

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας, περιεκτικότητας σε φαινολικά συστατικά και προβλεπόμενης βιοδιαθεσιμότητας σιδήρου και ψευδαργύρου ποικιλιών επιτραπέζιας ελιάς και οσπρίων συμβατικής και βιολογικής καλλιέργειας»



ΔΡΑΚΟΥ ΜΑΡΙΝΑ

Επιβλέπουσα καθηγήτρια : Καψοκεφάλου Μ.

Τριμελής επιτροπή : Μ. Κομαΐτης

Μ. Καψοκεφάλου

Ε. Πανάγου

ΑΘΗΝΑ, ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2011

Περίληψη

Οι ελιές και τα όσπρια αποτελούν συστατικά της Μεσογειακής διατροφής. Στην παρούσα μελέτη ερευνήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα (FRAP& ORAC) και η ύπαρξη συνολικών φαινολικών συστατικών (FOLIN) σε 8 Ελληνικούς εμπορικούς τύπους επιτραπέζιας ελιάς (καλαμών, κονσερβολιά μαύρη, Χαλκιδικής, κονσερβολιά πράσινη, μεγαρείτικη, γαϊδουρελιά, ελιά τεχνητά μαυρισμένη με οξείδωση και Θάσου) συμβατικής και βιολογικής καλλιέργειας. Επίσης, μελετήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα (FRAP& ORAC), η ύπαρξη συνολικών φαινολικών συστατικών (FOLIN) και η προβλεπόμενη περιεκτικότητα σε σίδηρο και ψευδάργυρο σε 10 είδη ελληνικών βρασμένων οσπρίων (φακή ψιλή, φακή χονδρή, φάβα, μαυρομάτικο, φασόλι μέτριο, φασόλι χονδρό, γίγαντας, ελέφαντας, μπαμπονοφάσουλο και ρεβύθι) συμβατικής και βιολογικής καλλιέργειας.

Λέξεις κλειδιά : αντιοξειδωτική ικανότητα, συνολικά φαινολικά συστατικά, σίδηρος ψευδάργυρος, βιοδιαθεσιμότητα, ελιές, όσπρια, βιολογικά τρόφιμα

Abstract

Olives and beans are constituents of Mediterranean diet. In the present study, the antioxidant capacity (FRAP& ORAC) and the presence of total phenolic compounds (FOLIN) were determined in 8 Greek commercial types of table olives (Kalamata, black koncervolia, Chalkidikis, green koncervolia, megareitiki, gaidourelia, black ripe olive and thassos) of both conventional and organic cultivation. Also, the antioxidant capacity (FRAP& ORAC), the presence of total phenolic compounds (FOLIN) and the predictable ferrous and zinc bioavailability were determined in 10 types of Greek cooked legumes (small lentils, big lentils, yellow fava beans, black eyes beans, medium size white beans, large size white beans, giant beans, elephant beans, light red beans and chick peas) of both conventional and organic cultivation.

Key words: antioxidant capacity, total phenolics, iron, zinc, bioavailability, olives, legumes, organic products

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη.....	i
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Η μεσογειακή διατροφή	1
1.2 Η αντιοξειδωτική ικανότητα των ελιών	3
1.3 Τρόποι επεξεργασίας της ελιάς	4
1.4 Στοιχεία των ποικιλιών των ελιών στην παρούσα μελέτη	5
1.5 Η αντιοξειδωτική ικανότητα των οσπρίων.....	5
1.6 Βιοδιαθεσιμότητα σιδήρου και ψευδαργύρου στα όσπρια.....	7
1.7 Στοιχεία των ειδών των οσπρίων στη παρούσα μελέτη	8
1.8 Σύγκριση προϊόντων συμβατικής καλλιέργειας με προϊόντα βιολογικής καλλιέργειας.....	8
1.9 Αντικείμενο μελέτης.....	10
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	12
2.1 Μέτρηση ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας in vitro σε ελιές και όσπρια με την μέθοδο FRAP και ORAC και μέτρηση ολικών φαινολικών συστατικών με την μέθοδο FOLIN12	
2.1.1 Υλικά.....	12
2.1.2 Δείγματα	12
2.1.5 Στατιστική επεξεργασία.....	17
2.2 Υπολογισμός την βιοδιαθεσιμότητας σιδήρου και ψευδαργύρου σε δείγματα οσπρίων 18	
2.2.1 Υλικά.....	18
2.2.2 Δείγματα	18
2.2.3 Προετοιμασία δειγμάτων.....	18
2.2.4 Περιγραφή μεθόδου.....	18
2.2.5 Μέτρηση	21
2.2.5.1 Μέτρηση βιοδιαθεσιμότητας σιδήρου.....	21
2.2.5.2 Μέτρηση βιοδιαθεσιμότητας ψευδαργύρου	21
2.2.6 Στατιστική επεξεργασία.....	22
2.2.7 Υπολογισμοί.....	22
2.2.7.1 Υπολογισμός σιδήρου	22

2.2.7.2	Υπολογισμός ψευδαργύρου.....	23
3.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	24
3.1	Ελιές.....	24
3.2	Όσπρια.....	27
4.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	35
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	40

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η μεσογειακή διατροφή

Η μεσογειακή διατροφή δεν είναι ένα ειδικό διατροφικό σχήμα ή ένα διατροφικό πρόγραμμα, αλλά ένα σύνολο διατροφικών συνηθειών που ακολουθούνται παραδοσιακά από τους ανθρώπους της περιοχής της Μεσογείου. Υπάρχουν τουλάχιστον 16 χώρες που οριοθετούν τη Μεσόγειο και οι διατροφικές συνήθειες ποικίλλουν μεταξύ αυτών των χωρών, ανάλογα με τον πολιτισμό, την εθνικότητα και τη θρησκεία. Υπάρχουν, όμως, ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά για όλους αυτούς τους λαούς (Willett WC et al. 1995):

- Υψηλή κατανάλωση φρούτων, λαχανικών, πατατών, φασολιών, ξηρών καρπών, σπόρων, ψωμιού και άλλων δημητριακών
- Ελαιόλαδο που χρησιμοποιείται για το μαγείρεμα και τις σάλτσες
- Μέτριες ποσότητες ψαριού αλλά μικρές ποσότητες κρέατος
- Χαμηλές προς μέτριες ποσότητες τυριών και γιαουρτιών με όλο τους το λίπος
- Μέτρια κατανάλωση κρασιού, συνήθως με τα γεύματα
- Βασίζονται στα τοπικά, εποχιακά, φρέσκα προϊόντα
- Ζουν μια δραστήρια ζωή

Σε πανεπιστημιακή έρευνα (Trichopoulou A et al. 2003) βαθμολογήθηκαν οι δίαιτες περισσότερων των 22.000 ανθρώπων που ζουν στην Ελλάδα, σύμφωνα με το κατά πόσο ακολουθούν την παραδοσιακή ελληνική μεσογειακή διατροφή. Κατά τη διάρκεια των 4 ετών της μελέτης διαπιστώθηκε το εξής: όσο πιο πιστά ακολουθούσαν οι άνθρωποι την παραδοσιακή μεσογειακή διατροφή, τόσο λιγότερες πιθανότητες είχαν να πεθάνουν από καρδιακές παθήσεις ή καρκίνο, με ελαφρώς μεγαλύτερη προστασία απέναντι στις καρδιακές παθήσεις απ' ό,τι στον καρκίνο. Συνολικά, οι άνθρωποι που ακολουθούσαν τη μεσογειακή διατροφή ήταν κατά 25% λιγότερο πιθανό να πεθάνουν κατά τη διάρκεια της μελέτης σε σχέση με εκείνους που δεν την ακολουθούσαν, γεγονός που υποδεικνύει ότι αυτοί που ακολουθούν στενά τη μεσογειακή διατροφή έχουν μεγαλύτερο προσδόκιμο ζωής σε σχέση με εκείνους που δεν την ακολουθούν.

Δεδομένου ότι πρώτες οι στατιστικές θνησιμότητας κατέδειξαν ότι οι μεσογειακοί πληθυσμοί ζούσαν περισσότερο από τους άλλους Ευρωπαίους, οι επιστήμονες έχουν προσπαθήσει να ανακαλύψουν σε ποια συστατικά της μεσογειακής διατροφής οφείλονται τα ιδιαίτερα πλεονεκτήματά της.

Το ελαιόλαδο είναι η πρώτη επιλογή προς διερεύνηση, καθώς χρησιμοποιείται σχεδόν αποκλειστικά στο μαγείρεμα στη Μεσόγειο αντί του βουτύρου, της μαργαρίνης και άλλων λιπαρών υλών. Το ελαιόλαδο είναι πλούσια πηγή μονοακόρεστου λίπους, το οποίο είναι προστατευτικό ενάντια στις καρδιακές παθήσεις, ενδεχομένως επειδή αντικαθιστά το κορεσμένο λίπος στη διατροφή. Το ελαιόλαδο είναι επίσης πηγή αντιοξειδωτικών, συμπεριλαμβανομένης της βιταμίνης E. Είναι, όμως, σημαντικό να αναφερθεί ότι το ελαιόλαδο χρησιμοποιείται για να παρασκευασθούν διάφορα πιάτα λαχανικών, σάλτσες ντομάτας, σαλάτες, καθώς επίσης και για το τηγάνισμα των ψαριών.

Η υψηλή πρόσληψη φρέσκων φρούτων και λαχανικών είναι αποδεδειγμένα προστατευτική τόσο για τις καρδιακές παθήσεις όσο και για τις διάφορες μορφές καρκίνου, πιθανότατα λόγω των αντιοξειδωτικών που περιέχουν (WHO/FAO 2003). Οι ντομάτες, που αποτελούν σημαντική πηγή αντιοξειδωτικών, έχουν μελετηθεί ιδιαίτερος, επειδή εμφανίζονται σε μεγάλο βαθμό στη μεσογειακή κουζίνα. Συστήνεται η επεξεργασία τους με θερμότητα όπως το μαγείρεμα, π.χ. Κατά την προετοιμασία σαλτσών ντομάτας, επειδή αυξάνει τη διαθεσιμότητα του λυκοπενίου, ενός από τα κύρια αντιοξειδωτικά στις ντομάτες.

Έχει επίσης προταθεί ότι τα ψάρια, ειδικότερα τα λιπαρά, όπως οι σαρδέλες, έχουν σημαντικά οφέλη στην υγεία (Hu FB et al. 2002) Τα λιπαρά ψάρια είναι πηγή ω-3 πολυακόρεστων λιπών., Τα σύνθετα, μακριάς αλύσου, παράγωγα αυτών των λιπών φαίνεται να είναι ιδιαίτερα ευεργετικά στην καρδιά, λόγω των αντιφλεγμονωδών και αγγειοδιασταλτικών ιδιοτήτων τους, οι οποίες διατηρούν τη ροή του αίματος ομαλή.

Σε όλη τη Μεσόγειο το κρασί πίνεται με μέτρο και συνήθως μαζί με τα γεύματα. Για τους άνδρες, το μέτρο είναι δύο ποτήρια ανά ημέρα, ενώ για τις γυναίκες ένα ποτήρι ανά ημέρα

Είναι πιθανό ο συνδυασμός όλων των διαφορετικών συστατικών της διατροφής αυτής να την καθιστά τόσο υγιεινή. Και όχι μόνο αυτό, αλλά και άλλοι

παράγοντες, όπως η χαλαρή στάση απέναντι στη διατροφή, η ηλιοφάνεια και η αυξημένη σωματική δραστηριότητα, είναι πιθανό να συμβάλλουν στον συνολικά υγιεινό τρόπο ζωής σε αυτήν την περιοχή.

1.2 Η αντιοξειδωτική ικανότητα των ελιών

Οι επιτραπέζιες ελιές είναι ένα από τα σημαντικότερα συστατικά της μεσογειακής διατροφής και ένα παραδοσιακό ελληνικό προϊόν. Είναι γνωστή πηγή φαινολικών ενώσεων με ευεργετικές ιδιότητες στον άνθρωπο. Τα οφέλη των επιτραπέζιων ελιών στη διατροφή συνδέονται, εκτός από τα μονοακόρεστα λιπαρά που περιέχει, με τα δευτερεύοντα συστατικά όπως οι φαινολικές ενώσεις. Τα φαινολικά συστατικά των επιτραπέζιων ελιών είναι πολύ σύνθετα και μπορεί να ποικίλουν τόσο σε ποιότητα όσο και σε ποσότητα μέσα στον καρπό της ελιάς. Αυτή η διακύμανση εξαρτάται από τη μέθοδο επεξεργασίας, την ποικιλία της ελιάς, τη μέθοδο άρδευσης και το βαθμό ωρίμανσης του καρπού κατά την συλλογή του (Boskou et al. 2004).

Πολλά από τα διατροφικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των ελιών εξαρτώνται από το περιεχόμενό τους σε φαινολικά συστατικά και ιδιαίτερα στην περιεκτικότητά τους σε ελευρωπαΐνη και υδροξυτυροσόλη. Μάλιστα, η περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά θεωρείται δείκτης ποιότητας της ελιάς (Victor R. Preedy and Ronald Ross, 2010).

Η κύρια φαινολική ουσία στη σάρκα του ελαιοκάρπου είναι η ελευρωπαΐνη, η οποία είναι υδατοδιαλυτή φαινολική ουσία. Το μόριο της ουσίας αυτής περιέχει γλυκόζη, β-3,4-διυδροξυ-φαινυλαιθανόλη και ένα οξύ το οποίο είναι γνωστό ως ελενολικό οξύ (elenolic acid) (www.chem.uoa.gr). Η ουσία αυτή έχει συσχετισθεί με την πρόληψη της αθηροσκλήρωσης και την παρεμπόδιση της οξειδωσης της LDL. Επιπλέον, η ελευρωπαΐνη παρουσιάζει ενδιαφέρουσες αντιμικροβιακές, αντιυπερτασικές και αντικαρκινικές ιδιότητες καθώς επίσης και προστατευτική δράση ενάντια στην οστεοπόρωση. Πρόσφατα, βρέθηκε ότι μειώνει την ολική χοληστερόλη και τα υψηλά επίπεδα των τριγλυκεριδίων, δεδομένα που θα χρησιμοποιήσουν μελλοντικά οι επιστήμονες για την θεραπεία των καρδιακών παθήσεων (Zoidou Evangelia et al. 2010).

Κατά την ωρίμανση του καρπού η συγκέντρωση της ελευρωπαΐνης μειώνεται ενώ παράλληλα παρατηρείται αύξηση της υδροξυτυροσόλης η οποία βρίσκεται και

στις μαύρες ελιές σε υψηλά ποσοστά. Εντούτοις, οι ουσίες αυτές υδρολύονται κατά την επεξεργασία με καυστικό νάτριο σχηματίζοντας πιο απλές και σταθερές ουσίες. Οι επακόλουθες πλύσεις του καρπού με νερό, προκειμένου να απομακρυνθεί η περίσσεια του καυστικού νατρίου από το μεσοκάρπιο (π.χ. Πράσινες ελιές Ισπανικού τύπου, ελιές μαυρισμένες με οξείδωση), συμβάλλουν στην περαιτέρω μείωση του ποσού των πολυφαινολών (Romero et al. 2004).

1.3 Τρόποι επεξεργασίας της ελιάς

Με βάση τον ενοποιημένο κανονισμό ποιότητας του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου για τις επιτραπέζιες ελιές που αποτελούν αντικείμενο διεθνούς εμπορίου (Codex Alimentarius 1981), διακρίνονται οι ακόλουθοι εμπορικοί τύποι:

1. Επεξεργασμένες ελιές σε άλμη (Ισπανικού τύπου)

Με την συγκεκριμένη μέθοδο, η εκπίκριση των πράσινων ελιών γίνεται με εμβάπτιση του ελαιοκάρπου σε διάλυμα καυστικού νατρίου. Μετά την εκπίκριση ακολουθούν τα στάδια της έκπλυσης με νερό, της τοποθέτησης των ελιών στην άλμη, της γαλακτικής ζύμωσης, της ωρίμανσης, της ταξινόμησης κατά μέγεθος και της συσκευασίας.

2. Φυσικές ελιές σε άλμη (Greek style) που είναι πράσινες ή μαύρες

Η εκπίκριση δεν βασίζεται στη χρήση καυστικού νατρίου αλλά στην εκχύλιση μέρους της ελευρωπαΐνης από την σάρκα στην άλμη. Τα στάδια επεξεργασίας περιλαμβάνουν απευθείας τοποθέτηση του καρπού στην άλμη, ζύμωση και εκπίκριση, οξείδωση με έκθεση στον αέρα, διαλογή και συσκευασία. Η διαφορά της φυσικής μαύρης ελιάς με την φυσική πράσινη είναι ότι οι καρποί της φυσικής μαύρης συγκομίζονται σε μεταγενέστερο στάδιο σε σχέση με την πράσινη ελιά.

3. Ελιές μαυρισμένες με οξείδωση (black ripe olives ή ripe olives ή californian style)

Οι ελιές που έχουν συλλεχθεί από το δέντρο στα στάδια του ερυθρού- κερασένιου (cherry-red) χρωματισμού και έχουν υποστεί επεξεργασία με άλκαλι ώσπου να ξεπικρίσουν τελείως και να αποκτήσουν μαύρο χρώμα. Ακολουθεί η διαλογή και η συσκευασία τους.

4. Ελιές αφυδατωμένες ή συρρικνωμένες

Ο τέταρτος και τελευταίος εμπορικός τύπος περιλαμβάνει τις αφυδατωμένες (ξηράλατες) ελιές. Χαρακτηριστικό τους γνώρισμα είναι ότι συσκευάζονται και

διακινούνται χωρίς άλμη. Μετά τη συλλογή, το πλύσιμο και την ταξινόμηση ακολουθεί στρωμάτωση του καρπού σε δεξαμενές με χονδρόκοκκο αλάτι. Το προϊόν αυτό δε ζυμώνεται και το ξηρό αλάτι δρα ως αφυδατικός παράγοντας εκχυλίζοντας από τη σάρκα φυτικά υγρά μαζί με το μεγαλύτερο ποσοστό της ελευρωπαϊνης. (Panagou 2006& Stan Kailis and David Harris).

1.4 Στοιχεία των ποικιλιών των ελιών στην παρούσα μελέτη

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 8 εμπορικοί τύποι επιτραπέζιας ελιάς που έχουν επεξεργαστεί με τις μεθόδους που αναφέρονται παραπάνω. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν ελιές ποικιλίας:

- Καλαμών (συμβατικής και βιολογικής καλλιέργειας) που επεξεργάστηκαν ως φυσικές μαύρες ελιές
- Κονσερβολιά που επεξεργάστηκε ως φυσική μαύρη ελιά
- Χαλκιδικής Ισπανικού τύπου (πράσινη ελιά)
- Κονσερβολιά (συμβατικής και βιολογικής καλλιέργειας) Ισπανικού τύπου (πράσινη ελιά)
- Μεγαρείτικη που επεξεργάστηκε ως φυσική πράσινη ελιά
- Γαιδουρελιά που ανήκει στις φυσικές πράσινες ελιές
- Τεχνητά μαυρισμένη με οξείδωση
- Ξηράλατη ελιά της Θάσου

1.5 Η αντιοξειδωτική ικανότητα των οσπρίων

Τα όσπρια είναι μια σημαντική καθημερινή τροφή για τους ανθρώπους σε πολλές χώρες. Είναι δημοφιλή στην Ελλάδα και παρόλο που η κατανάλωση τους έχει μειωθεί αρκετά τελευταία χρόνια, οι Έλληνες κρατούν την πρώτη θέση στην κατανάλωση οσπρίων ανάμεσα στους Ευρωπαίους. Περιέχουν πληθώρα μικροθρεπτικών και μακροθρεπτικών στοιχείων με το υψηλό περιεχόμενο τους σε πρωτεΐνες και σε υδατάνθρακες να ξεχωρίζει. Επιπλέον, τα όσπρια είναι γενικά πλούσια σε φαινολικές

ενώσεις και έχουν υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα, η οποία μπορεί να είναι ευεργετική στην πρόληψη διάφορων, σχετικών με την υγεία παθήσεων, όπως τις στεφανιαίες και καρδιαγγειακές παθήσεις (Ryszard Amarowicz et al. 2010). Από μελέτες φαίνεται ότι τα φαινολικά συστατικά εντοπίζονται στον φλοιό των οσπρίων (B. Dave Oomah et al. 2011) και μάλιστα στις φακές βρέθηκε ότι η κοτυληδόνα περιείχε κυρίως μη φλαβονοειδή συστατικά και μικρή αντιοξειδωτική ικανότητα σε σχέση με τον φλοιό τους όπου βρέθηκε αφθονία φλαβονοειδών και εμφάνιζαν υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα.

Κάποιες μελέτες στηρίζουν πως η αντιοξειδωτική ικανότητα των οσπρίων οφείλεται στις υδατοδιαλυτές τους πρωτεΐνες. Πολλές πρωτεΐνες τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών γάλακτος, όπως η β-γαλακτογλοβουλίνη και η καζεΐνη, οι πρωτεΐνες σόγιας, οι πρωτεΐνες μανιταριών, η αλβουμίνη των αυγών αναφέρθηκαν πως αναπτύσσουν αντιοξειδωτική ικανότητα. Οι πρωτεΐνες οφείλουν την αντιοξειδωτική τους ικανότητα στα αμινοξέα που τις δομούν. Παραδείγματος χάριν, η αντιοξειδωτική ικανότητα των αρωματικών αμινοξέων όπως η φαινυλαλανίνη οφείλεται στην ικανότητα τους να δίνουν πρωτόνια στις ελεύθερες ρίζες. Βέβαια, η απλή παρουσία κάποιων αμινοξέων που έχουν αντιοξειδωτική ικανότητα δεν φτάνει αφού πρέπει να βρίσκονται και στην κατάλληλη θέση μέσα στην αλυσίδα της πρωτεΐνης (Iskender Arcan et al. 2007).

Από τις υπάρχουσες μελέτες φαίνεται πως η επεξεργασία των οσπρίων επηρεάζει την αντιοξειδωτική τους ικανότητα και την περιεκτικότητά τους σε ολικά φαινολικά συστατικά. Μελετήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα σε ωμά όσπρια, σε όσπρια που είχαν εμποτιστεί σε νερό και σε ψημένα όσπρια. Βρήκαν ότι η περιεκτικότητά τους σε ολικά φαινολικά (mg γαλλικού οξέος/g) στα ωμά κυμαινόταν από 3.42 έως 7.21, στα εμποτισμένα από 3.58 έως 6.94 και στα ψημένα από 4.55 έως 9.52 (Boateng J. et al. 2008). Σε δεύτερη μελέτη βρήκαν πως αυξάνοντας τον χρόνο μαγειρέματος ενισχύθηκε η διάχυση φαινολικών από τον φλοιό στο νερό και από το νερό στις κοτυληδόνες (Nuria E et al. 2007). Αντικρουόμενη μελέτη παρουσιάζει πως η αντιοξειδωτική ικανότητα μειώνεται από 63.5% σε 56.8% με την διαδικασία του μαγειρέματος (Granito M. et al. 2008).

1.6 Βιοδιαθεσιμότητα σιδήρου και ψευδαργύρου στα όσπρια

Η βιοδιαθεσιμότητα ενός μετάλλου ορίζεται ως το ποσοστό του ληφθέντος μετάλλου που είναι διαθέσιμο να χρησιμοποιηθεί στις μεταβολικές διαδικασίες ή να αποθηκευτεί για μελλοντική χρήση. Στην περίπτωση του σιδήρου ή του ψευδάργυρου, η βιολογική διαθεσιμότητα κυμαίνεται από 1% ως 50% και εξαρτάται από ποικίλους διαιτητικούς παράγοντες που αλληλεπιδρούν συχνά μεταξύ τους (Argyri K et al. 2011).

Η περιεκτικότητα των οσπρίων σε σίδηρο μαζί με τη μεγάλη κατανάλωσή τους στις διαφορετικές περιοχές του κόσμου σημαίνει ότι είναι μια καλή πηγή πρόσληψης σιδήρου για ένα μεγάλο μέρος του πληθυσμού. Η θρεπτική αξία ενός τροφίμου που περιέχει ένα μέταλλο εξαρτάται όχι μόνο από το ποσοστό περιεκτικότητάς του στο τρόφιμο, αλλά και από τη βιοδιαθεσιμότητά του στους ανθρώπους. Στην περίπτωση του σιδήρου αξιολογείται η διαλυτότητά του στο νερό, η οξείδωση και η μορφή στην οποία βρίσκεται. Ο σίδηρος βρίσκεται σε δύο μορφές, έχουμε Fe^{+3} και Fe^{+2} , από αυτές τις μορφές απορροφάται από τον οργανισμό ο Fe^{+2} (Quinteros A et al. 2001).

Η μορφή με την οποία απορροφάται ο ψευδάργυρος στο εντεροκύτταρο δεν είναι τόσο ξεκάθαρη. Ο ψευδάργυρος πιθανόν περνάει διαμέσου της λαγνοειδο-διαχωριστικής μεμβράνης με τη μορφή ιόντος ή σαν μέρος ενός συμπλόκου. Σύμφωνα με τις περισσότερες ενδείξεις, η απορρόφηση του ψευδαργύρου γίνεται όταν αυτός βρίσκεται σε σύμπλοκο μαζί με συμπλοκοποιητές που προέρχονται από ενδογενείς και εξωγενείς πηγές (Groff and Gropper, 2000).

Η οικογένεια των φασολιών περιέχουν σημαντική ποσότητα του ψευδάργυρου αλλά η βιοδιαθεσιμότητά του μπορεί να ποικίλει λόγω του υψηλού περιεχομένου τους σε φαινολικά συστατικά. Οι πολυφαινόλες και τα phytates αναγνωρίζονται ως antinutrient για σημαντικά μέταλλα για τον οργανισμό όπως είναι ο σίδηρος και ο ψευδάργυρος. Το περιεχόμενο τους επίσης σε φυτικές ίνες μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την απορρόφηση των μετάλλων από τα όσπρια (Lucva Ramvrez-Cardenas et al. 2010).

1.7 Στοιχεία των ειδών των οσπρίων στη παρούσα μελέτη

Στην παρούσα μελέτη μελετήθηκαν 2 είδη από την οικογένεια των φακών (φακή ψιλή και φακή χονδρή + φακή βιολογικής καλλιέργειας), 6 είδη από την οικογένεια των φασολιών (φασόλι μέτριο, φασόλι μεγάλο, γίγαντας, ελέφαντας, μπαρμπουνοφάσουλο και μαυρομάτικο + τα αντίστοιχα βιολογικά τους), 1 είδος από την οικογένεια του λαθουριού (φάβα + φάβα βιολογική) και 1 είδος από την οικογένεια των ρεβυθιών + το ρεβύθι βιολογικής καλλιέργειας.

Κάποια όσπρια ελληνικής καλλιέργειας έχουν χαρακτηριστεί ως Π.Γ.Ε (Προϊόντα Γεωγραφικής Ένδειξης). Ως «Γεωγραφική Ένδειξη» νοείται το όνομα μιας περιοχής, ενός συγκεκριμένου τόπου ή σε εξαιρετικές περιπτώσεις μιας χώρας, το οποίο χρησιμοποιείται στην περιγραφή ενός γεωργικού προϊόντος ή ενός τροφίμου που κατάγεται από αυτήν την περιοχή, το συγκεκριμένο τόπο ή τη χώρα, του οποίου η συγκεκριμένη ποιότητα, η φήμη ή άλλο χαρακτηριστικό μπορούν να αποδοθούν στη γεωγραφική αυτή καταγωγή και του οποίου η παραγωγή ή/και μεταποίηση ή/και η επεξεργασία πραγματοποιούνται στην οριοθετημένη περιοχή (www.minagric.gr). Στην παρούσα μελέτη τα όσπρια Π.Γ.Ε που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα το φασόλι μεγάλο Πρεσπών και ο γίγαντας Καστοριάς.

1.8 Σύγκριση προϊόντων συμβατικής καλλιέργειας με προϊόντα βιολογικής καλλιέργειας

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει αύξηση και στην Ελλάδα στην παραγωγή και ζήτηση τροφίμων βιολογικής καλλιέργειας. Τα τρόφιμα αυτά απευθύνονται, τουλάχιστον επί του παρόντος, κυρίως σε άτομα τα οποία έχουν ευαισθητοποιηθεί σε θέματα ορθής διατροφής και ασφάλειας τροφίμων (Birgit Roitner-Schobesberger et al. 2008). Υπάρχει το ερώτημα εάν στα πλεονεκτήματα των βιολογικά παραγόμενων τροφίμων περιλαμβάνεται ή όχι υψηλότερη περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά. Έχει υποστηριχθεί ότι αυτά τα τρόφιμα, εξαιτίας του τρόπου καλλιέργειας (πχ απουσία ενισχυτών ανάπτυξης) είναι πιθανόν να παρέχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις θρεπτικών συστατικών. Έχει ενδιαφέρον λοιπόν για την καλύτερη ενημέρωση του καταναλωτή να αποσαφηνιστεί εάν ισχύει μια τέτοια υπόθεση. Το ερώτημα έχει εν μέρει απαντηθεί εφόσον επιστημονικές ομάδες στο εξωτερικό έχουν εξετάσει ποικίλα

τρόφιμα, αλλά όχι τα τρόφιμα που έχουν σημασία για την ελληνική παραγωγή και τα οποία κατέχουν σημαντικό ρόλο στο μοντέλο της μεσογειακής διατροφής.

Έτσι, στην παρούσα μελέτη θα διερευνηθεί η υπόθεση για το αν το βιολογικής καλλιέργειας τρόφιμα υπερέχουν ως προς την αντιοξειδωτική τους ικανότητα και τα ολικά φαινολικά τους σε σχέση με τα συμβατικής καλλιέργειας τρόφιμα. Μάλιστα θα μελετηθούν 2 φυτικής προέλευσης τρόφιμα, οι ελιές και τα όσπρια, με ιδιαίτερη αξία για το ελληνικό κοινό.

Για να χαρακτηριστεί ένα τρόφιμο ως βιολογικό, σύμφωνα με τον Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 889/2008, δεν επιτρέπεται η χρήση ΓΤΟ και προϊόντων παραγόμενων από ή με ΓΤΟ ως τρόφιμα, ζωοτροφές, βοηθητικά μέσα επεξεργασίας (πρόσθετα, καλλιέργειες τυροκομικών και γαλακτοκομικών προϊόντων) φυτοπροστατευτικά προϊόντα, λιπάσματα, βελτιωτικά εδάφους, σπόροι, αγενές φυτικό πολλαπλασιαστικό υλικό, μικροοργανισμοί και ζώα. Επιπλέον δεν επιτρέπεται η χρήση ζιζανιοκτόνων, μη επιτρεπόμενων φυτοπροστατευτικών ουσιών στις καλλιέργειες προϊόντων φυτικής παραγωγής στα προϊόντα φυτικής προέλευσης (λαχανικά, φρούτα, ελαιόλαδο), η χρήση αντιβιοτικών στα προϊόντα ζωικής προέλευσης (γάλα, κρέας) και η χρήση μη επιτρεπόμενων πρόσθετων στην παρασκευή μεταποιημένων προϊόντων (συντηρητικά όπως πολυφωσφορικά, θειώδη, ενισχυτές γεύσης όπως γλουταμινικό μονονάτριο). Στην περίπτωση του ευρωπαϊκού κανονισμού υπάρχει περιορισμένος αριθμός χρησιμοποιούμενων πρόσθετων (κιτρικό οξύ, ασκορβικό οξύ, γαλακτικό οξύ, κόμμεα) περιορισμένος αριθμός εγκεκριμένων μέσων επεξεργασίας (π.χ. φιλτράρισμα ελαιολάδου με γη διατόμων, μη χρήση καυστικού νατρίου για την επεξεργασία των βρώσιμων ελιών), ενώ δεν επιτρέπεται η χρήση ιονίζουσας ακτινοβολίας για την επεξεργασία βιολογικών τροφίμων (π.χ. Αποξηραμένα αρωματικά φυτά) ή ζωοτροφών ή πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται σε βιολογικά τρόφιμα ή ζωοτροφές. Επομένως αναμένεται ότι τα βιολογικά προϊόντα διαφέρουν από τα αντίστοιχα συμβατικά στη γενετική τους μορφολογία, στη χημική τους σύσταση, στη μέθοδο επεξεργασίας τους, στα χρησιμοποιούμενα μέσα επεξεργασίας και στις χρησιμοποιούμενες μεθόδους συντήρησής τους. Αυτές οι διαφορές πιθανόν να συνδέονται με διαφορές στην διατροφική αξία μεταξύ βιολογικών και συμβατικών τροφίμων.

Από πρόσφατη (2009) συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας φαίνεται πως τα τρόφιμα που έχουν παραχθεί από βιολογική καλλιέργεια δεν είναι

πλουσιότερα σε βιταμίνες και μέταλλα σε σχέση με τα τρόφιμα που έχουν παραχθεί από συμβατική καλλιέργεια (Dangour A et al. 2009). Στην παρούσα ανασκόπηση, 55 σχετικές έρευνες (που δημοσιεύονται 1958-2008) μελετήθηκαν και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα βιολογικά τρόφιμα είχαν χαμηλότερη περιεκτικότητα σε άζωτο και υψηλότερη σε φώσφορο σε σχέση με τα συμβατικής καλλιέργειας τρόφιμα. Η περιεκτικότητα των ακόλουθων θρεπτικών ή άλλων ουσιών δεν διέφερε μεταξύ των δύο κατηγοριών: η βιταμίνη C, το ασβέστιο, το κάλιο, τα συνολικά διαλυτά στερεά, ο χαλκός, ο σίδηρος, τα νιτρικά άλατα, το μαγγάνιο, συγκεκριμένες πρωτεΐνες, το νάτριο, οι μη πεπτόμενοι υδατάνθρακες π.χ κυτταρίνες και πηκτίνες, την β-καροτίνη και το θείο.

Στην αρχική φάση της ανάλυσης, όταν συμπεριλήφθηκαν και τα 162 σχετικά έγγραφα που βρέθηκαν, ανεξάρτητα από την ποιότητα τους, τα βιολογικά τρόφιμα παρουσίασαν πιο υψηλά επίπεδα φυτοχημικών από συμβατικά τρόφιμα. Εντούτοις, όταν λήφθηκε υπόψη η ποιότητα των μελετών τέτοια συσχέτιση δεν μπορούσε πλέον να ανιχνευθεί. Οι ερευνητές σκέπτονται ότι οι διαφορές που παρατηρήθηκαν είναι πιθανόν να προέκυψαν από τους διαφορετικούς χρόνους συγκομιδής και από τη χρήση διαφορετικών λιπασμάτων. Επίσης δήλωσαν ότι αυτές οι διαφορές δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερη σπουδαιότητα σπουδαιότητας για την ανθρώπινη υγεία.

Οι μελετητές κατέληξαν στο συμπέρασμα πως τα βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας τρόφιμα είναι όμοια ως προς την διατροφική τους αξία.

1.9 Αντικείμενο μελέτης

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να διερευνηθεί εάν επιλεγμένα φυτικά τρόφιμα βιολογικής ή συμβατικής καλλιέργειας διαφέρουν ως προς την διατροφική τους αξία. Το ενδιαφέρον της μελέτης εστιάζεται σε δύο φυτικά τρόφιμα τα οποία εντάσσονται στο μοντέλο της μεσογειακής διατροφής, συγκεκριμένα ελιές και όσπρια.

Αντικείμενο της μελέτης είναι η μέτρηση και κατόπιν σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, περιεκτικότητας σε φαινολικά συστατικά και βιοδιαθεσιμότητας σιδήρου και ψευδαργύρου σε επιλεγμένες ελιές και όσπρια βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας.

Για την επίτευξη των στόχων της μελέτης

- 1) Επιλογή ποικιλιών ελιάς βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας προς μελέτη, με βασικό κριτήριο την ελληνική προέλευση.

Προβλέπεται ότι θα μελετηθούν 8 Ελληνικές αντιπροσωπευτικές επιτραπέζιες ποικιλίες ελιάς συμβατικής και βιολογικής καλλιέργειας από τους 5 βασικούς τύπους ελιάς που υπάρχουν (φυσικές μαύρες, φυσικές πράσινες, ισπανικού τύπου, μαύρη με οξείδωση και ξηράλατη)

- 2) Επιλογή ειδών και ποικιλιών οσπρίων βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας προς μελέτη, με βασικό κριτήριο την ελληνική προέλευση. Προβλέπεται ότι θα μελετηθούν ποικιλίες οσπρίων (φασόλι, φακή, ρεβίθι και λαθούρι) συμβατικής και βιολογικής καλλιέργειας

- 3) Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, περιεκτικότητας σε φαινολικά συστατικά και βιοδιαθεσιμότητας σιδήρου και ψευδαργύρου στις επιλεγμένες ελιές και όσπρια.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα θα μετρηθεί με 2 μεθόδους (FRAP και ORAC), η περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά με την μέθοδο FOLIN και η προβλεπόμενη βιοδιαθεσιμότητα σιδήρου και ψευδαργύρου με *in vitro* μεθοδολογία που προσομοιάζει την γαστρεντερική πέψη.

- 4) Σύγκριση των παραπάνω ιδιοτήτων μεταξύ προϊόντων διαφορετικής ποικιλίας και μεταξύ προϊόντων συμβατικής και βιολογικής καλλιέργειας.

Το πρώτο στοιχείο πρωτοτυπίας είναι ότι επιλέγονται για την σύγκριση των διατροφικών ιδιοτήτων ελιές και όσπρια ελληνικής παραγωγής. Δεν έχουν ξαναμελετηθεί ολοκληρωμένα οι Ελληνικές βασικές επιτραπέζιες ποικιλίες ελιάς ή τα όσπρια ως προς τα χαρακτηριστικά που μετράμε. Η μελέτη θα αποδώσει δεδομένα για τις διατροφικές ιδιότητες αυτών των τροφίμων.

Το δεύτερο στοιχείο πρωτοτυπίας είναι η σύγκριση διατροφικών ιδιοτήτων μεταξύ ελιών και οσπρίων βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας. Δεν έχουν ξαναμελετηθεί οι πιθανές διαφορές μεταξύ συμβατικής και βιολογικής καλλιέργειας στις ποικιλίες ελιάς ή τα όσπρια ως προς τα χαρακτηριστικά που μετράμε. Η μελέτη θα αποδώσει δεδομένα για την υπεροχή ή όχι τροφίμων βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας.

Το τρίτο στοιχείο πρωτοτυπίας είναι ότι οι διατροφικές ιδιότητες των οσπρίων θα μελετηθούν σε όσπρια τα οποία θα εμποτιστούν και βράσουν, ακριβώς δηλαδή όπως καταναλώνονται. Η μελέτη θα αποδώσει δεδομένα για τις διατροφικές ιδιότητες των τροφίμων και για τις βέλτιστες επιλογές κατανάλωσής τους.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Μέτρηση ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας *in vitro* σε ελιές και όσπρια με την μέθοδο FRAP και ORAC και μέτρηση ολικών φαινολικών συστατικών με την μέθοδο FOLIN

2.1.1 Υλικά

Οι χημικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν κατά τις πειραματικές διαδικασίες Των μεθόδων FRAP, ORAC και FOLIN προμηθεύτηκαν από την εταιρεία Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany).

Οι αναλύσεις έγιναν σε φασματοφωτόμετρο με δυνατότητα ταυτόχρονης μέτρησης απορροφήσεων 96 δειγμάτων (plate reader, Elx808) για την εφαρμογή της μεθόδου FRAP και σε φθορισμόμετρο τύπου plate reader (Victor X, Antisel, Greece) για τη μέθοδο ORAC. Για τον προσδιορισμό της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο UV-vis.

2.1.2 Δείγματα

Τα δείγματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα ήταν οι 10 ποικιλίες ελληνικών επιτραπέζιων ελιών που περιγράφονται στο **πίνακα 2.1** και τα 19 είδη οσπρίων που περιγράφονται στο **πίνακα 2.2**.

Πίνακας 2.1 Περιγραφή δειγμάτων ελιάς

ποικιλία	τύπος	Καλλιέργεια	προμηθευτής
Κονσερβολιά	Φυσική μαύρη	Συμβατική	Κωνσταντόπουλος ΑΕ
Καλαμών	Φυσική μαύρη	Συμβατική	Κωνσταντόπουλος ΑΕ

Καλαμών	Φυσική μαύρη	Βιολογική	Κωνσταντόπουλος ΑΕ
Χαλκιδικής	Ισπανικού τύπου	Συμβατική	Κωνσταντόπουλος ΑΕ
Κονσερβολιά	Ισπανικού τύπου	Συμβατική	Κωνσταντόπουλος ΑΕ
Κονσερβολιά	Ισπανικού τύπου	Βιολογική	Κωνσταντόπουλος ΑΕ
Μεγαρείτικη	Φυσική πράσινη	Συμβατική	Κωνσταντόπουλος ΑΕ
Γαιδουρελιά	Φυσική πράσινη	Συμβατική	Κωνσταντόπουλος ΑΕ
Μαυρισμένη	Τεχνητά με οξείδωση	Συμβατική	Κωνσταντόπουλος ΑΕ
Θάσου	ξηράλατη	Συμβατική	Κωνσταντόπουλος ΑΕ

Πίνακας 2.2 Περιγραφή δειγμάτων οσπρίων

Είδη	καλλιέργεια	προμηθευτής
Φακή ψιλή	συμβατική	Αφοί Καραγεωργίου ΑΕΒΕ
Φακή ψιλή	βιολογική	ΑΒ Βασιλόπουλος
Φακή χονδρή	συμβατική	Αφοί Καραγεωργίου ΑΕΒΕ
Φάβα	συμβατική	Αφοί Καραγεωργίου ΑΕΒΕ
Φάβα	βιολογική	ΑΒ Βασιλόπουλος
Μαυρομάτικο φασόλι	συμβατική	Αφοί Καραγεωργίου ΑΕΒΕ
Φασόλι μέτριο φαρσάλων	συμβατική	ΑΒ Βασιλόπουλος
Φασόλι μέτριο	βιολογική	ΑΒ Βασιλόπουλος
Φασόλι χονδρό πρεσπών	συμβατική	ΑΒ Βασιλόπουλος
Φασόλι χονδρό	βιολογική	ΑΒ Βασιλόπουλος
Γίγαντας καστοριάς	συμβατική	ΑΒ Βασιλόπουλος
Γίγαντας	βιολογική	ΑΒ Βασιλόπουλος
Ελέφαντας δυτ. Μακεδονίας	συμβατική	ΑΒ Βασιλόπουλος
Ελέφαντας	βιολογική	ΑΒ Βασιλόπουλος
Μπαρμπουνοφάσουλο	συμβατική	Αφοί Καραγεωργίου ΑΕΒΕ
Μπαρμπουνοφάσουλο	βιολογική	Dimfil
Ρεβύθι Γρεβενών	συμβατική	ΑΒ Βασιλόπουλος
Ρεβύθι	βιολογική	ΑΒ Βασιλόπουλος

2.1.3 Προετοιμασία δείγματος

Πριν γίνει η μέτρηση έπρεπε πρώτα τα δείγματα να ομογενοποιηθούν, να εκχυλιστούν και να αραιωθούν (όπου κρίθηκε απαραίτητο). Πριν την έναρξη της

ομογενοποίησης τα δείγματα των ελιών ξεπλύθηκαν από την άλμη ενώ τα όσπρια υπέστηκαν βρασμό. Ο χρόνος βρασμού για το κάθε είδος ήταν διαφορετικός και διαρκούσε τόσο ώστε το κάθε όσπριο να ήταν κατάλληλο να καταναλωθεί. Η διαδικασία είναι η εξής:

- Ζύγισμα 2g δείγματος και προσθήκης 5ml υδατικής ακετόνης(1:1)σε πλαστικό περιέκτη πολυπροπυλενίου
- Ομογενοποίηση με ULTRA TURRAX T25 Basic
- Πρόσθεση 45ml υδατικής ακετόνης
- Τοποθέτηση περιεκτών σε υδατόλουτρο υπερήχων για 1 ώρα
- Διήθηση και συλλογή εκχυλίσματος

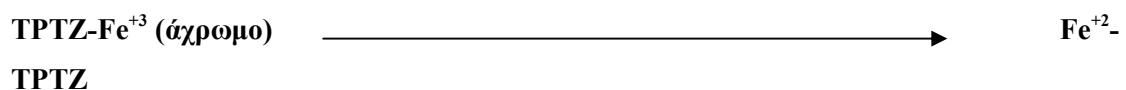
Ύστερα από δοκιμές σε διάφορες αραιώσεις καταλήξαμε πως η κατάλληλη αραιώση για τις ελιές για την μέθοδο FRAP και FOLIN ήταν 1/5,ενώ για την μέθοδο ORAC ορίζεται από την διαδικασία της μεθόδου πως πρέπει να είναι 1/20. Στα όσπρια δεν χρειάστηκε να γίνει κάποια αραιώση για τις μεθόδους FRAP και FOLIN.

2.1.4 Περιγραφή μεθόδων

2.1.4.1 Μέθοδος *FRAP*

Στόχος της μεθόδου FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) είναι ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων, η οποία καθορίζεται από την ικανότητα αναγωγής του συμπλόκου σιδήρου Fe^{+3} -TPTZ (2,4,6-Tri(2-Pirydil)-s-triazine). Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στην αναγωγή του άχρωμου συμπλόκου στη χρωματισμένη μορφή ενώσεως δισθενούς σιδήρου παρουσία των αντιοξειδωτικών φαινολικών συστατικών του δείγματος. Η μέτρηση της διαφοράς της απορρόφησης μετά από κάποιο χρόνο δείχνει την ικανότητα αναγωγής του συμπλόκου, άρα και την αντιοξειδωτική ικανότητα του δείγματος (Benzie & Strain, 1996).

Αντιοξειδωτικό



$\theta=37^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=3,6$

Αναφορικά με την παρασκευή των διαλυμάτων της μεθόδου FRAP το ρυθμιστικό διάλυμα 0,3 M, $\text{pH}=3,6$ παρασκευάστηκε έπειτα από ανάμιξη 3,1 g οξικού νατρίου και 16 ml οξικού οξέος, ώστε να ετοιμαστεί 1 L ρυθμιστικού διαλύματος, ενώ ακολούθησε έλεγχος του pH με πεχάμετρο. Το διάλυμα TPTZ, 10 mM παρασκευάστηκε σε διάλυμα HCl 40 mM. Για την παρασκευή του διαλύματος TPTZ 10 mM διαλύθηκαν 23,4 mg από το TPTZ σε 2,5 ml από το διάλυμα HCl 40 mM. Το διάλυμα αυτό φτιάχνεται κάθε 2 μέρες και διατηρείται στο ψυγείο. Το διάλυμα $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 mM παρασκευάστηκε με διάλυση 1,3525 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ σε αποσταγμένο νερό και είχε τελικό όγκο 250 ml.

Κατά την εφαρμογή της μεθόδου FRAP αρχικά παρασκευάστηκε το αντιδραστήριο FRAP έπειτα από ανάμιξη 25 ml ρυθμιστικού διαλύματος, 2,5 ml διαλύματος TPTZ και 2,5 ml διαλύματος $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Το διάλυμα αυτό παρασκευάζεται καθημερινά, πριν τη διεξαγωγή των πειραμάτων και διατηρείται στους 37 °C εντός θερμοστατούμενου υδατόλουτρου, ενώ μετά το πέρας των πειραμάτων απορρίπτεται. Στη συνέχεια, σε 96 well plate έγινε τοποθέτηση 20 μl διηθήματος και 100 μl HCl για τα τυφλά και 20 μl διηθήματος και 100 μl FRAP για το δείγμα. Ακολούθησε μέτρηση της απορρόφησης σε 30 min στα 595 nm σε φασματοφωτόμετρο (plate reader, Elx808). Οι μετρήσεις έγιναν εις διπλούν, εκτός από το τυφλό που έγινε μία φορά.

Για την ποσοτικοποίηση των απορροφήσεων που προκύπτουν εκ της μέτρησης εις το plate reader κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Η καμπύλη αυτή προέκυψε εκ των σημείων που ήταν αποτέλεσμα της μέτρησης των απορροφήσεων διαλυμάτων $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ διαφόρων συγκεντρώσεων (από 100 έως 1000 μM) 30 λεπτά μετά την προσθήκη αντιδραστηρίου FRAP (20 μl από το κάθε διάλυμα συν 100 μl FRAP ή HCl). Ποσοτικά η αντιοξειδωτική ικανότητα εκφράζεται ως $\mu\text{mol FeSO}_4/\text{ml}$ δείγματος.

2.1.4.2 Μέθοδος ORAC

Η μέθοδος ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) βασίζεται στην ύπαρξη ενός φθορισμομετρικού δείκτη και μιας ένωσης που παράγει ελεύθερες ρίζες. Η προσθήκη ενός δείγματος που περιέχει αντιοξειδωτικά, όπως κάποιο τρόφιμο ή βιολογικό υγρό, οδηγεί σε αναστολή της φθοράς φθορισμού της φθορίζουσας ουσίας, η οποία υπολογίζεται με χρήση φθορισμομέτρου. Η εφαρμογή της μεθόδου και οι απαραίτητοι υπολογισμοί έγιναν σύμφωνα με τους Huang et al (2002).

Αναφορικά με την παρασκευή των διαλυμάτων της μεθόδου ORAC αρχικά παρασκευάστηκε ένα ρυθμιστικό διάλυμα (phosphate buffer, pH=7,4) με ανάμειξη 800 ml διαλύματος KH_2PO_4 75 mM με 200 ml διαλύματος Na_2HPO_4 75 mM. Για την παρασκευή διαλύματος Trolox 1 mM προστέθηκαν 25 mg Trolox σε 100 ml phosphate buffer. Το τελικό διάλυμα της ουσίας φθορισμού (fluorescein) προέκυψε από ανάμειξη 800 μl fluorescein stock solution με 50 μl phosphate buffer και διατηρείτο στους 37 °C μέχρι τη χρήση. Το fluorescein stock solution παρασκευάστηκε με προσθήκη 22,5 mg fluorescein disodium salt σε 100 ml phosphate buffer και προσθήκη 50 μl αυτού του διαλύματος σε 10 ml phosphate buffer. Το διάλυμα ABAP παρασκευάζονταν ακριβώς πριν τη χρήση με προσθήκη 162 mg ABAP σε 5 ml phosphate buffer που είχε επωαστεί για 5 min στους 25 °C .

Κατά την εφαρμογή της μεθόδου ORAC, μετά από αραίωση του κάθε διηθήματος 1:50, προστέθηκαν 20 μl δείγματος ή 20 μl 75 mM phosphate buffer (pH 7.4) σε 200 μl fluorescein ($8,16 \cdot 10^{-5}$ mM) εντός 96-well plate. Μετά από επώαση για 20 min στους 37 °C, προστέθηκαν 20 μl ABAP (119,4 $\mu\text{mol/ml}$) και αμέσως το plate τοποθετήθηκε στο φθορισμόμετρο και μετρήθηκε ο φθορισμός 35 φορές στους 37 °C, με διαφορά ενός λεπτού ανά μέτρηση. Για την πρότυπη καμπύλη Trolox, σε άλλο plate τοποθετούνταν 20 μl 75 mM phosphate buffer σε κάποιες θέσεις και σε κάποιες άλλες διαλύματα Trolox διαφόρων συγκεντρώσεων (5, 12,5, 25 και 50 μM) εις τριπλούν και εφαρμόζονταν η ίδια διαδικασία που περιγράφεται για τα δείγματα.

Για κάθε συγκέντρωση Trolox υπολογίζονταν η τιμή AUC (Area Under the Curve) εκ του τύπου: $\text{AUC} = 0,5 + F_1/F_0 + \dots + F_i/F_0 + \dots + F_{34}/F_0 + 0,5(F_{35}/F_0)$, όπου F_0 η μέτρηση φθορισμού τη χρονική στιγμή 0 (αρχική μέτρηση) και F_i η μέτρηση φθορισμού τη χρονική στιγμή i . Με τον ίδιο τρόπο υπολογίζονταν η τιμή AUC για το μέσο όρο των τιμών φθορισμού του ρυθμιστικού διαλύματος phosphate buffer (blank). Για κάθε συγκέντρωση Trolox υπολογίζονταν το $\text{netAUC} = \text{AUC} - \text{AUC}_{\text{blank}}$.

Έπειτα, κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη που έχει εις τον άξονα X τις Ctrolox και εις τον Y τα netAUC. Από την προκύπτουσα γραμμική εξίσωση της πρότυπης καμπύλης υπολογίζονταν οι τιμές ORAC (μmol ισοδύναμων Trolox ανά ml) του κάθε διηθήματος, βάζοντας όπου Y την αντίστοιχη τιμή netAUC=AUC-AUCblank κάθε δείγματος και λύνοντας ως προς X.

2.1.4.3 Μέθοδος FOLIN

Ο προσδιορισμός των ολικών φαινολικών συστατικών των διηθημάτων έγινε με τη μέθοδο Folin Ciocalteu (Spanos & Wrolstand, 1990). Η μέθοδος αυτή περιγράφει τον ποσοτικό προσδιορισμό των συνολικών φαινολικών συστατικών. Τα ολικά φαινολικά προσδιορίζονται με τη βοήθεια φασματοφωτομέτρου υπεριώδους-ορατού (UV-vis) διπλής δέσμης, με το οποίο γίνεται μέτρηση της απορρόφησης στα 765nm. Η μέθοδος βασίζεται στην αναγωγή διαλύματος φωσφορομολυβδενικού και φωσφοροβολφραμικού οξέος σε φωσφορομολυβδενικό/φωσφοροβολφραμικό-φαινολικό σύμπλοκο, μπλε-πράσινου χρώματος σε αλκαλικό περιβάλλον. Σε δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν 3 ml δείγματος μετά από κατάλληλη αραίωση και ακολούθησε vortex για 1 min. Στη συνέχεια προστέθηκαν 0,5 ml διαλύματος Folin Ciocalteu και 1 ml Na₂CO₃ 7,5%. Το Na₂CO₃ προστέθηκε μετά από 1 min για να αποφευχθεί ο αφρισμός. Για την παρασκευή του διαλύματος Na₂CO₃ 7,5% έγινε προσθήκη 7,5 g Na₂CO₃ σε φιάλη των 100 ml και συμπλήρωση με νερό μέχρι τη χαραγή. Εν συνεχεία, οι σωλήνες τοποθετήθηκαν σε σκοτεινό μέρος για 30 min και ακολούθησε παραλαβή του υπερκειμένου και μέτρηση της απορρόφησης στα 765 nm σε φασματοφωτόμετρο υπεριώδους ορατού (UV-Vis) με χρήση κιβετών 1 cm. Ως τυφλό χρησιμοποιήθηκε η υδατική ακετόνη 1/1, με την οποία γίνεται μηδενισμός. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μg γαλλικού οξέος ανά ml διηθήματος, μετά την κατασκευή πρότυπης καμπύλης γαλλικού οξέος.

2.1.5 Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με χρήση του προγράμματος SPSS (SPSS V13.0). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση, ενώ στατιστικά σημαντικές θεωρήθηκαν οι διαφορές με P<0,001. Οι διαφορές ανάμεσα

στα είδη αξιολογήθηκαν με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA (One way Anova) και χρήση του Bonferroni posttest. Οι συσχετίσεις αξιολογήθηκαν με το Spearman test. Για τον προσδιορισμό την ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας και των ολικών φαινολικών συστατικών το πείραμα τόσο για τις ελιές όσο και για τα όσπρια επαναλήφθηκε τρεις φορές.

2.2 Υπολογισμός την βιοδιαθεσιμότητας σιδήρου και ψευδαργύρου σε δείγματα οσπρίων

2.2.1 Υλικά

Όλα τα χημικά είναι της εταιρείας Sigma-Aldrich.

Όλα τα υαλικά που χρησιμοποιούνται αφού πλυθούν με σαπούνι και νερό βυθίζονται σε διάλυμα HCl 1N για διάστημα τουλάχιστον 4 ωρών και αφού ξεπλυθούν με αποσταγμένο νερό επαναχρησιμοποιούνται.

2.2.2 Δείγματα

Τα δείγματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα ήταν τα 19 είδη οσπρίων που περιγράφονται στο πίνακα 3.2

2.2.3 Προετοιμασία δειγμάτων

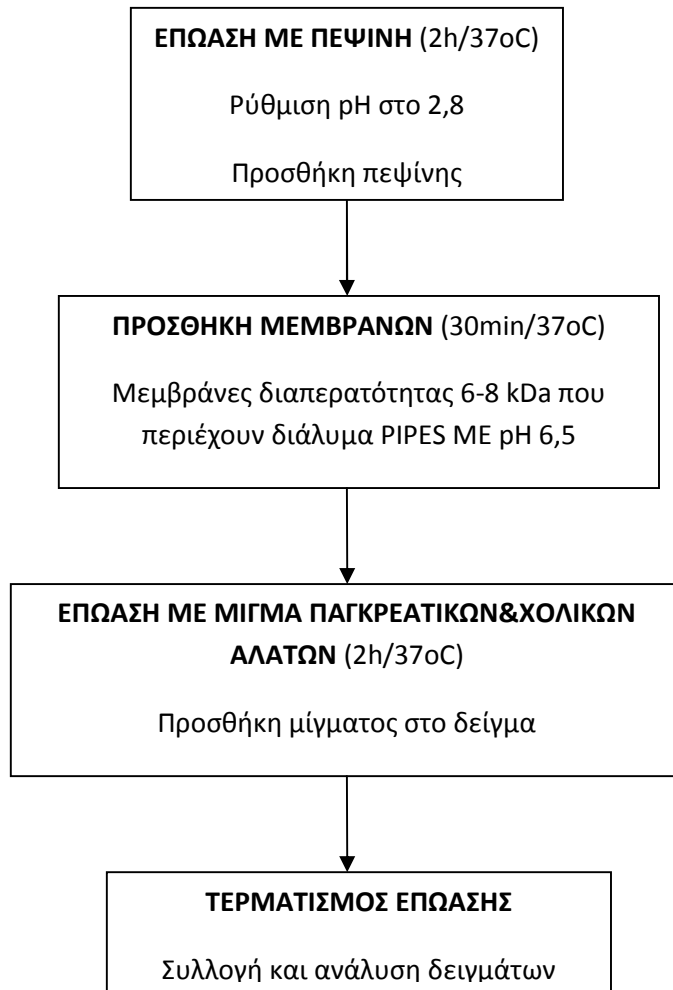
Τα δείγματα οσπρίων αφού βραστούν μεταφέρονταν σε έναν πλαστικό περιέκτη πολυπροπυλενίου όπου και γινόταν η ομογενοποίηση με ομογενοποιητή ULTRA TURRAX T25 Basic. Σε κάθε περιέκτη τοποθετείτε 5g δείγματος και 5ml απιονισμένο νερό ώστε να μπορεί να γίνει η ομογενοποίηση.

2.2.4 Περιγραφή μεθόδου

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε τόσο στον υπολογισμό της βιοδιαθεσιμότητας σιδήρου (Argyri K et al. 2008) και ψευδαργύρου μπορεί να χωριστεί σε τρία

επιμέρους στάδια. Το πρώτο στάδιο είναι αυτό της *in vitro* πέψης των γευμάτων διάρκειας 4,5 ωρών, όπου πραγματοποιείται μια προσομοίωση της διαδικασίας της πέψης που λαμβάνει χώρα στο γαστρεντερικό σύστημα του ανθρώπου. Το δεύτερο στάδιο είναι η παραλαβή των διαλυμάτων που περιέχονται στην ημιπερατή μεμβράνη, τα οποία περιέχουν χαμηλού μοριακού βάρους κλάσματα ενώσεων και αντιστοιχούν στο αντίστοιχο απορροφήσιμο κλάσμα *in vivo*. Στα διαλύματα αυτά γίνεται ο προσδιορισμός του ψευδαργύρου με τη χρήση φασματοφωτομέτρου ατομικής απορρόφησης ενώ ο προσδιορισμός του σιδήρου γίνεται με φασματοφωτόμετρο (plate reader, Elx808). Τέλος, κατά την τρίτη φάση του πειράματος γίνεται η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Η διαδικασία της πέψης είναι η εξής: Αφού το pH των δειγμάτων προσαρμοστεί στο 2,5 και αυτό επιτυγχάνεται με ποσότητα HCl διαφόρων συγκεντρώσεων (συνήθως 1M και 6M), συμπληρώνεται HCL 0.01M τόσο ώστε να έχουμε τελικό όγκο 15ml. 2g από κάθε μείγμα μεταφέρονται σε κάθε πιάτο (well) από τα πιάτα 6 θέσεων (6 well plates) και αφού καλυφθούν με το πλαστικό καπάκι μεταφέρονται σε ένα ανακινούμενο επωαστήριο στον οποίο η θερμοκρασία έχει ρυθμιστεί στους 37° C. Τα δείγματα επωάζονται για 2 ώρες παρουσία 0,1mL πεψίνης που έχει ήδη προστεθεί σε κάθε δείγμα και της κατάλληλης ποσότητας σιδήρου ή ψευδαργύρου ή 0.1ml HCL για το τυφλό. Μετά το πέρας των 2 ωρών και χωρίς να σταματήσει η διαδικασία της επώασης, τοποθετείται σε κάθε πιάτο ένας πλαστικός δακτύλιος ο οποίος φέρει ημιπερατή μεμβράνη η οποία συγκρατείται με ένα ελαστικό πλαστικό δαχτυλίδι. Ο κάθε δακτύλιος είναι γεμάτος με 2 mL ρυθμιστικού διαλύματος PIPES, pH 6,5. Το ρυθμιστικό διάλυμα διαχέεται σταδιακά διαμέσου της μεμβράνης ανεβάζοντας το pH των δειγμάτων από 2,5 σε 6. Η επώαση συνεχίζεται για άλλα 30 λεπτά. Μετά το πέρας αυτού του χρονικού διαστήματος, ο δακτύλιος ανασηκώνεται προσεκτικά και τοποθετείται σε κάθε πιάτο 0,5mL από το μίγμα χολικών-παγκρεατικών αλάτων. Η επώαση συνεχίζεται για άλλες 2 ώρες. Παρουσιάζεται σχηματικά παρακάτω:



Το διάλυμα που περιέχεται στην ημιπερατή μεμβράνη, το οποίο παραλαμβάνεται μετά την επώαση των δειγμάτων κάτω από *in vitro* συνθήκες πέψης, περιέχει χαμηλού μοριακού βάρους κλάσμα ενώσεων που αντιστοιχεί στο αντίστοιχο απορροφήσιμο κλάσμα *in vivo*. Το απομένον εξωτερικά της μεμβράνης διάλυμα περιέχει τόσο τα μεγάλα μοριακού βάρους κλάσματα ενώσεων όσο και τα χαμηλού μοριακού βάρους κλάσματα ενώσεων. Τα υπερκείμενα παραλαμβάνονται και μεταφέρονται για μέτρηση της συγκέντρωσης του σιδήρου ή του ψευδαργύρου.

Η επώαση με πεψίνη αντιστοιχεί στη γαστρική φάση της πέψης. Η περαιτέρω επώαση με παγκρεατίνη και χολικά άλατα αντιστοιχεί στην εντερική φάση της πέψης. Κατά την προσομοίωση της εντερικής φάσης της πέψης, το pH ανέρχεται σταδιακά σε τιμή ~ 6 καθώς το ρυθμιστικό διάλυμα PIPES διαχέεται από την ημιπερατή μεμβράνη και οι συγκεντρώσεις των συστατικών εξισορροπούνται.

2.2.5 Μέτρηση

2.2.5.1 Μέτρηση βιοδιαθεσιμότητας σιδήρου

Ο δισθενής και ολικός (τρισθενής και δισθενής) σίδηρος των διαλυμάτων που περιέχουν τις χαμηλού μοριακού βάρους διαλυτές ενώσεις μετά από κάθε *in vitro* πέψη προσδιορίζονται με τροποποίηση της μεθόδου της φερροζίνης που προτάθηκε από τους Reddy et al. (1986). Για τον προσδιορισμό του ολικού σιδήρου, προστίθεται 0.25 mL διαλύματος καταβύθισης πρωτεϊνών που περιέχει αναγωγικό παράγοντα (PPS reducing) σε 0.5 mL δείγματος. Για τον προσδιορισμό του δισθενούς σιδήρου, προστίθεται 0.25 mL διαλύματος καταβύθισης πρωτεϊνών που δεν περιέχει αναγωγικό παράγοντα (PPS non-reducing) σε 0.5 mL δείγματος. Τα δείγματα παραμένουν όλο το βράδυ σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθως, φυγοκεντρώνονται στα 5000xg για 10 min. 0.1 mL από κάθε υπερκείμενο διάλυμα (εις διπλούν) μεταφέρονται σε τρυβλίο 96-θέσεων. Στη συνέχεια, προστίθεται 0.225 mL διαλύματος που περιέχει ένα (1) μέρος διαλύματος φερροζίνης και οκτώ (8) μέρη ρυθμιστικού διαλύματος HEPES. Οι απορροφήσεις μετρώνται αμέσως μετά την προσθήκη του χρωμογόνου διαλύματος σε microplate reader (ELx808TM, BioTek Instruments, Inc., Vermont, USA), εξοπλισμένο με φίλτρο στα 562 nm. Οι συγκεντρώσεις σιδήρου των δειγμάτων υπολογίζονται αφού αφαιρεθούν οι αντίστοιχες των δειγμάτων-μαρτύρων που δεν περιέχουν προστιθέμενο σίδηρο. Καμπύλη αναφοράς που προκύπτει από απορροφήσεις διαλυμάτων σιδήρου γνωστής συγκέντρωσης χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του σιδήρου στα δείγματα.

2.2.5.2 Μέτρηση βιοδιαθεσιμότητας ψευδαργύρου

Ο προσδιορισμός του ψευδαργύρου γίνεται με μέτρηση της ατομικής απορρόφησης των παραπάνω δειγμάτων σε μήκος κύματος 213,9 nm. Χρησιμοποιείται λυχνία ψευδαργύρου. Γίνεται προσδιορισμός της συγκέντρωσης του ψευδαργύρου με τη βοήθεια πρότυπων καμπυλών. Το κάθε δείγμα μετριέται εις τριπλούν ενώ όλο το πείραμα επαναλήφθηκε 2 φορές.

2.2.6 Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με χρήση του προγράμματος SPSS (SPSS V13.0). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέσος \pm τυπική απόκλιση, ενώ στατιστικά σημαντικές θεωρήθηκαν οι διαφορές με $P < 0,001$. Οι διαφορές ανάμεσα στα είδη αξιολογήθηκαν με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA (One way Anova) και χρήση του Bonferroni posttest. Οι συσχετίσεις αξιολογήθηκαν με το Spearman test. Για τον προσδιορισμό του σιδήρου και του ψευδαργύρου του κάθε δείγματος το πείραμα επαναλήφθηκε δύο φορές ενώ για κάθε ένα δείγμα σε κάθε πείραμα έγιναν δύο μετρήσεις.

2.2.7 Υπολογισμοί

2.2.7.1 Υπολογισμός σιδήρου

Ο δισθενής σίδηρος και ο ολικός σίδηρος εκφράζονται ως ποσοστά του υπολογισμένου συνολικού σιδήρου στο δείγμα στην αρχή της πέψης.

$$^a[\text{δισθενής}]_D (\mu\text{g/mL}) \times ^b \text{συνολικός όγκος (mL)}$$

Δισθενής σίδηρος: -----x 100

σίδηρος στο αρχικό δείγμα (μg)

$$^c[\text{ολικός}]_D (\mu\text{g/mL}) \times ^b \text{συνολικός όγκος (mL)}$$

Ολικός σίδηρος: -----x100

σίδηρος στο αρχικό δείγμα (μg)

^a συγκέντρωση δισθενούς σιδήρου στο κλάσμα χαμηλού μοριακού βάρους.

^b όγκος κλάσματος χαμηλού μοριακού βάρους + όγκος κλάσματος υψηλού μοριακού βάρους.

^c συγκέντρωση ολικού σιδήρου στο κλάσμα υψηλού μοριακού βάρους.

2.2.7.2 Υπολογισμός ψευδαργύρου

Η συγκέντρωση του ψευδαργύρου στο εκάστοτε γεύμα υπολογίζεται με τη βοήθεια πρότυπων καμπυλών ψευδαργύρου. Έπειτα η απορρόφηση του ψευδαργύρου εκφράζεται ως ποσοστό του αρχικά περιεχομένου ψευδαργύρου στο κάθε γεύμα πριν αυτό υποβληθεί στη διαδικασία της *in vitro* πέψης. Επομένως η απορρόφηση του ψευδαργύρου εκφράζεται με το παρακάτω κλάσμα :

Απορρόφηση ψευδαργύρου = (Συγκέντρωση Zn μετά την πέψη / Συγκέντρωση Zn στο αρχικό δείγμα) X 100

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Ελιές

Μετά από διερεύνηση της βιβλιογραφίας, επιλέχθηκαν για ανάλυση 8 ελληνικές ποικιλίες επιτραπέζιας ελιάς. Μελετήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα των ελιών με 2 μεθόδους (FRAP και ORAC), καθώς και η περιεκτικότητα των ολικών φαινολικών συστατικών (FOLIN).

Από τα αποτελέσματα φαίνεται πως η αντιοξειδωτική ικανότητα των φυσικών μαύρων ελιών είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τις τεχνητά μαυρισμένες ελιές. Επίσης οι φυσικές πράσινες έχουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τις ισπανικού τύπου. Οι βιολογικές ελιές δεν εμφανίζουν καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά σε σχέση με τις συμβατικές ελιές.

Τα αποτελέσματα που αφορούν στην περιεκτικότητα των ολικών φαινολικών συστατικών συγκλίνουν με τα αποτελέσματα της αντιοξειδωτικής ικανότητας.

Στον Πίνακα 3.1, Πίνακα 3.2 και Πίνακα 3.3 που ακολουθούν φαίνονται οι απορροφήσεις των ελιών (\pm την τυπική απόκλιση) για την μέθοδο FRAP, την μέθοδο ORAC και την μέθοδο FOLIN αντίστοιχα

Πίνακας 3.1 Αντιοξειδωτική ικανότητα διαφορετικών ποικιλιών και εμπορικών τύπων επιτραπέζιας ελιάς με την μέθοδο FRAP.

ΕΛΙΑ	$\mu\text{mol Fe / g ελιάς}$
Καλαμών φυσική μαύρη ^{ac}	44.335 \pm 3.92
Κονσερβολιά φυσική μαύρη ^{ac}	34.325 \pm 7.03
Καλαμών φυσική μαύρη-βιολογική ^{ac}	44.154 \pm 1.2
Χαλκιδικής πράσινη Ισπανικού τύπου ^b	13.811 \pm 1.03
Κονσερβολιά πράσινη Ισπανικού τύπου ^b	11.355 \pm 0.26
Κονσερβολιά φυσική μαύρη-βιολογική ^b	13.032 \pm 1.16
Μεγαρείτικη φυσική πράσινη ^c	30.340 \pm 2.02
Γαιδουρελιά φυσική πράσινη ^c	37.156 \pm 1.81
Τεχνητά μαυρισμένη με οξείδωση ^b	9.410 \pm 1.15
Θάσου ξηράλατη ^d	99.955 \pm 15.89

Πίνακας 3.2 Αντιοξειδωτική ικανότητα διαφορετικών ποικιλιών και εμπορικών τύπων επιτραπέζιας ελιάς με τη μέθοδο ORAC.

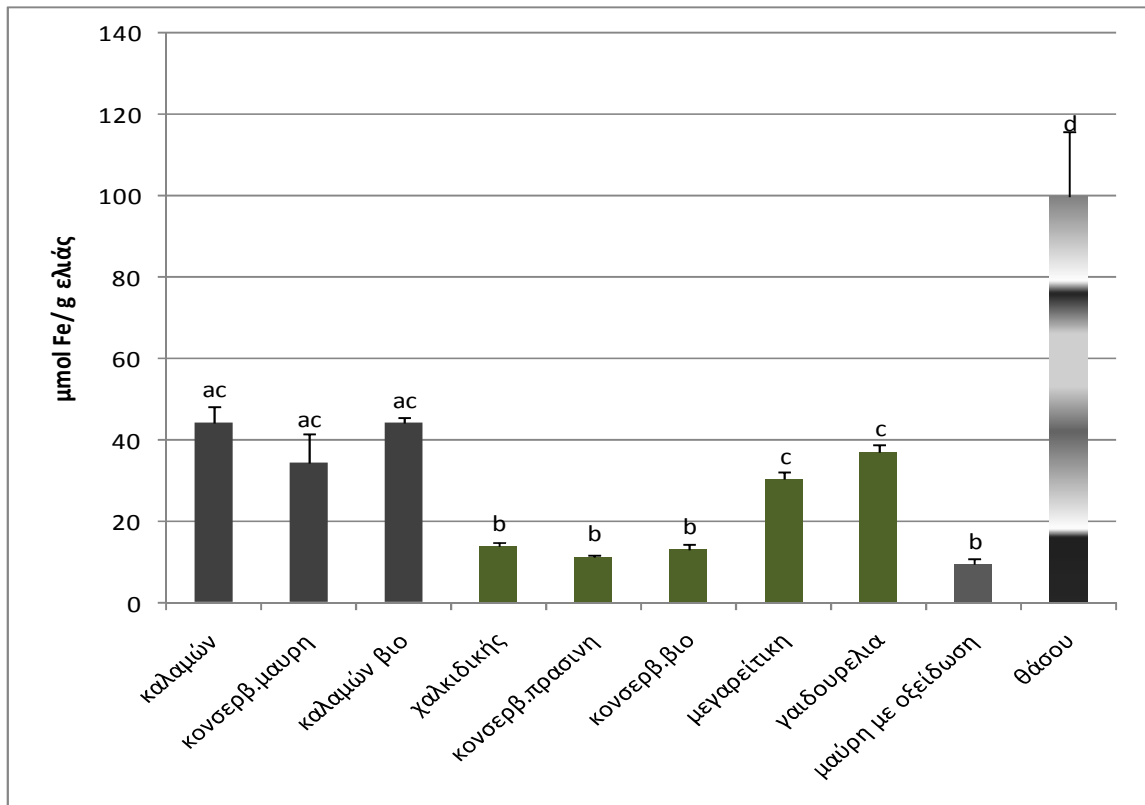
ΕΛΙΑ	Ισοδύναμα trolox
------	------------------

Καλαμών φυσική μαύρη ^a	2350.654± 343.62
Κονσερβολιά φυσική μαύρη ^a	2051.705± 227.33
Καλαμών φυσική μαύρη-βιολογική ^a	2767.157± 514.09
Χαλκιδικής πράσινη Ισπανικού τύπου ^b	1252.823± 249.00
Κονσερβολιά πράσινη Ισπανικού τύπου ^b	1145.583± 149.33
Κονσερβολιά φυσική μαύρη-βιολογική ^b	1208.580± 108.46
Μεγαρείτικη φυσική πράσινη ^{ab}	1990.359±240.90
Γαιδουρελιά φυσική πράσινη ^a	2564.257± 122.55
Τεχνητά μαυρισμένη με οξείδωση ^b	1280.809± 64.76
Θάσου ξηράλατη ^d	4387.786± 323.27

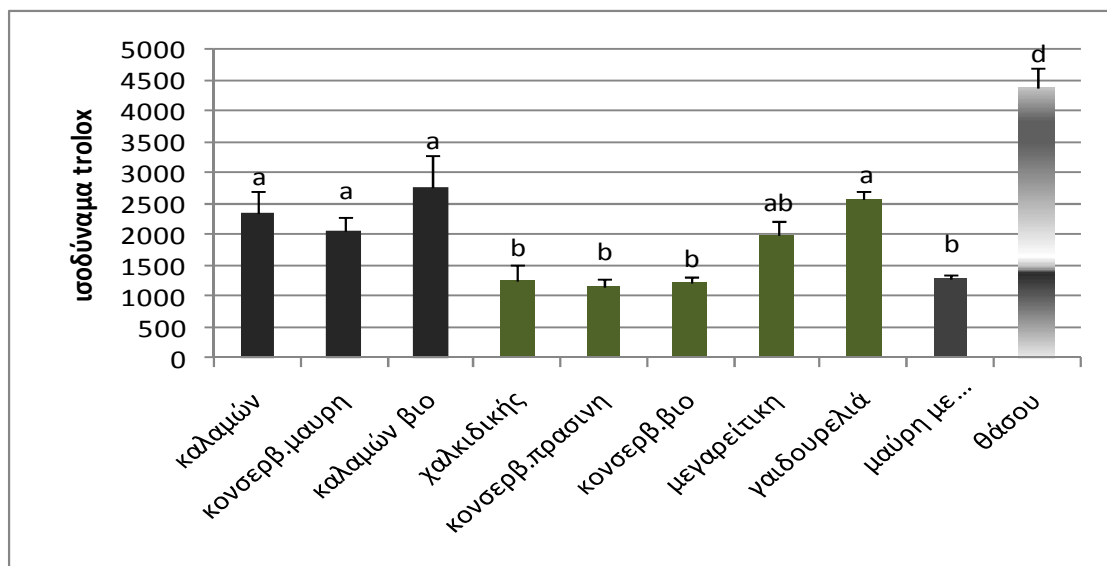
Πίνακας 3.3 Ολικά φαινολικά συστατικά διαφορετικών ποικιλιών και εμπορικών τύπων επιτραπέζιας ελιάς με τη μέθοδο FOLIN.

ΕΛΙΑ	mg g.a/ g ελιάς
Καλαμών φυσική μαύρη ^a	0.726± 0.07
Κονσερβολιά φυσική μαύρη ^a	0.514± 0.08
Καλαμών φυσική μαύρη-βιολογική ^a	0.793± 0.05
Χαλκιδικής πράσινη Ισπανικού τύπου ^b	0.214± 0.06
Κονσερβολιά πράσινη Ισπανικού τύπου ^b	0.237± 0.16
Κονσερβολιά φυσική μαύρη-βιολογική ^b	0.277± 0.19
Μεγαρείτικη φυσική πράσινη ^{ab}	0.540± 0.14
Γαιδουρελιά φυσική πράσινη ^{ab}	0.588± 0.16
Τεχνητά μαυρισμένη με οξείδωση ^b	0.290± 0.21
Θάσου ξηράλατη ^c	2.198± 0.15

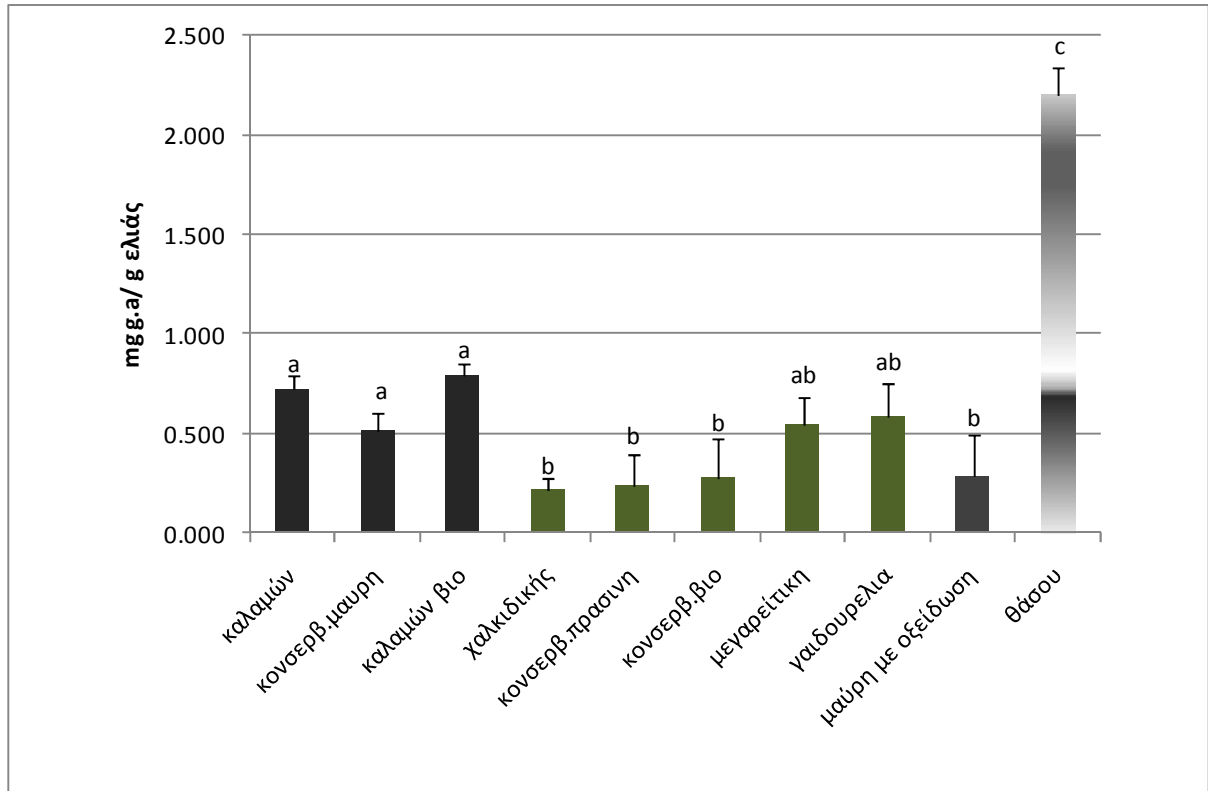
Τα στοιχεία του **Πίνακα 3.1** του **Πίνακα 3.2** και του **Πίνακα 3.3** παρουσιάζονται και με τη μορφή ραβδογράμματος στα διαγράμματα που ακολουθούν :



Διάγραμμα 3.1 Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής ικανότητας διαφορετικών ποικιλιών και εμπορικών τύπων επιτραπέζιας ελιάς με την μέθοδο FRAP.



Διάγραμμα 3.2 Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής ικανότητας διαφορετικών ποικιλιών και εμπορικών τύπων επιτραπέζιας ελιάς με την μέθοδο ORAC.



Διάγραμμα 3.3 Περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά συστατικά διαφορετικών ποικιλιών και εμπορικών τύπων επιτραπέζιας ελιάς με τη μέθοδο FOLIN.

3.2 Όσπρια

Ύστερα από μελέτη της υπάρχουσας βιβλιογραφίας, επιλέχθηκαν τα 10 είδη ελληνικών οσπρίων. Στα όσπρια αποφασίστηκε να μετρηθεί η αντιοξειδωτική ικανότητα με τις 2 μεθόδους (FRAP και ORAC), όπως και στις ελιές, η περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά συστατικά (FOLIN) καθώς και η προβλεπόμενη βιοδιαθεσιμότητα τους σε σίδηρο και ψευδάργυρο.

Από τα αποτελέσματα και των 2 μεθόδων προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας φαίνεται πως οι φακές(ψιλή, βιολογική και χονδρή) υπερτερούν σε σχέση με τα υπόλοιπα όσπρια. Δεύτερα έρχονται τα μπαμπουνοφάσουλα (συμβατικό και μη). Με την μέθοδο ORAC ξεχώρισε το μαυρομάτικο όπου έχει παρόμοια αντιοξειδωτική ικανότητα με τις φακές, κάτι που δεν εμφανίστηκε με την μέθοδο FRAP. Τα συμβατικής καλλιέργειας όσπρια δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά από της βιολογικής καλλιέργειας.

Τα αποτελέσματα των ολικών φαινολικών συγκλίνουν με τα αποτελέσματα των αντιοξειδωτικών.

Μετά την *in vitro* πέψη των βρασμένων οσπρίων μετρήθηκε η διαλυτότητα συμπλόκων χαμηλού μοριακού βάρους του ολικού(δισθενής και τρισθενής) και του δισθενή σιδήρου στα διάφορα είδη οσπρίων. Η διαλυτότητα είναι δείκτης πρόβλεψης της βιοδιαθεσιμότητας του σιδήρου στον οργανισμό. Παρατηρούμε ότι μεταξύ των ειδών υπάρχουν διαφορές. Στα αποτελέσματα του ολικού σιδήρου φαίνεται ότι η προβλεπόμενη βιοδιαθεσιμότητα στους γίγαντες και στους ελέφαντες είναι η μεγαλύτερη. Ενώ στην μέτρηση της διαλυτότητας των συμπλόκων του δισθενούς σιδήρου φαίνεται να ξεχωρίζουν οι φακές. Στην προβλεπόμενη βιοδιαθεσιμότητα ψευδαργύρου όλα τα είδη κυμαίνονται στα ίδια περίπου ποσοστά με μικρές διαφορές μεταξύ τους.

Στους **Πίνακα 3.4**, **Πίνακα 3.5** καθώς και στον **Πίνακα 3.6** που ακολουθούν φαίνονται οι απορροφήσεις των οσπρίων \pm την τυπική απόκλιση για την μέθοδο FRAP, την μέθοδο ORAC και την μέθοδο FOLIN αντίστοιχα. Επίσης στον **Πίνακα 3.7**, στον **Πίνακα 3.8** και στον **Πίνακα 3.9** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της βιοδιαθεσιμότητας του σιδήρου (ολικού και δισθενή) και του ψευδαργύρου αντίστοιχα.

Πίνακας 3.4 Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο FRAP

ΟΣΠΡΙΑ	$\mu\text{mol Fe/ g οσπρίου}$
φακή ψιλή ^b	9.241 \pm 2.24
φακή ψιλή βιολογική ^b	9.509 \pm 0.45
φακή χονδρή ^b	9.286 \pm 1.88
φάβα ^a	1.211 \pm 0.60
φάβα βιολογική ^a	1.562 \pm 0.20
μαυρομάτικο ^a	2.964 \pm 0.54
φασόλι μέτριο ^a	1.748 \pm 0.24
φασόλι μέτριο βιολογικό ^a	1.671 \pm 0.22
φασόλι μεγάλο ^a	2.073 \pm 0.48
φασόλι μεγάλο βιολογικό ^a	1.637 \pm 0.27
γίγαντας ^a	1.904 \pm 0.14
γίγαντας βιολογικός ^a	1.741 \pm 0.24
ελέφαντας ^a	2.015 \pm 0.53
ελέφαντας βιολογικός ^a	1.726 \pm 0.39
μπαρμπουνοφάσουλο ^{ab}	5.833 \pm 1.82
μπαρμπουνοφάσουλο βιολογικό ^{ab}	4.987 \pm 2.60
ρεβύθι ^a	1.237 \pm 0.24
ρεβύθι βιολογικό ^a	1.120 \pm 0.05

Πίνακας 3.5 Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής ικανότητας των οσπρίων με την μέθοδο ORAC

ΟΣΠΡΙΑ	Ισοδύναμα trolox
φακή ψιλή ^a	1331.741± 241.39
φακή ψιλή βιολογική ^a	1340.717±126.09
φακή χονδρή ^a	1493.310± 239.54
φάβα ^b	730.290± 185.87
φάβα βιολογική ^b	473.463± 99.81
μαυρομάτικο ^a	1148.241± 227.23
φασόλι μέτριο ^b	475.970± 97.27
φασόλι μέτριο βιολογικό ^b	575.746± 66.83
φασόλι μεγάλο ^{bc}	793.221± 83.93
φασόλι μεγάλο βιολογικό ^b	567.671± 111.60
γίγαντας ^b	579.510± 100.12
γίγαντας βιολογικός ^b	363.427± 99.26
ελέφαντας ^b	360.227± 135.57
ελέφαντας βιολογικός ^b	458.881± 56.70
μπαρμπουνοφάσουλο ^{bc}	777.794± 61.36
μπαρμπουνοφάσουλο βιολογικό ^{bc}	761.074± 175.75
ρεβύθι ^b	503.169± 14.15
ρεβύθι βιολογικό ^{bd}	279.959± 204.50

Πίνακας 3.6 ολικά φαινολικά συστατικά των οσπρίων με τη μέθοδο FOLIN

ΟΣΠΡΙΑ	mg g.a/ g οσπρίου
φακή ψιλή ^b	0.285+ 0.006
φακή ψιλή βιολογική ^b	0.260+ 0.00
φακή χονδρή ^b	0.263+ 0.001
φάβα ^a	0.109+ 0.003
φάβα βιολογική ^a	0.122+ 0.006
μαυρομάτικο ^a	0.156+ 0.013
φασόλι μέτριο ^a	0.123+ 0.016
φασόλι μέτριο βιολογικό ^a	0.105+ 0.004
φασόλι μεγάλο ^a	0.143+ 0.021
φασόλι μεγάλο βιολογικό ^a	0.119+ 0.016
γίγαντας ^a	0.150+ 0.027
γίγαντας βιολογικός ^a	0.137+ 0.011
ελέφαντας ^a	0.129+ 0.026
ελέφαντας βιολογικός ^a	0.130+ 0.015
μπαρμπουνοφάσουλο ^{ab}	0.239+ 0.006
μπαρμπουνοφάσουλο βιολογικό ^{ab}	0.248+ 0.031
ρεβύθι ^a	0.131+ 0.004
ρεβύθι βιολογικό ^a	0.135+ 0.014

Πίνακας 3.7 Διαλυτότητα (%) συμπλόκων σιδήρου (ολικού) χαμηλού μοριακού βάρους στα όσπρια

ΟΣΠΡΙΑ	Dialyzability (ολικού σιδήρου) %
φακή ψιλή ^a	8.972± 0.29
φακή ψιλή βιολογική ^c	3.070± 0.72
φακή χονδρή ^a	8.616± 1.94

φάβα ^a	9.074± 4.46
φάβα βιολογική ^{ac}	5.258± 1.80
μαυρομάτικο ^{ac}	4.647± 0.94
φασόλι μέτριο ^a	9.838± 0.79
φασόλι μέτριο βιολογικό ^a	8.616± 1.22
φασόλι μεγάλο ^a	9.278± 1.44
φασόλι μεγάλο βιολογικό ^a	10.296± 0.43
γίγαντας ^{ab}	12.687± 2.23
γίγαντας βιολογικός ^{ab}	14.163± 2.16
ελέφαντας ^{ab}	17.827± 4.89
ελέφαντας βιολογικός ^{ab}	13.909± 2.37
μπαρμπουνοφάσουλο ^a	9.023± 0.65
μπαρμπουνοφάσουλο βιολογικό ^a	9.176± 2.02
ρεβύθι ^a	8.616± 3.96
ρεβύθι βιολογικό ^a	8.515± 2.37

Πίνακας 3.8 Διαλυτότητα (%) συμπλόκων σιδήρου (δισθενούς) χαμηλού μοριακού βάρους στα όσπρια

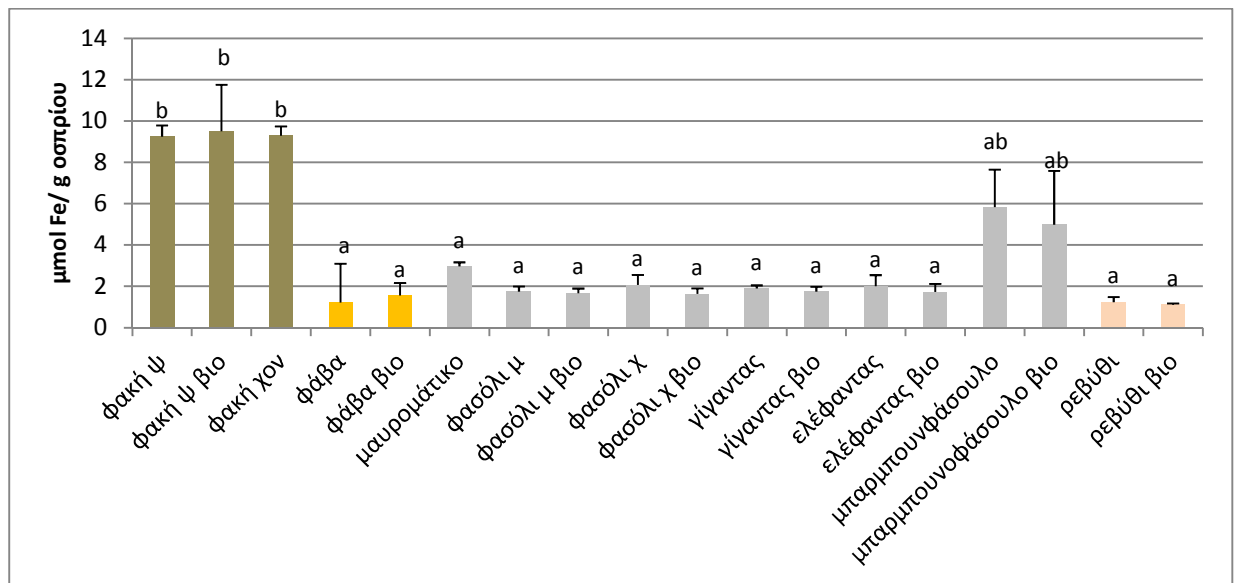
ΟΣΠΡΙΑ	Dialyzability (δισθενούς σιδήρου) %
φακή ψιλή ^c	7.039± 0.29
φακή ψιλή βιολογική ^{ab}	2.764± 0.29
φακή χονδρή ^{abc}	5.665± 0.36
φάβα ^a	1.187± 0.07
φάβα βιολογική ^a	2.001± 1.22
μαυρομάτικο ^a	0.423± 0.29
φασόλι μέτριο ^a	0.881± 0.22
φασόλι μέτριο βιολογικό ^a	0.271± 0.22
φασόλι μεγάλο ^{ab}	2.255± 0.58
φασόλι μεγάλο βιολογικό ^a	0.525± 0.58
γίγαντας ^a	1.085± 0.94
γίγαντας βιολογικός ^{ab}	2.815± 0.36
ελέφαντας ^a	0.983± 1.08
ελέφαντας βιολογικός ^a	0.220± 0.14
μπαρμπουνοφάσουλο ^{ab}	2.866± 1.01
μπαρμπουνοφάσουλο βιολογικό ^{ab}	2.561± 1.58
ρεβύθι ^a	1.492± 1.80
ρεβύθι βιολογικό ^a	0.322± 0.43

Πίνακας 3.9 Διαλυτότητα (%) συμπλόκων ψευδαργύρου χαμηλού μοριακού βάρους στα όσπρια

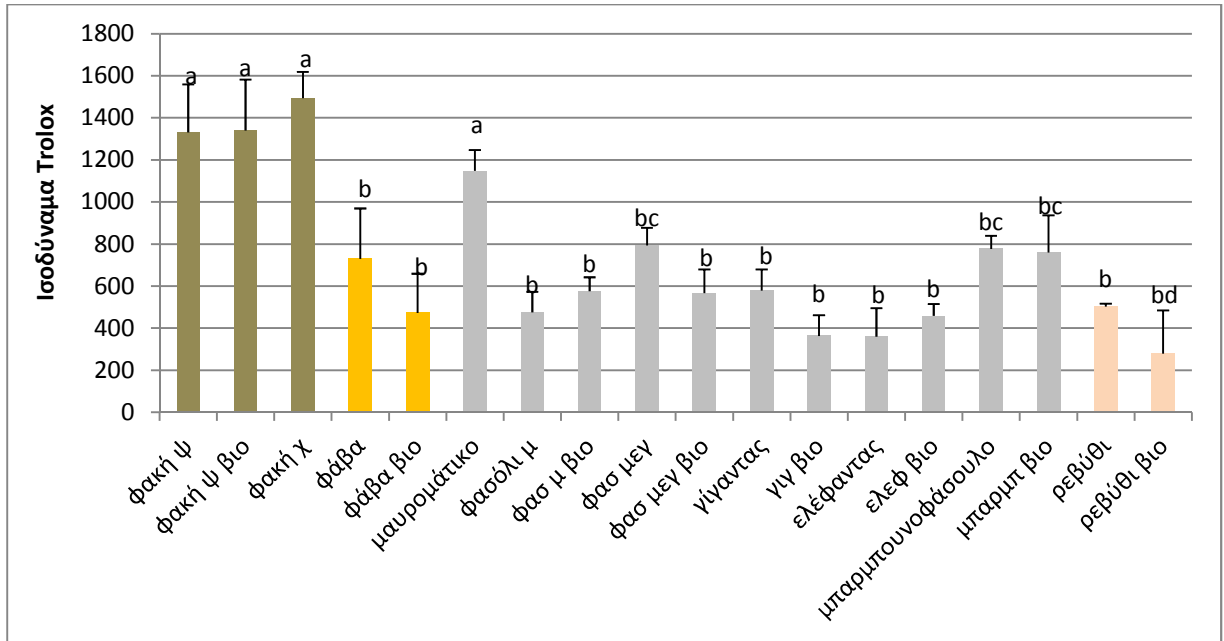
ΟΣΠΡΙΑ	Dialyzability ψευδαργύρου %
φακή ψιλή ^{bc}	7.660± 1.89
φακή ψιλή βιολογική ^{bc}	6.698± 0.84
φακή χονδρή ^{bc}	6.790± 1.75
φάβα ^a	9.661± 0.57

φάβα βιολογική ^d	2.640±0.44
μαυρομάτικο ^{ab}	8.495± 0.00
φασόλι μέτριο ^{ab}	8.796± 0.00
φασόλι μέτριο βιολογικό ^c	4.843± 0.00
φασόλι μεγάλο ^{bc}	7.526± 0.00
φασόλι μεγάλο βιολογικό ^c	5.144± 0.00
γίγαντας ^a	10.418± 0.00
γίγαντας βιολογικός ^{bc}	7.233± 0.00
ελέφαντας ^a	12.700± 0.00
ελέφαντας βιολογικός ^{ab}	8.880± 0.00
μπαρμπονοφάσουλο ^c	5.206± 0.80
μπαρμπονοφάσουλο βιολογικό ^{bc}	8.086± 0.99
ρεβύθι ^d	3.606± 0.40
ρεβύθι βιολογικό ^d	4.199± 0.31

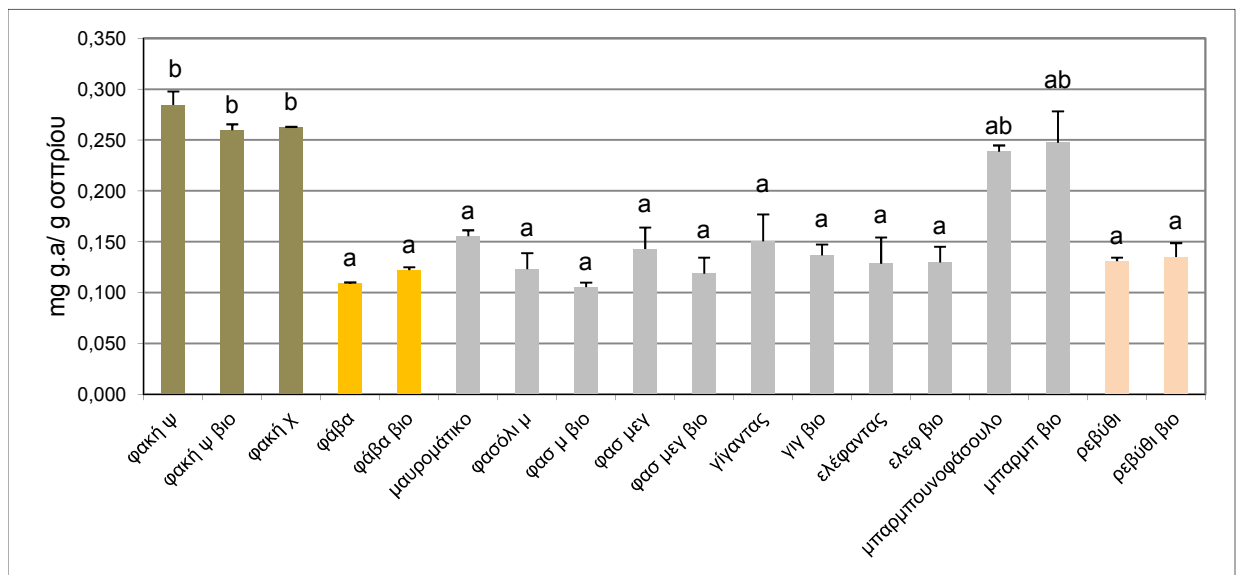
Τα στοιχεία των Πίνακα 3.4, Πίνακα 3.5, Πίνακα 3.6, Πίνακα 3.7, Πίνακα 3.8 και Πίνακα 3.9 παρουσιάζονται και με τη μορφή ραβδογράμματος στα διαγράμματα που ακολουθούν :



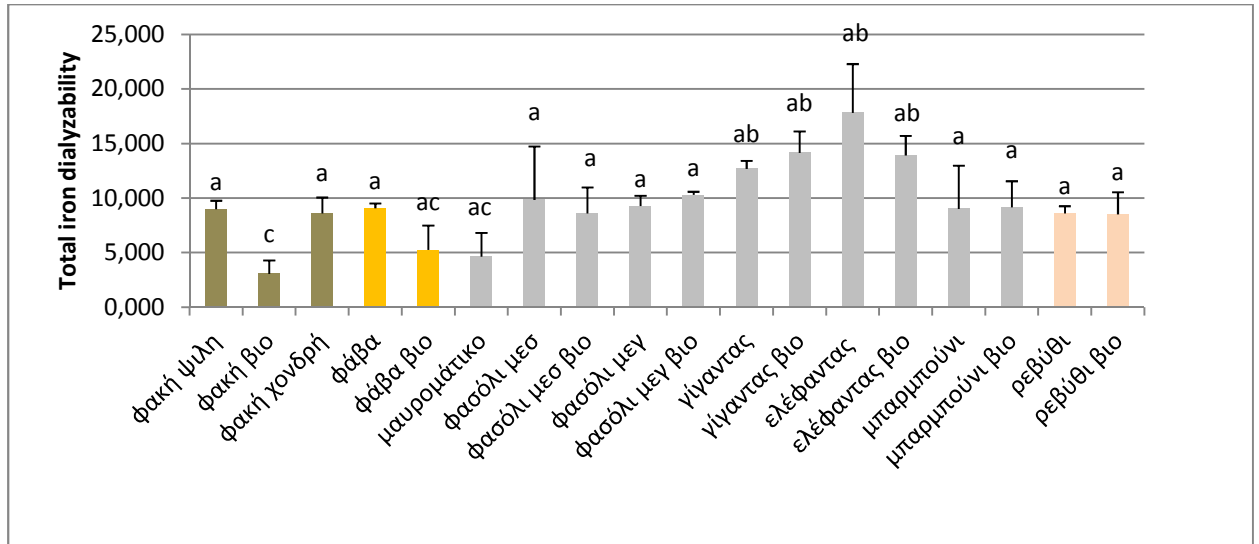
Διάγραμμα 3.4 αποτελέσματα αντιοξειδωτικής ικανότητας των οσπρίων με την μέθοδο FRAP



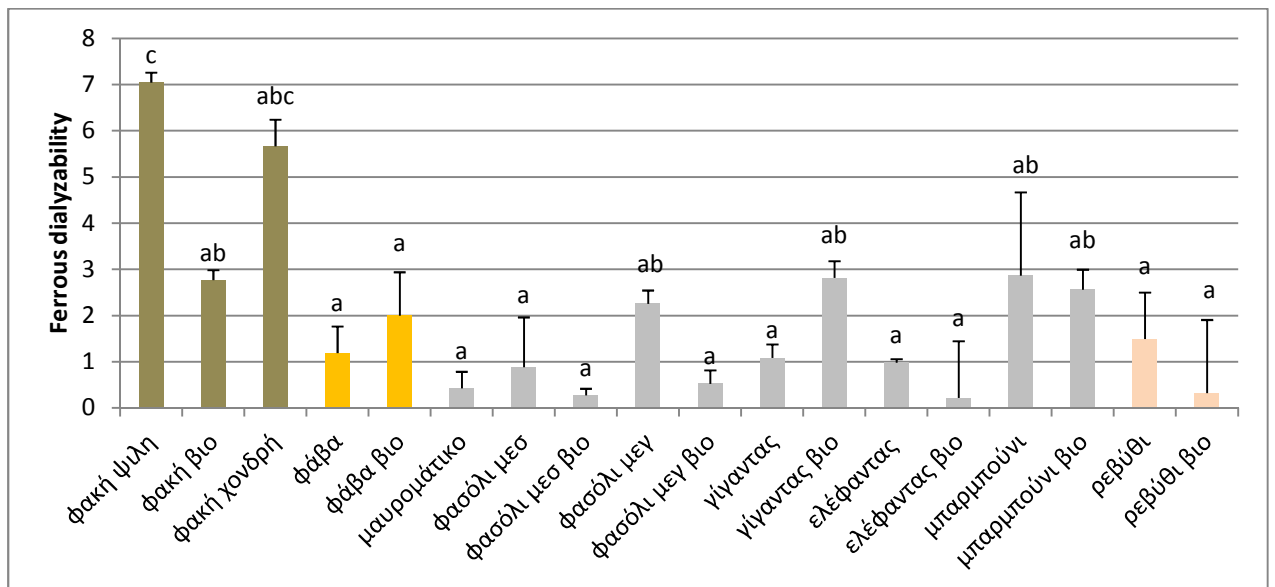
Διάγραμμα 3.5 Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής ικανότητας των οσπρίων με την μέθοδο ORAC



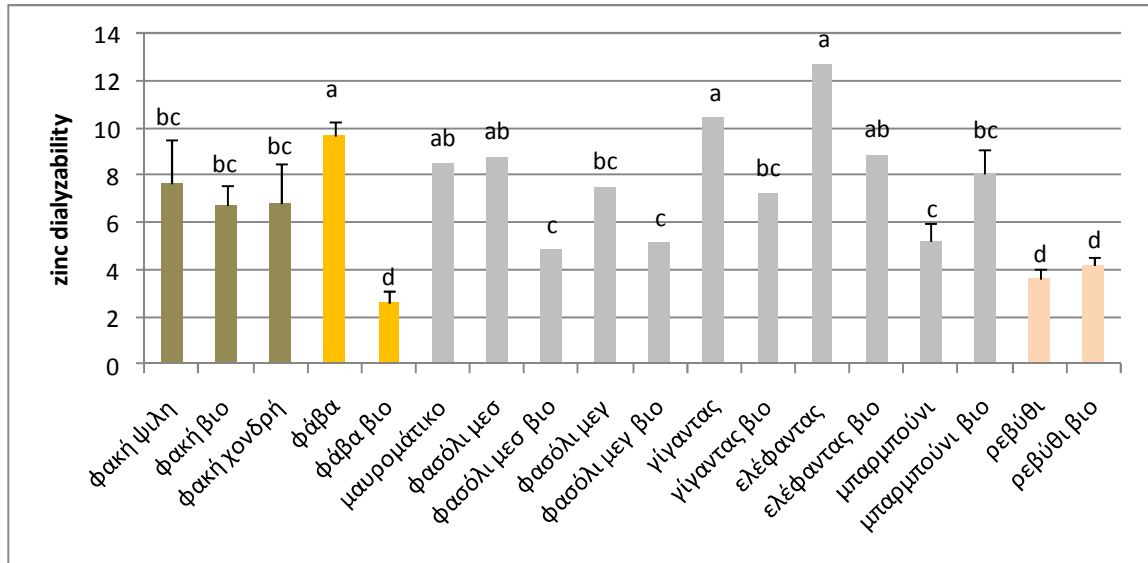
Διάγραμμα 3.6 ολικά φαινολικά συστατικά των οσπρίων με τη μέθοδο FOLIN



Διάγραμμα 3.7 Διαλυτότητα (%) συμπλόκων σιδήρου (ολικού) χαμηλού μοριακού βάρους στα όσπρια



Διάγραμμα 3.8 Διαλυτότητα (%) συμπλόκων σιδήρου (δισθενή) χαμηλού μοριακού βάρους στα όσπρια



Διάγραμμα 3.9 Διαλυτότητα (%) συμπλόκων σιδήρου ψευδαργύρου χαμηλού μοριακού βάρους στα όσπρια

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι επιτραπέζιες ελιές και τα όσπρια είναι βασικά τρόφιμα φυτικής προέλευσης που εντάσσονται στο μοντέλο της μεσογειακής διατροφής και χαρακτηριστικά της ελληνικής κουλτούρας. Η επιστημονική κοινότητα, εδώ και πολλά χρόνια, έχει δείξει μεγάλο ενδιαφέρον στην έρευνα γύρω από τα χαρακτηριστικά των επιτραπέζιων ελιών και την επίδρασή τους στην υγεία του ανθρώπου. Ενώ στην Ελλάδα καλλιεργούνται πολλά είδη οσπρίων και οι Έλληνες βρίσκονται στην κορυφή της λίστας με την υψηλότερη κατανάλωση οσπρίων μεταξύ των Ευρωπαίων, οι έρευνες γύρω από τα όσπρια είναι περιορισμένες. Τα 3 τελευταία χρόνια έχουν αυξηθεί οι έρευνες γύρω από την αντιοξειδωτική ικανότητα των οσπρίων καθώς και γύρω από την περιεκτικότητά τους σε φαινολικά συστατικά.

Υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον γύρω από την αντιοξειδωτική ικανότητα φρούτων και λαχανικών κυρίως, καθώς και την περιεκτικότητά τους σε φαινολικά συστατικά. Αυτό συμβαίνει κυρίως γιατί οι φαινολικές ενώσεις, ως αναγωγικοί παράγοντες αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες και τις δεσμεύουν μειώνοντας τις βλαπτικές συνέπειες που έχουν για τον ανθρώπινο οργανισμό όπως είναι τα καρδιακά νοσήματα.

Το πρώτο σημαντικό *εύρημα* της παρούσας μελέτης είναι η ομαδοποιημένη παρουσίαση 8 ελληνικών ποικιλιών επιτραπέζιας ελιάς ως προς την *in vitro* αντιοξειδωτική τους ικανότητα με δύο μεθόδους και ως προς την περιεκτικότητά τους σε ολικά φαινολικά συστατικά (Διάγραμμα 1.1, 1.2 και 1.3).

Καταρχάς, από τα διαγράμματα 1.1, 1.2 και 1.3 προκύπτει ότι οι δύο ποικιλίες φυτικής μαύρης ελιάς (Καλαμών και Κονσερβολιά) που μελετήσαμε δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά και αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι τόσο η Καλαμών όσο και η Κονσερβολιά είναι φυτικές μαύρες ελιές σε άλμη, οπότε έχουν επεξεργαστεί με τον ίδιο τρόπο για να ξεπικρίσουν και να γίνουν βρώσιμες.

Στις τέσσερις ποικιλίες πράσινης ελιάς που μελετήσαμε, παρατηρούμε πως η Μεγαρείτικη και η γαιδουρελιά υπερیشύουν σε αντιοξειδωτική ικανότητα και σε περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά σε σχέση με την Κονσερβολιά και την

Χαλκιδικής. Αυτό συμβαίνει γιατί η Μεγαρείτικη και η Γαιδουρελιά είναι φυσικές πράσινες ελιές σε άλμη και δεν έχουν υποστεί προηγούμενη επεξεργασία με καυστικό νάτριο για εκπίκριση. Αντίθετα, η Κονσερβολιά και η Χαλκιδικής είναι ελιές Ισπανικού τύπου, όπου κατά την επεξεργασία τους με καυστικό νάτριο μέρος των φαινολικών συστατικών υδρολύονται και χάνονται με αποτέλεσμα να έχουν χαμηλότερη περιεκτικότητα από τις φυσικές πράσινες ελιές (Romero et al. 2004).

Οι φυσικές μαύρες ελιές υπερισχύουν σε σχέση με τις φυσικές πράσινες ελιές ως προς τα χαρακτηριστικά που μετράμε. Οι καρποί που προορίζονται να επεξεργαστούν ως φυσικές μαύρες ελιές συγκομίζονται σε μεγαλύτερο βαθμό ωριμότητας σε σχέση με τους πράσινους καρπούς και αυτή η διαφορά στο βαθμό ωριμότητας αντανακλάται στη διαφορετική συγκέντρωση φαινολικών συστατικών. Κατά την ωρίμανση του καρπού η συγκέντρωση της ελευρωπαΐνης μειώνεται ενώ παράλληλα υπάρχει μια αύξηση της υδροξυτυροσόλης η οποία βρίσκεται και στις μαύρες ελιές σε υψηλά ποσοστά. Η παρατήρηση αυτή βρίσκεται σε συμφωνία με προηγούμενη έρευνα (Zoidou Evangelia et al. 2010) σύμφωνα με την οποία η ποικιλία Καλαμών έχει την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε υδροξυτυροσόλη μεταξύ 9 ελληνικών ποικιλιών. Το μαύρο χρώμα στις ώριμες ελιές οφείλεται στην παρουσία των ανθοκυανινών, οι οποίες είναι ισχυρά αντιοξειδωτικά (Romero et al. 2004). Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρονται σε προηγούμενη έρευνα (Pellegrini et al. 2003) όπου μελετήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα τροφίμων φυτικής προέλευσης με τη μέθοδο FRAP. Στη μελέτη αυτή, οι μαύρες και πράσινες ελιές κατέλαβαν την 4^η και 6^η θέση μεταξύ των τροφίμων με την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα με τιμές 39,99 και 24,59 mmol Fe/κίλο σάρκας, αντίστοιχα.

Υψηλότερη στα χαρακτηριστικά που μετρούμε είναι η ποικιλία της Θάσου, όπως φαίνεται στα διαγράμματα 1.1, 1.2 και 1.3. Αυτό δικαιολογείται από το γεγονός ότι η ποικιλία αυτή ανήκει στην κατηγορία των αφυδατωμένων (ξηράλατων) ελιών οι οποίες δεν υποβάλλονται σε ζύμωση, αλλά σε ωρίμανση (curing) με τη στρωμάτωση σε αλάτι. Οι ελιές αυτές υφίστανται ελαφρά επεξεργασία και ένα σημαντικό χαρακτηριστικό τους είναι η χαμηλή περιεκτικότητα σε υγρασία. Έτσι, στη Θάσου, η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών είναι υψηλότερη λόγω της αφυδάτωσής τους. Σε σχετική μελέτη που έγινε για τις ελιές θάσου (Zoidou Evangelia et al. 2010) έδειξε ότι η θάσου έχει τα υψηλότερα ποσοστά ελευρωπαΐνης συγκριτικά με 9

ελληνικές ποικιλίες. Μάλιστα στις 6 από τις 9 ποικιλίες δεν ανιχνεύτηκε καθόλου ελευρωπαϊνή .

Στα ίδια επίπεδα με τις ελιές Ισπανικού τύπου είναι η μαυρισμένη με οξείδωση ελιά όπου η εκπίκριση και το τεχνητό μαύρισμα γίνεται ταυτόχρονα με διείσδυση του διαλύματος του αλκαλίου ως τον πυρήνα, που συνοδεύεται με έκθεση του ελαιόκαρπου σε ρεύμα αέρα για οξείδωση (μαύρισμα). Χαρακτηριστικό της επεξεργασίας είναι ότι η διείσδυση του καυστικού νατρίου στη σάρκα δε γίνεται άπαξ, αλλά πραγματοποιούνται διαδοχικές εμβαπτίσεις σε τρία ή περισσότερα διαλύματα NaOH διαφορετικής πυκνότητας, διακοπτόμενες με έκθεση κάθε φορά σε οξείδωση (Μπαλατσούρας Δ. Γεωργίου). Έτσι η επεξεργασία απαιτεί περισσότερες πλύσεις γεγονός που μειώνει την περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά (Romero et al. 2004).

Το δεύτερο σημαντικό *εύρημα* είναι η ομαδοποιημένη παρουσίαση 10 ελληνικών ειδών οσπρίων ως προς την αντιοξειδωτική τους ικανότητα με δύο μεθόδους και ως προς την περιεκτικότητα τους σε ολικά φαινολικά συστατικά (Διάγραμμα 3.4, 3.5 και 3.6). Τα αποτελέσματα της αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο FRAP και τα αποτελέσματα των ολικών φαινολικών συστατικών με την μέθοδο FOLIN συγκλίνουν. Και στα 2 αυτά διαγράμματα ξεχωρίζει η οικογένεια των φακών και δεύτερα στη σειρά έρχονται τα μπαρμπονοφάσουλα από την οικογένεια των φασολιών. Όλα τα υπόλοιπα όσπρια βρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα. Με την μέθοδο ORAC ξεχωρίζει πάλι η οικογένεια των φακών μαζί με το μαυρομάτικο, τα μπαρμπονοφάσουλα και το φασόλι μεγάλο από την οικογένεια των φασολιών. Μελέτη σε 14 όσπρια που καταναλώνονται στη Μεσόγειο παρουσίασε τις φακές (ψιλές και χονδρές) πρώτες στη λίστα σε περιεκτικότητα ολικών φαινολικών συστατικών με την μέθοδο FOLIN (Kalogeropoulos Nick et al. 2010). Πρόσφατη μελέτη (Ryszard Amarowicz et al. 2010) παρουσιάζει την υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα των ωμών πράσινων φακών που οφείλεται στην ύπαρξη 20 φαινολικών συστατικών με σημαντικότερα τις κατεχίνες, την τρυπτοφάμη, την κερσετίνη και το κουμαρικό οξύ. Σε δεύτερη μελέτη (Oomah D et al. 2011) παρουσιάζεται η υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα των φακών που οφείλεται στα φαλβονοειδή, στις ανθοκυανίνες και στους ταρταρικούς εστέρες που εντοπίζονται κυρίως στον φλοιό των φακών. Μάλιστα η ολική συγκέντρωση φαινολικών συστατικών, που εκχυλίστηκαν με υδατική ακετόνη, στον φλοιό των οσπρίων ήταν οκταπλάσια σε

ποσότητα σε σχέση με την συγκέντρωση που μετρήθηκε σε όλο το όσπριο. Σύμφωνα με πρόσφατη μελέτη (Aura M. Dvaz et al. 2010) το χρώμα του φλοιού των φασολιών (*Phaseolus vulgaris* L.) εξαρτάται από την παρουσία ή την απουσία συγκεκριμένων ανθοκυανινών, ταννινών και φλαβονολών. Μία ακόμη μελέτη υποστηρίζει ότι τα χρωματιστά φασόλια παρουσίασαν υψηλή περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά σε σχέση με τα λευκά φασόλια, μάλιστα η περιεκτικότητα ήταν πολύ μεγαλύτερη στο φλοιό συγκριτικά με το ολόκληρο φασόλι (Sutivisedsak N. et al. 2010). Έτσι, εξηγείται οι υψηλότερες τιμές που εμφανίζονται στα μπαμπουνοφάσουλα σε σύγκριση με τα υπόλοιπα φασόλια αφού είναι τα μόνα που έχουν χρωματιστό φλοιό.

Το τρίτο σημαντικό *εύρημα* είναι η ομαδοποιημένη παρουσίαση 10 ελληνικών ειδών οσπρίων ως προς την μέτρηση της διαλυτότητας συμπλόκων προβλεπόμενη σίδηρο (ολικό και δισθενή) χαμηλού μοριακού βάρους καθώς και συμπλόκων ψευδαργύρου χαμηλού μοριακού βάρους (Διάγραμμα 3.7, 3.8 και 3.9).

Καταρχάς πρέπει να διευκρινιστεί πως με την μέθοδο που χρησιμοποιήσαμε, μετρώντας την διαλυτότητα συμπλόκων χαμηλού μοριακού βάρους των μετάλλων, βγαίνουν συμπεράσματα για την προβλεπόμενη βιοδιαθεσιμότητα των συγκεκριμένων μετάλλων στον οργανισμό. Έτσι, με την μέθοδο βασικά μελετάμε το πώς το κάθε όσπριο επιδρά στον εξωτερικά προστιθέμενο σίδηρο ή ψευδάργυρο, είναι δηλαδή προσομοίωση σε ένα γεύμα που περιέχει όσπριο και ένα τρόφιμο με σίδηρο ή ψευδάργυρο.

Στο διάγραμμα 3.7 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του ολικού σιδηρού (τρισθενής και δισθενής) όπου ξεχωρίζουν τα μεγαλύτερα σε μέγεθος όσπρια, δηλαδή ο γίγαντας και ο ελέφαντας. Το ίδιο παρατηρούμε και στο διάγραμμα 3.9 που παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του ψευδαργύρου με την διαφορά ότι εκτός από τον γίγαντα και τον ελέφαντα υψηλά ποσοστά παρουσιάζει και η φάβα.

Κατά την μέτρηση της διαλυτότητας του δισθενούς σιδήρου αλλάζουν τελείως τα αποτελέσματα όπου βλέπουμε τη οικογένεια των φακών να ξεχωρίζει με δεύτερα σε σειρά να έρχονται τα μπαμπουνοφάσουλα, το φασόλι το μεγάλο και ο γίγαντας.

Ο δισθενής σίδηρος θεωρείται καλύτερος δείκτης της προβλεπόμενης βιοδιαθεσιμότητας του σιδήρου

Το τέταρτο σημαντικό *εύρημα* είναι ότι τα συμβατικής καλλιέργειας τρόφιμα δεν διαφέρουν από τα βιολογικής καλλιέργειας τρόφιμα ως προς την αντιοξειδωτικής τους ικανότητα, το ολικά φαινολικά συστατικά τους, την βιοδιαθεσιμότητα τους σε σίδηρο και την βιοδιαθεσιμότητα του σε ψευδάργυρο, με ελάχιστες εξαιρέσεις.

Αναλυτικότερα, στις ελιές δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά στις συμβατικής καλλιέργειας ελιές με τις βιολογικής καλλιέργειας ως προς τα χαρακτηριστικά που εξετάζουμε. Στα όσπρια, σε γενικές γραμμές, δεν παρατηρούνται διαφορές με κάποιες εξαιρέσεις όπως με την μέθοδο ORAC η αντιοξειδωτική ικανότητα ήταν λίγο χαμηλότερη στο ρεβύθι βιολογικής καλλιέργειας σε σχέση με το συμβατικό (279.959 ± 204.50 και 503.169 ± 14.15 αντίστοιχα). Επίσης, στην προβλεπόμενη βιοδιαθεσιμότητα του ολικού σιδήρου στη φακή βιολογικής καλλιέργειας είναι αρκετά χαμηλότερη σε σχέση με την συμβατικής καλλιέργειας (3.070 ± 0.72 και 8.972 ± 0.29 αντίστοιχα). Αρκετά χαμηλότερη εμφανίζεται και στην φάβα βιολογικής καλλιέργειας σε σύγκριση με την συμβατικής (5.258 ± 1.80 και 9.074 ± 4.46 αντίστοιχα). Η φακή βιολογικής καλλιέργειας εμφανίζει αρκετά χαμηλότερη προβλεπόμενη βιοδιαθεσιμότητα και στο δισθενή σίδηρο συγκριτικά με την φακή συμβατικής καλλιέργειας (2.764 ± 0.29 και 7.039 ± 0.29). Μικρότερες διαφορές εμφανίζονται στο φασόλι μεγάλο βιολογικό που είναι χαμηλότερη η τιμή του συγκριτικά με το συμβατικής καλλιέργειας (0.525 ± 0.58 και 2.255 ± 0.58) καθώς και στο γίγαντα που ο βιολογικής καλλιέργειας εμφανίζεται πιο αυξημένος από τον συμβατικής καλλιέργειας (2.815 ± 0.36 και 1.085 ± 0.94). Κατά την μέτρηση της προβλεπόμενης βιοδιαθεσιμότητας ψευδαργύρου εμφανίζεται μεγάλη διαφορά στην φάβα βιολογικής καλλιέργειας συγκρινόμενη με την συμβατικής (2.640 ± 0.44 και 9.661 ± 0.57) καθώς και στο φασόλι μέτριο (4.843 ± 0.00 και 8.796 ± 0.00), στο φασόλι μεγάλο (5.144 ± 0.00 και 7.526 ± 0.00), στο γίγαντα (7.233 ± 0.00 και 10.418 ± 0.00) και στον ελέφαντα (8.880 ± 0.00 και 12.700 ± 0.00).

Μελέτες που συγκρίνουν τις βιολογικής καλλιέργειας ελιές και όσπρια με τα συμβατικής καλλιέργειας ως προς τα χαρακτηριστικά που εξετάζουμε δεν υπάρχουν. Οι υπάρχουσες μελέτες εστιάζουν ως προς τις διαφορές στην εξοικονόμηση ενέργειας

για την καλλιέργειάς τους, στα παρασιτοκτόνα και τα φυτοφάρμακα που χρησιμοποιούν καθώς και στην γονιμότητα του εδάφους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Argyri, K., Birba, A., Miller, D. D., Komaitis, M., Kapsokefalou, M. (2008). Predicting relative concentrations of bioavailable iron in foods using in vitro digestion: new developments. *Food Chemistry*, 113(2), 602-607

Argyri K. , E. Theophanidi, A. Kapna, C. Staikidou, G. Pounis, M. Komaitis, C. Georgiou, M. Kapsokefalou (2011) Iron or zinc dialyzability obtained from a modified in vitro digestion procedure compare well with iron or zinc absorption from meals, *Food Chemistry*

Aura M. Dvaz, Gina V. Caldas, Mathew W. Blair (2010) Concentrations of condensed tannins and anthocyanins in common bean seed coats, *Food Research International* 43 595–601

Benzie, I. F., & Strain, J. Z. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76

Birgit Roitner-Schobesberger, Ika Darnhofer, Suthichai Somsook, Christian R. Vogl Consumer perceptions of organic foods in Bangkok, Thailand. *Food Policy*, 2008, 33: 112-121.

Boateng J., M. Verghese, L.T. Walker, S. Ogutu (2008) Effect of processing on antioxidant contents in selected dry beans (*Phaseolus* spp. L.), *Food Science and Technology* 41 1541e1547

Boskou, G., Salta, F.N., Chrysostomou, S., Mylona, A., Chiou, A., Andrikopoulos, N.K., 2006. Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market. *Food Chem.* 94, 558-564.

Dangour AD, Dodhia SK, Hayter A, Allen E, Lock K, Uauy R. (2009). Nutritional quality of organic foods: a systematic review. *American Journal of Clinical Nutrition* 90:680-5.

Groff, James L., and Gropper, Sareen S. (2000). Microminerals, In “*Advanced Nutrition and Human Metabolism*”, Third Edition, Wadsworth, pp. 419-429

Granito M., Mariangel Paolini, Suhey Perez (2008) Polyphenols and antioxidant capacity of *Phaseolus vulgaris* stored under extreme conditions and processed, *LWT* 41 994–999

Hu FB, Willett WC. (2002) Optimal diets for prevention of coronary heart disease. *JAMA*. 2002 Nov 27;288(20):2569-78. Review.

Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., Prior, R. L. (2002). High-Throughput assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 50, 4437-4444.

Iskender Arcan, Ahmet Yemenicioglu (2007) Antioxidant activity of protein extracts from heat-treated or thermally processed chickpeas and white beans, *Food Chemistry* 103 301–312

Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 889/2008 της Επιτροπής «σχετικά με τη θέσπιση λεπτομερών κανόνων εφαρμογής του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 834/2007 του Συμβουλίου για τη βιολογική παραγωγή και την επισήμανση των βιολογικών προϊόντων όσον αφορά τον βιολογικό τρόπο παραγωγής, την επισήμανση και τον έλεγχο των προϊόντων.

Kalogeropoulos Nick, Antonia Chiou, Maria Ioannou, Vaios T. Karathanos, Maria Hassapidou, Nikolaos K. Andrikopoulos (2010) Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries, *Food Chemistry* 121 682–690

Lucva Ramvrez-Cardenas, Alda J. Leonel, Neuza M.B. Costa, Fernando P. Reis (2010) Zinc bioavailability in different beans as affected by cultivar type and cooking conditions, *Food Research International* 43 573–581

Nuria E. Rocha-Guzman, Ruben F. Gonzalez-Laredo, Francisco J. Ibarra-Pe´rez, Cynthia A. Nava-Berumen, Jose´-Alberto Gallegos-Infante (2008) Effect of pressure cooking on the antioxidant activity of extracts from three common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars *Food Chemistry* 100 31–35

Oomah B. Dave, François Caspar, Linda J. Malcolmson, Anne-Sophie Bellido (2011) Phenolics and antioxidant activity of lentil and pea hulls, *Food Research International* 44 436–441

Panagou, E.Z., 2006. Greek dry-salted olives: Monitoring the dry-salting process and subsequent physico-chemical and microbiological profile during storage under different packing conditions at 4°C and 20°C. *Lebensm.-Wiss.-Technol.* 39, 322-329.

Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *Journal of Nutrition*, 133(9), 2812-2819.

Quinteros A., R. Farre, M.J. Lagarda (2001) Optimization of iron speciation (soluble, ferrous and ferric) in beans, chickpeas and lentils, *Food Chemistry* 75 365–370

Reddy, M.B., Chidambaram, M.V., Fonseca, J. & Bates, G.W. 1986. Potential role of in vitro iron bioavailability studies in combating iron deficiency: a study of the effects of phosvitin on iron mobilization from pinto beans. *Clinical physiology and biochemistry*, 4:78

Romero Concepcion, Brenes Manuel, Yousfi K haled, Garcia Pedro, Garcia Aranzazu and Grrido Antonio (2004) Effect of cultivar and processing method on the contents of polyphenols in table olives, *J. Agric. Food Chem*, 52, 479-484

Ryszard Amarowicz , Isabel Estrella , Teresa Hernandez , Sergio Robredo , Agnieszka Troszyn ska , Agnieszka Kosin ska , Ronald B. Pegg . (2010) Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity, and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*) *Food Chemistry* 121 705–711

Spanos, G. A. & Wrolstad, R. E. (1990). Influence of variety, maturity, processing and storage on the phenol composition of pear juice. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **38**, 817–824.

Sutivisedsak N, H.N. Cheng, J.L. Willett, W.C. Lesch, R.R. Tangsrud, Atanu Biswas (2010) Microwave-assisted extraction of phenolics from bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *Food Research International* 43 516–519

Trichopoulou A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D. (2003) Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. *New England Journal of Medicine* 348:2599-2608
WHO/FAO (2003) Diet nutrition and the prevention of chronic diseases. Geneva, Switzerland.

Willett WC, Sacks F, Trichopoulou A, Drescher G, Ferro-Luzzi A, Helsing E, Trichopoulos D. (1995) Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *Am J Clin Nutr.* 1995 Jun;61(6 Suppl):1402S-1406S. Review.

Zoidou Evagelia, Eleni Melliou, Evangelos Gikas, Anthony Tsarbopoulos, Prokopios Magiatis, and Alexios-Leandros Skaltsounis (2010). Identification of Throuba Thassos, a traditional Greek table olive variety, as a nutritional rich source of oleuropein, *J. Agric. Food Chem*, 58, 46–50

INTERNET

http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_oleuropein.htm

<http://www.minagric.gr/greek/3.6.POP.html>

BIBΛΙΑ

Μπαλατσούρας Δ. Γεωργίου (2004) Η επιτραπέζια ελιά

Stan Kailis and David Harris (2007) Producing table olives

Victor R. Preedy and Ronald Ross Watson (2010) Olives and olive oil in health and disease prevention