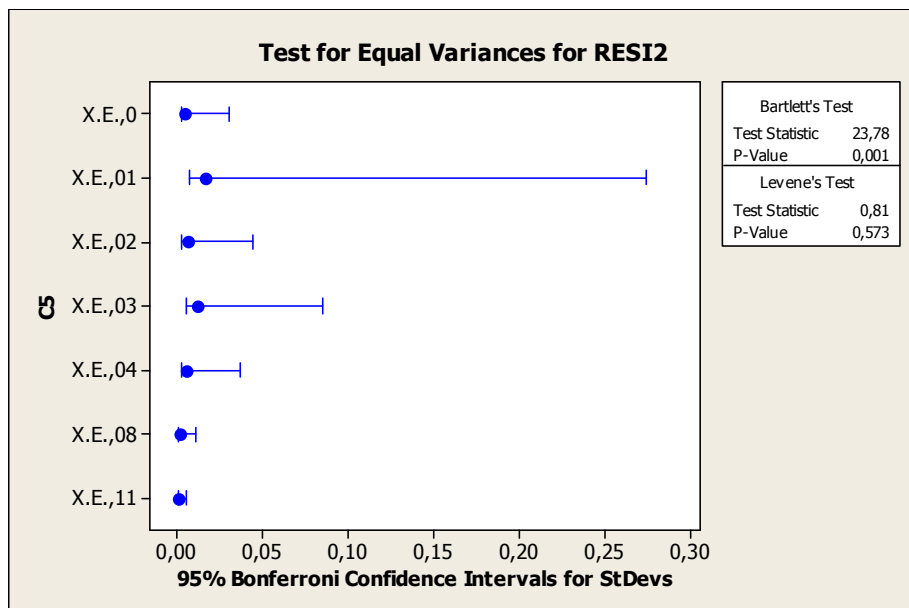
Σχήμα 6. 3: Διάγραμμα ελέγχου κανονικότητας Anderson-Darling στα υπολείμματα του ελέγχου Ανονα για το δείγμα «Χυμός Εμπορίου» για τη μέθοδο Folin-Ciocalteu



Σχήμα 6. 4: Έλεγχος για ίσες διακυμάνσεις στα υπολείμματα από το Άνονα για το δείγμα «Χυμός Εμπορίου» για τη μέθοδο Folin-Ciocalteu



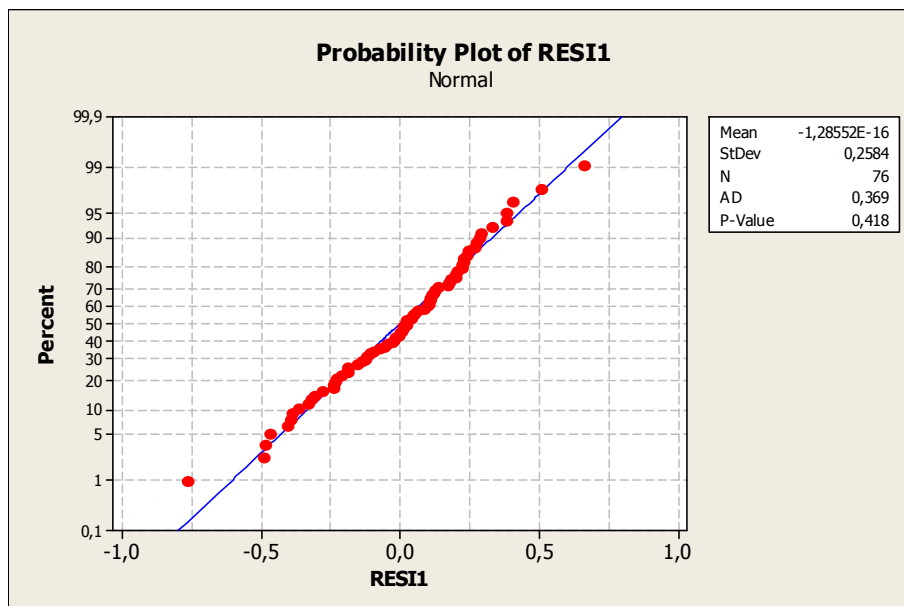
Σχήμα 6. 5: Διάγραμμα ελέγχου κανονικότητας Anderson-Darling στα υπολείμματα του ελέγχου Άνονα για το λογαριθμικά μετασχηματισμένο δείγμα «Χυμός Εμπορίου» για τη μέθοδο Folin-Ciocalteu



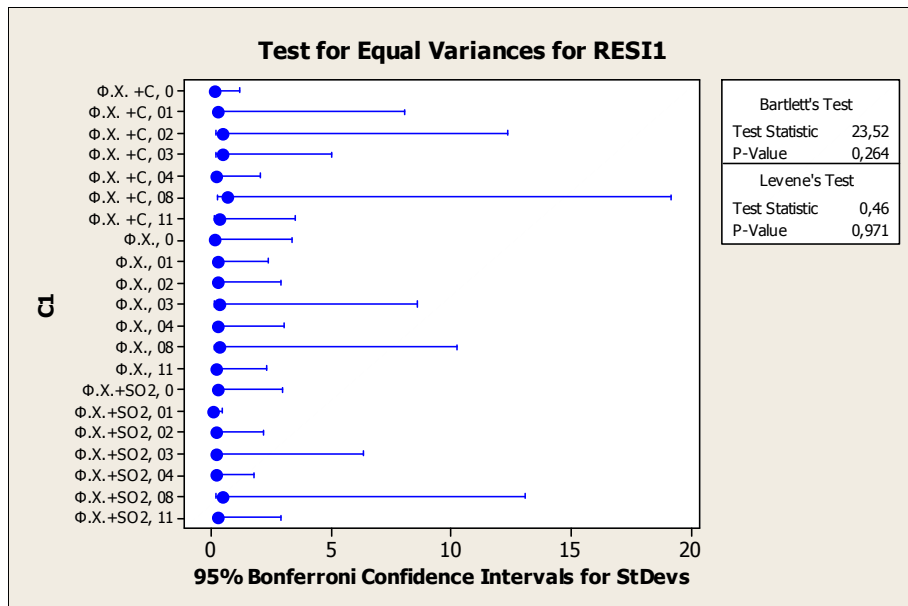
Σχήμα 6. 6: Έλεγχος για ίσες διακυμάνσεις στα υπολείμματα από το Ανονα για το λογαριθμικά μετασχηματισμένο δείγμα «Χυμός Εμπορίου» για τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

6.2 Μέθοδος DPPH

6.2.1 Σύγκριση όλων των δειγμάτων εκτός του Χυμού Εμπορίου

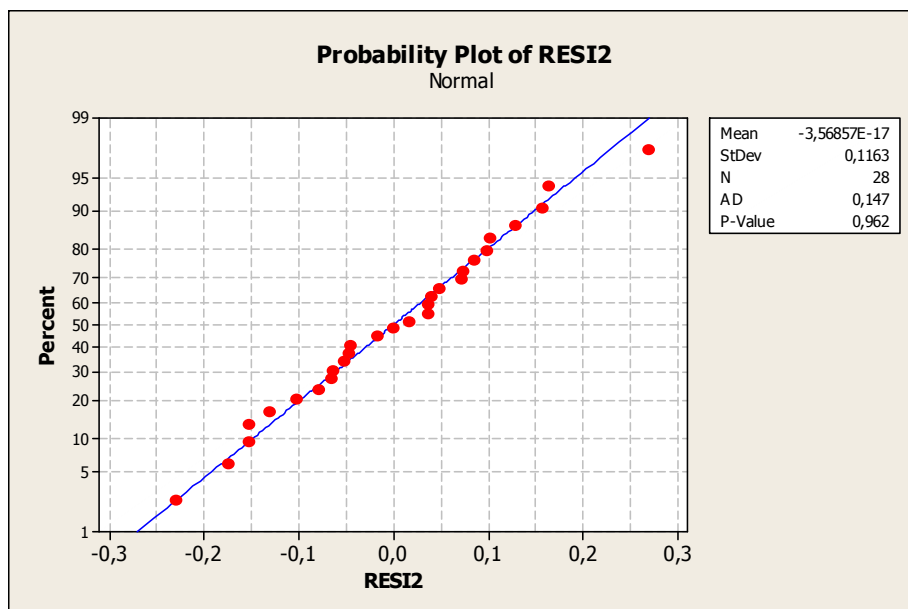


Σχήμα 6. 7: Διάγραμμα ελέγχου κανονικότητας Anderson-Darling στα υπολείμματα του ελέγχου Ανονα για τα δείγματα «Φυσικός Χυμός», «Φυσικός Χυμός με Βιταμίνη C» και «Φυσικός Χυμός με Θειώδη» για τη μέθοδο DPPH

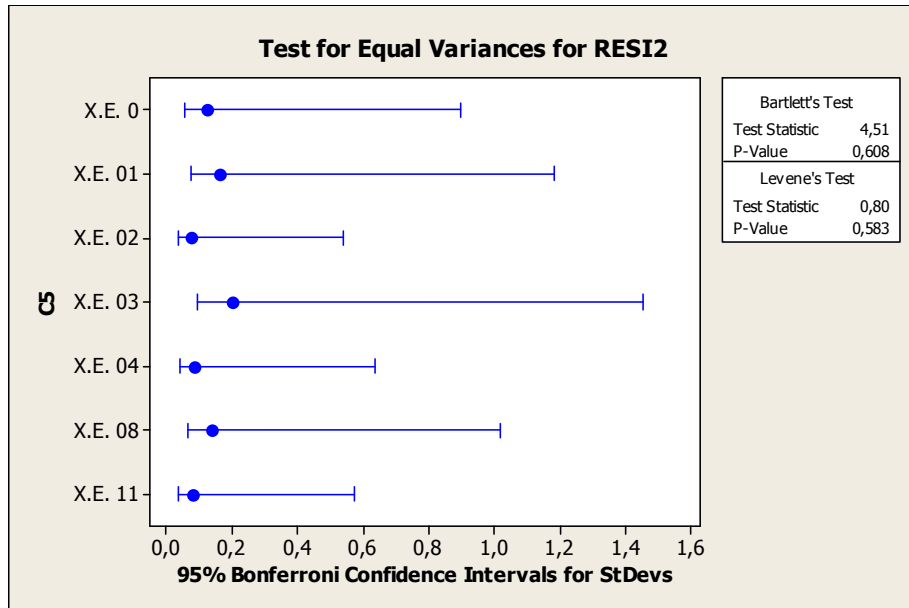


Σχήμα 6. 8: Έλεγχος για ίσες διακυμάνσεις στα υπολείμματα από το Ανονα για τα δείγματα «Φυσικός Χυμός», «Φυσικός Χυμός με Βιταμίνη C» και «Φυσικός Χυμός με Θειώδη» για τη μέθοδο DPPH

6.2.2 Συμπεριφορά δείγματος «Χυμός Εμπορίου» (Χ.Ε.) κατά την αποθήκευση



Σχήμα 6. 9: Διάγραμμα ελέγχου κανονικότητας Anderson-Darling στα υπολείμματα ελέγχου Ανονα για το δείγμα «Χυμός Εμπορίου» για τη μέθοδο DPPH



Σχήμα 6. 10: Έλεγχος για ίσες διακυμάνσεις στα υπολείμματα από το Ανονα για το δείγμα «Χυμός Εμπορίου» για τη μέθοδο