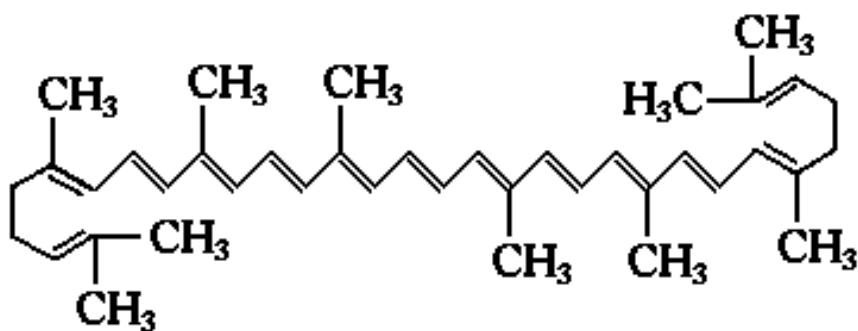


ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ
ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΤΟΜΑΤΑΣ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ORAC



ΜΑΡΙΑ ΕΥΘΥΜΙΟΠΟΥΛΟΥ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΙΩΑΚΕΙΜ ΣΠΗΛΙΟΠΟΥΛΟΣ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2017

ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ
ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΤΟΜΑΤΑΣ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ORAC

ΜΑΡΙΑ ΕΥΘΥΜΙΟΠΟΥΛΟΥ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΙΩΑΚΕΙΜ ΣΠΗΛΙΟΠΟΥΛΟΣ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2017

«ΔΗΛΩΣΗ ΜΗ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΗΨΗΣ ΠΡΟΣΩΠΙΚΗΣ

ΕΥΘΥΝΗΣ»

Με πλήρη επίγνωση των συνεπειών του νόμου περί πνευματικών δικαιωμάτων, δηλώνω ενυπογράφως ότι είμαι αποκλειστικός συγγραφέας της παρούσας Πτυχιακής Εργασίας, για την ολοκλήρωση της οποίας κάθε βοήθεια είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται λεπτομερώς στην εργασία αυτή. Έχω αναφέρει πλήρως και με σαφείς αναφορές, όλες τις πηγές χρήσης δεδομένων, απόψεων, θέσεων και προτάσεων, ιδεών και λεκτικών αναφορών, είτε κατά κυριολεξία είτε βάσει επιστημονικής παράφρασης. Αναλαμβάνω την προσωπική και ατομική ευθύνη ότι σε περίπτωση αποτυχίας στην υλοποίηση των ανωτέρω δηλωθέντων στοιχείων, είμαι υπόλογος έναντι λογοκλοπής, γεγονός που σημαίνει αποτυχία στην Πτυχιακή μου Εργασία και κατά συνέπεια αποτυχία απόκτησης του Τίτλου Σπουδών, πέραν των λοιπών συνεπειών του νόμου περί πνευματικών δικαιωμάτων. Δηλώνω, συνεπώς, ότι αυτή η Πτυχιακή Εργασία προετοιμάστηκε και ολοκληρώθηκε από εμένα προσωπικά και αποκλειστικά και ότι, αναλαμβάνω πλήρως όλες τις συνέπειες του νόμου στην περίπτωση κατά την οποία αποδειχθεί, διαχρονικά, ότι η εργασία αυτή ή τμήμα της δεν μου ανήκει διότι είναι προϊόν λογοκλοπής άλλης πνευματικής ιδιοκτησίας.

.....
Υπογραφή ΕΥΘΥΜΙΟΠΟΥΛΟΥ ΜΑΡΙΑ

.....
-0-2017
.....

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την εκπόνηση της παρούσας πτυχιακής εργασίας θα ήθελα αρχικά να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέπων καθηγητή μου Ιωακείμ Σπηλιόπουλο, για την ασταμάτητη και ανεκτίμητη βοήθειά του, καθώς και για την πολύτιμη καθοδήγησή του καθ'όλη τη διάρκεια του πειραματικού και γραπτού μέρους της εργασίας μου.

Για την ασταμάτητη υποστήριξη όλα τα χρόνια των φοιτητικών μου σπουδών θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, που με βοήθησε να τα φέρω εις πέρας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο σκοπός της εργασίας είναι ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας εκχυλισμάτων τομάτας. Το πρώτο μέρος της εργασίας είναι θεωρητικό και αναλύει την δράση των αντιοξειδωτικών και την επίδρασή τους στην υγεία. Συγκεκριμένα, γίνεται αναφορά στο οξειδωτικό στρες και στον μηχανισμό δράσης του καθώς και στους παράγοντες που επιταχύνουν και επιβραδύνουν την αυτοξείδωση. Επιπλέον, αναλύει τα θρεπτικά συστατικά της τομάτας, όπως είναι το καροτένιο και το λυκοπένιο. Ιδιαίτερη αναφορά γίνεται στις φαινολικές ενώσεις. Επιπλέον, γίνεται μια μικρή αναφορά σε μεθόδους μέτρησης αντιοξειδωτικής ικανότητας όπως είναι η FRAP, FOLIN, DPPH και ABTS.

Το δεύτερο μέρος της εργασίας είναι πειραματικό. Ο σκοπός του πειράματος είναι η μέτρηση λιπόφιλων και υδρόφιλων αντιοξειδωτικών με την μέθοδο ORAC, αφού πρώτα έχουν πραγματοποιηθεί οι αντίστοιχες εκχυλίσεις. Οι ποικιλίες που μετρήθηκαν ήταν Μακριά Κυθήρων, Κοντή Κυθήρων, Χοντροκάτσαρη, Κατσαρή Σαντορίνης, Λεία Σαντορίνης, Ελπίδα και Χίου. Στην κάθε ποικιλία μετρήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων στα στάδια Red Ripe και Breaker. Σύμφωνα με τις μετρήσεις μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα προσδιορίστηκε στο στάδιο ωρίμανσης (Red Ripe). Επιπλέον, οι τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας των υδρόφιλων εκχυλισμάτων διαφέρουν σημαντικά από αυτές των λιπόφιλων εκχυλισμάτων.

Λέξεις κλειδιά: Τομάτα, Αντιοξειδωτικά, Αντιοξειδωτική ικανότητα, Ελεύθερες ρίζες, Πολυφαινόλες, Λυκοπένιο, ORAC,

ABSTRACT

The purpose of this project is to study the antioxidant capacity of tomato extracts. The first part of this project is theoretical, analyzing the action of antioxidants and their effect on people's health. Specifically, it refers to the oxidative stress and the oxidants radicals, as well as the factors that accelerate or retard the antioxidation. Furthermore, the nutrients of the tomato are analyzed, such as the carotene and the lycopene. Particular reference is made into the phenolic compound. A small reference is made to methods of measuring the antioxidant capacity, such as the FRAP, FOLIN, DPPH and ABTS.

The second part analyzes the experiment that was conducted. The purpose of the project is to measure the lipophilic and hydrophilic antioxidants with the method ORAC, after having collected the relevant extract. The varieties which were measured are: "Makria Kythiron", "Konti Kythiron", "Chodrokatsari", "Katsari Santorinis", "Lia Santorinis", "Elpida" and "Chios". The antioxidants of each variety were measured in both stages of ripening (Red Ripe and the Breaker). According to the results, the greatest amount of antioxidants was observed in ripened tomatoes (Red Ripe). Furthermore, the price of hydrophilic antioxidants differed significantly from lipophilic antioxidants

Keywords: Tomatoes, Antioxidant, Antioxidant capacity, Free radicals, Polyphenols, Lycopene, ORAC

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Α. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εισαγωγή

Οι αντιδράσεις οξείδωσης περιορίζουν τη διάρκεια ζωής και προκαλούν αλλοίωση στα τρόφιμα. Ένας τρόπος για τον περιορισμό των αντιδράσεων οξείδωσης στα τρόφιμα είναι η χρησιμοποίηση αντιοξειδωτικών. Δύο βασικές κατηγορίες αντιοξειδωτικών είναι τα συνθετικά και τα φυσικά αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται για την επιβράδυνση ή την παρεμπόδιση της οξείδωσης των λιπαρών υλών. Στη πράξη έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως τα συνθετικά αντιοξειδωτικά λόγω του σχετικά χαμηλού κόστους και της δυνατότητας προσθήκης σε μεγάλη ποικιλία τροφίμων. Εμφανίστηκαν όμως και σοβαρά μειονεκτήματα από τη χρήση τους σε τρόφιμα και ιατρικά σκευάσματα είτε λόγω της αστάθειάς τους σε υψηλές θερμοκρασίες είτε λόγω ορισμένων τοξικών και καρκινογόνων επιπτώσεων. (Sokmen *et al.*, 2004)

Έχει επίσης διαπιστωθεί ότι υψηλές συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών στο αίμα ενισχύουν την άμυνα του οργανισμού έναντι διαφόρων εκφυλιστικών νόσων. Λόγω του ότι οι διάφορες τροφές μπορούν να περιέχουν ένα μεγάλο συνδυασμό αντιοξειδωτικών ουσιών με διαφορετικό αντιοξειδωτικό δυναμικό η κάθε μία, η λήψη τους κατά τη διατροφή επιφέρει ευεργετικά αποτελέσματα. (Berry OttawayP., 2001)

Τα τελευταία χρόνια το παγκόσμιο ερευνητικό ενδιαφέρον έχει στραφεί στη μελέτη φυσικών πρώτων υλών για την εξακρίβωση της παρουσίας και την αξιοποίηση συστατικών με βιολογική δράση. Η τομάτα είναι ένα προϊόν με μεγάλη αντιοξειδωτική ικανότητα. Αυτό οφείλεται σε δύο καροτενοειδείς χρωστικές: το λυκοπένιο και το β-καροτένιο, καθώς και τις πολυφαινόλες. Επίσης, περιέχει βιταμίνες A, B, C, D και διάφορα άλατα, σίδηρο, φώσφορο και ιώδιο. Είναι μια από τις καλύτερες φυτικές τροφές που υπάρχουν στον κόσμο. Επιπλέον, την τελευταία δεκαετία η βιομηχανία της τομάτας έχει κάνει τεράστια πρόοδο στην ανάπτυξη πολλών μορφών τροφίμων με βάση την τομάτα, τα οποία είναι ιδιαίτερα επιθυμητά στους ανθρώπους λόγω του χρώματος και της γεύσης της τομάτας, κάτι τέτοιο έχει ως αποτέλεσμα την συνεχόμενη αύξηση της βιομηχανία και της επεξεργασία της τομάτας. (Victor R. Preedy και Ronald R. Waston, 2008)

1. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

1.1 Οξειδωτικό στρες

Το οξειδωτικό στρες μπορεί να οριστεί ως η κατάσταση κατά την οποία οι ελεύθερες ρίζες στο σώμα μας ξεπερνούν την άμυνα του οργανισμού. (Deepshikha Gupta, 2015) Το οξυγόνο είναι ένα μόριο απαραίτητο για τη ζωή του ανθρώπου. Παρόλα αυτά έχει τοξική δράση για τον οργανισμό καθώς το οξυγόνο συμμετέχει σε πολλές οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις του οργανισμού, κατά τις οποίες μπορεί να δημιουργηθούν ελεύθερες ρίζες εξαιτίας τις ικανότητάς τους να δεσμεύουν μονήρη ηλεκτρόνια. Ένα άλλο δραστικό μόριο είναι το μονοξειδίο του αζώτου το οποίο όταν βρίσκεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις έχει την ικανότητα να δημιουργήσει ελεύθερες ρίζες. (Κ.Δημόπουλος και Σ.Αντωνοπούλου, 2009)

Η οξείδωση που δημιουργείτε από τις ελεύθερες ρίζες προκαλούν αρκετές βλάβες στον οργανισμό καθώς μπορούν να προκαλέσουν καταστροφή των μακρομορίων, όπως των πρωτεϊνών, των λιπιδίων και του DNA. Επιπλέον, υπάρχει πιθανότητα να οδηγήσει σε κυτταρικό θάνατο και σε πολλές παθολογικές καταστάσεις όπως η αρτηριοσκλήρωση, ο καρκίνος, ο σακχαρώδης διαβήτης και η ηπατική βλάβη. (Deepshikha Gupta, 2015)

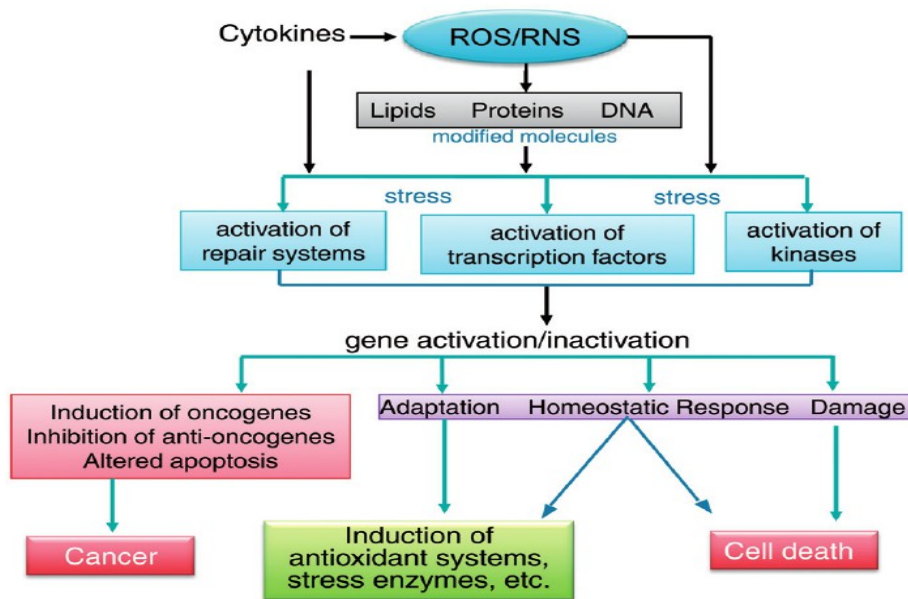
1.2 Ελεύθερες ρίζες

Με τον όρο ελεύθερη ρίζα περιγράφεται ένα άτομο ή μόριο που διαθέτει ένα τουλάχιστον ασύζευκτο ηλεκτρόνιο σε ένα τροχιακό και μπορεί να υφίσταται, ανεξάρτητα της ύπαρξης άλλων μορίων, στο χώρο. Επιπλέον, οι ρίζες έχουν την τάση να αντιδρούν εύκολα παίρνοντας ένα ηλεκτρόνιο από τα γειτονικά τους μόρια και με αυτόν τον τρόπο ξεκινάνε αλυσιδωτές αντιδράσεις. Για παράδειγμα το οξυγόνο με βάση αυτόν τον ορισμό είναι διπλή ρίζα αφού παρέχει δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια σε δύο διαφορετικά τροχιακά. Κατά την αντίδραση του οξυγόνου προς σχηματισμό νερού, η οποία λαμβάνει χώρα στην αναπνευστική αλυσίδα, το οξυγόνο δέχεται διαδοχικά 4 ηλεκτρόνια. (Κ.Δημόπουλος και Σ.Αντωνοπούλου, 2009)

1.3 Ενεργές μορφές

Μία ποικιλία ελεύθερων ριζών σχηματίζεται καθημερινά στον οργανισμό μας, από αιτίες όπως υψηλή συγκέντρωση οξυγόνου, έκθεση σε ουσίες όπως το όζον, τα χημικά και τα φάρμακα καθώς και κατά την διάρκεια φυσιολογικών λειτουργιών. Αυτές μπορεί να είναι είτε δραστικές μορφές οξυγόνου είτε δραστικές μορφές αζώτου (ROS και RNS) (Md. Nur Alam *et al*, 2012)

Γενικά, οι ελεύθερες ρίζες χωρίζονται σε δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) και σε δραστικές μορφές αζώτου (RNS) οι ROS προκαλούν καταστροφές στο ζωικό κύτταρο. Το άζωτο είναι παρών ως νιτρικά άλατα, νιτρικές αμίνες, νιτρώδη πεπτίδια, πρωτεΐνες και αμινοξέα. Αυτά τα είδη αζώτου μπορεί να προκαλέσουν καρκίνο, κάποιο είδος ηπατίτιδας ή άλλες χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις. Το τριοξειδίο του αζώτου (N_2O_3), το νιτρώδες οξύ (HNO_2) και το υπεροξεινιτρικό ($ONOO^-$) μπορεί να οδηγήσει σε νίτρωση του DNA. Το ανιόν ($ONOO^-$) έχει αλκαλικό σταθερό pH αλλά όταν υφίσταται αντίδραση με το CO_2 το pH του μεταβάλλεται και δίνει επιβλαβή προϊόντα που καταστρέφουν τα αντιοξειδωτικά και οξειδώνουν τα λιπίδια, τα νιτρικά, τις πρωτεΐνες το DNA και έχουν την δυνατότητα να προκαλούν αλλαγές στην καταλυτική δράση των ενζύμων. (Deepshikha Gupta, 2015)



Σχήμα 1.3.1: Δράση των ROS και των RNS.

Πίνακας 1.3.1: Δραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου. (Κ.Δημόπουλος και Σ.Αντωνοπούλου, 2009)

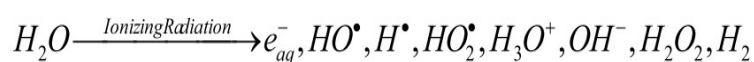
ΕΝΩΣΗ	ΌΝΟΜΑ	ΙΔΙΟΤΗΤΑ
Ελεύθερες ρίζες		
$O_2^{\cdot-}$	Ανιόν υπεροξειδίου	Ελεύθερη ρίζα, μεγάλη οξειδωτική ικανότητα, μικρή ικανότητα διάχυσης
HO^{\cdot}	Ρίζα υδροξυλίου	Ελεύθερη ρίζα, μεγάλη οξειδωτική ικανότητα
RO^{\cdot}	Ρίζα αλκοξειδίου	Ελεύθερη ρίζα
ROO^{\cdot}	Ρίζα υπεροξειδίου	Ελεύθερη ρίζα
Μη ελεύθερες ρίζες		
H_2O_2	Υπεροξείδιο του υδρογόνου	Δεν είναι ελεύθερη ρίζα, μικρή οξειδωτική ικανότητα, μεγάλη ικανότητα διάχυσης
$ROOH$	Οργανικά υπεροξείδια	Μικρή οξειδωτική ικανότητα
O_2	οξυγόνο	Διπλή ελεύθερη ρίζα, μικρή οξειδωτική ικανότητα
O_3	όζον	Μικρή οξειδωτική ικανότητα
$HOCl$	Υποχλωριώδες οξύ	Ενεργή μορφή OCl^{\cdot}
Δραστικές μορφές Αζώτου		
NO^{\cdot}	Ελεύθερη ρίζα μονοξειδίου του αζώτου	Ελεύθερη ρίζα, μικρής οξειδωτικής ικανότητας, μεγάλη ικανότητα διάχυσης
$ONOO^{\cdot-}$	Υπεροξνιτρώδες ανιόν	Δεν είναι ελεύθερη ρίζα, μεγάλη οξειδωτική ικανότητα, μεγάλη ικανότητα διάχυσης
NO_2^+	Ιόν νιτρονίου	Μη τοξικό
N_2O_3	Τριοξείδιο του αζώτου	Παράγοντας νίτρωσης

Οι ελεύθερες ρίζες αναπτύσσονται ενδογενώς στον οργανισμό σε ένα σύνολο μεταβολικών διαδικασιών και αυξάνονται από εξωτερικούς παράγοντες. Άλλωστε η εποχή μας χαρακτηρίζεται από πληθώρα επιβαρυντικών για την υγεία παραγόντων όπως η ατμοσφαιρική ρύπανση, το κάπνισμα, το άγχος της καθημερινότητας, η σωματική κόπωση, η κακή διατροφή, τα χημικά πρόσθετα των τροφίμων, η έκθεση στην έντονη ηλιακή ακτινοβολία καθώς και η χρήση φαρμάκων.

Ελεύθερες ρίζες μπορούν να προκύψουν από :

$^{35}_{17}$ Υπεριώδη και ιονίζουσες ακτινοβολίες.

$^{35}_{17}$ Ραδιόλυση του H_2O .



$^{35}_{17}$ Αντιδράσεις που καταλύονται από την οξειδωση της ξανθίνης.

$^{35}_{17}$ Αναπνευστική αλυσίδα στα μιτοχόνδρια.

$^{35}_{17}$ Μεταβολισμός κατεχολαμινών.

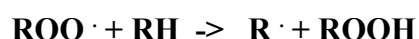
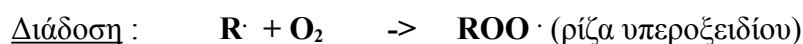
$^{35}_{17}$ Οξειδοαναγωγική ανακύκλωση.

$^{35}_{17}$ Αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων σε ενδοπλασματικό δίκτυο και πυρήνα.

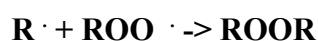
$^{35}_{17}$ Μεταβολισμός εικοσανοειδών. (Groff J. L και Gropper S., 2000)

1.4 Αντιδράσεις αυτοοξειδωσης λιπαρών ενώσεων

Η αυτοξειδωση είναι μια αυτοκαταλυόμενη αλυσιδωτή αντίδραση με το οξυγόνο η οποία προχωρά με τον μηχανισμό των ελεύθερων ριζών. Έχει τρία στάδια, την έναρξη, τη διάδοση και τον τερματισμό, που περιγράφεται στις παρακάτω αντιδράσεις :



Τερματισμός: $\text{R}\cdot + \text{R}\cdot \rightarrow 2\text{R}$ (αδρανή προϊόντα που δεν προκαλούν έναρξη ή διάδοση της αντίδρασης)



Όπως φαίνεται από τις αντιδράσεις η έναρξη της αντίδρασης οφείλεται στο σχηματισμό των πρώτων ελεύθερων ριζών. Τα κυριότερα από τα αρχικά προϊόντα της αυτοξειδωσης είναι τα υδρόξυ-υπεροξειδία. Αυτά στη συνέχεια δίνουν νέες ρίζες υπεροξειδίων, αλλά υδρόξυ-υπεροξειδία και νέες ρίζες από το υδρογονανθρακικό τμήμα του μορίου. Τα νέα προϊόντα συμβάλλουν με την σειρά τους στην αλυσιδωτή αντίδραση που συνεχίζεται με ταχύτερο ρυθμό. (Μπόσκου, 2004)

1.5 Παράγοντες που επιταχύνουν την αυτοξειδωση των λιπαρών ενώσεων

Οι κυριότεροι παράγοντες που δρουν στην οξειδωση λιπών είναι :

1. Ενζυμα. Λιποξειδάσες. Βρίσκονται σε όλους τους ζωικούς και φυτικούς ιστούς. Όταν ενεργοποιηθούν κάτω από ειδικές συνθήκες ενεργού οξύτητας, θερμοκρασίας και υγρασίας, καταλύουν την οξειδωτική αποικοδόμηση των πολυακόρεστων ακυλολιπιδίων.

2. Μέταλλα. Ακόμη και σε ελάχιστες συγκεντρώσεις, ο σίδηρος και ο χαλκός ευνοούν το σχηματισμό νέων ριζών και έτσι δρουν ως προξειδωτικά διότι :
- I. Επιταχύνουν την διάσπαση των υδροξυπεροξειδίων.

$$\mathbf{M^{n+} + ROOH \rightarrow RO \cdot + M^{(n+1)+} + OH^-}$$

$$\mathbf{M^{(n+1)+} + ROOH \rightarrow ROO \cdot + M^{n+} + H^+}$$

$$\mathbf{2ROOH \rightarrow RO \cdot + ROO \cdot + H_2O}$$
 - II. Αντιδρούν απευθείας με το υπόστρωμα.
 - III. Ενεργοποιούν το μοριακό οξυγόνο προς οξυγόνο διεγερμένης κατάστασης που διευκολύνει το σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων.
3. Θερμοκρασία. Η οξείδωση επιταχύνεται ιδιαίτερα σε υψηλές θερμοκρασίες (πάνω από 60 °C). Αύξηση της θερμοκρασίας κατά 15 °C διπλασιάζει την ταχύτητα οξείδωσης.
4. Φως. Ιδιαίτερα το υπεριώδες φως επιταχύνει την οξείδωση των λιπών.
5. Παρουσία αέρα. Το οξυγόνο έρχεται σε επαφή με την λιπαρή ύλη και επιταχύνει την οξείδωση.

Η ταχύτητα της αυτοοξείδωσης εξαρτάται κυρίως από τον ακόρεστο χαρακτήρα της λιπαρής ύλης. Γι' αυτό όσο πιο ακόρεστο είναι το υπόστρωμα τόσο πιο επιδεκτικό είναι στην αυτοοξείδωση. (Sherwin, 1978).

1.6 Επιβράδυνση της αυτοοξείδωσης με χρήση αντιοξειδωτικών

Η συσκευασία υπό κενό και η συσκευασία σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες ή ακόμα και η συντήρηση των τροφίμων σε συνθήκες ψύξης και κατάψυξης μπορούν να ελαττώσουν την ταχύτητα της αυτοοξείδωσης. Οι τρόποι αυτοί δεν είναι πάντα αποτελεσματικοί δεδομένου ότι ελάχιστο οξυγόνο είναι σε θέση να προκαλέσει οξείδωση, ενώ δεν είναι πάντοτε οικονομικοί και πρακτικοί για την ολοκληρωτική απομάκρυνση του οξυγόνου από τα τρόφιμα.

Έτσι είναι αναγκαία εκτός των παραπάνω μεθόδων, και η χρήση πρόσθετων με αντιοξειδωτική δράση που προστίθενται στις λιπαρές ύλες ή στα τρόφιμα που περιέχουν λιπαρή ύλη για να επιβραδύνουν την οξείδωση των ακόρεστων ακυλολιπιδίων και να καταστήσουν τα τρόφιμα εύληπτα για μεγαλύτερο χρονικό

διάστημα. Τα αντιοξειδωτικά όμως δεν μπορούν να βελτιώσουν την ποιότητα ενός τροφίμου που είναι ήδη οξειδωμένο. (Schuler, 1990).

Ένα αντιοξειδωτικό πρέπει να συνδυάζει τις εξής ιδιότητες :

- ³⁵/₁₇ Να είναι αποτελεσματικό σε πολύ μικρή περιεκτικότητα.
- ³⁵/₁₇ Να μην έχει καμία βλαβερή επίδραση στην υγεία του ανθρώπου.
- ³⁵/₁₇ Να μην προσδίνει στο τρόφιμο δυσάρεστη οσμή και γεύση.
- ³⁵/₁₇ Να είναι έστω και ελάχιστα λιποδιαλυτό
- ³⁵/₁₇ Να είναι όσο γίνεται σταθερό στα διάφορα στάδια επεξεργασίας του τροφίμου. (Μπόσκου, 2004)

Η επίδραση που έχει η συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού στην ταχύτητα της αυτοοξειδωσης εξαρτάται από παράγοντες όπως η δομή του αντιοξειδωτικού, οι συνθήκες οξείδωσης και η φύση του υποστρώματος. Πιο αποτελεσματική είναι η δράση του αντιοξειδωτικού σε ότι αφορά την αύξηση της επαγωγικής περιόδου όταν η λιπαρή ύλη δεν έχει υποστεί οξείδωση σε μεγάλο βαθμό.

Μηχανισμοί δράσης των αντιοξειδωτικών στην οξείδωση των λιπιδίων :

- ³⁵/₁₇ Μειώνουν την συγκέντρωση των ενεργών μορφών οξυγόνου.
- ³⁵/₁₇ Αποτρέπουν την έναρξη των αλυσιδωτών αντιδράσεων οξείδωσης με την δέσμευση των ελεύθερων ριζών.
- ³⁵/₁₇ Δεσμεύουν τα ιόντα μετάλλων που καταλύουν την έναρξη των αλυσιδωτών αντιδράσεων οξείδωσης.
- ³⁵/₁₇ Διασπούν υπεροξείδια. (Dorman *et al*, 2003)

2. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

Μεγάλο προβληματισμό για τον σύγχρονο άνθρωπο προκαλεί η συχνή εμφάνιση αρτηριακών ασθενειών και καρκίνων. Η επιστημονική κοινότητα γνωρίζει σήμερα ότι υπάρχει μια στενή σχέση μεταξύ των ασθενειών αυτών και τις παρουσίας ελεύθερων ριζών στον ανθρώπινο οργανισμό. Ωστόσο, υπάρχουν ακόμα πολλά αναπάντητα ερωτήματα σχετικά με την ακριβή τους συσχέτιση, η απάντηση των οποίων πιθανότατα στην παρούσα ή στις επόμενες δεκαετίες να συντελέσει στον περιορισμό της εμφάνισης τους. (Μπρούσκου, 2004).

Τα αντιοξειδωτικά έχουν γίνει ένα ζωτικό μέρος της ζωής μας καθώς βοηθούν στην εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών τα οποία έχουν την ικανότητα να βλάψουν τα κύτταρα μας. (Deepshikha Gupta, 2005). Παρά το γεγονός ότι πολλές ουσίες έχουν μελετηθεί για την αντιοξειδωτική τους δράση in vitro, η εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με τον ρόλο τους και η σημασία τους για τον ανθρώπινο οργανισμό, αποτελεί έργο σχετικά δυσχερές. Απαιτείται η ικανότητα των μηχανισμών, με τους οποίους βλάπτονται οι ιστοί από τις ελεύθερες ρίζες, καθώς και της αλληλουχίας των αντιδράσεων, με τις οποίες οι τελευταίες σχηματίζονται in vivo. (Μπρούσκου, 2004).

2.1 Δράση των αντιοξειδωτικών

Τα αντιοξειδωτικά είναι χημικές ενώσεις που μπορούν να επιβραδύνουν ή να παρεμποδίσουν την οξειδωση των τροφίμων αναστέλλοντας τις αντιδράσεις έναρξης και διάδοσης της αυτοοξειδωσης και έχουν την ικανότητα να αδρανοποιήσουν τις ελεύθερες ρίζες δίνοντας τα δικά τους ηλεκτρόνια. (Deepshikha Gupta, 2005)

Κατά το στάδιο του τερματισμού, οι ελεύθερες ρίζες αντιδρούν μεταξύ τους και σχηματίζονται αδρανή προϊόντα. Όταν όλες οι ελεύθερες ρίζες αντιδράσουν μεταξύ τους σταματά θεωρητικά η οξειδωση. Όμως, ο αυτόματος τερματισμός της οξειδωσης, είναι πολύ δύσκολο να συμβεί, αφού είναι απίθανο να αντιδράσουν μεταξύ τους όλες οι ρίζες. Είναι δυνατόν όμως, με τη προσθήκη αντιοξειδωτικών ουσιών να εμποδιστεί ή να καθυστερήσει η εμφάνιση της οξειδωσης.

Η δέσμευση μιας ελεύθερης ρίζας, μπορεί να γίνει με τη προσφορά ενός ατόμου υδρογόνου από το αντιοξειδωτικό προς την ελεύθερη ρίζα. Γι' αυτό άλλωστε τα αντιοξειδωτικά είναι γνωστά και σαν δότες υδρογόνου. Με τη δέσμευση των ελεύθερων ριζών εμποδίζεται ο σχηματισμός των αλυσιδωτών αντιδράσεων και κατά συνέπεια διακόπτεται η πορεία της οξείδωσης. (Κυριτσάκης, 2007) Στο ανθρώπινο οργανισμό υπάρχει μια ποικιλία θρεπτικών συστατικών τα οποία έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες προκειμένου να ελέγξουν αυτές τις αντιδράσεις, όπως η βιταμίνη C, η βιταμίνη E, τα καροτένια. Σήμερα το ενδιαφέρον των περισσότερων επιστημόνων στρέφεται προς τα φυσικά αντιοξειδωτικά, τα οποία ενδέχεται να αντικαταστήσουν τα συνθετικά διότι ορισμένα από τα τελευταία έχουν θεωρηθεί υπεύθυνα για καρκινογένεση. (Zheng και Wang, 2001)

2.2 Κατάταξη αντιοξειδωτικών

Τα αντιοξειδωτικά ανάλογα με τον μηχανισμό δράσης τους, μπορούν να χωριστούν στις εξής κατηγορίες:

• Πρωτοταγή αντιοξειδωτικά:

Τα πρωτοταγή αντιοξειδωτικά διακόπτουν τις αντιδράσεις διάδοσης των ελεύθερων ριζών παρέχοντας άτομα υδρογόνου στις ελεύθερες ρίζες. Σε αυτή την κατηγορία εντάσσονται οι φαινολικές ενώσεις. Παραδείγματα πρωτογενών αντιοξειδωτικών αποτελούν η BHA (βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη), το BHT (βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο), η TBHQ (δι-τριπ-βουτυλουδροκινόνη), ο PG (προπυλικός εστέρας γαλλικού οξέος), οι φυσικές και συνθετικές τοκοφερόλες, καφεϊκό οξύ, κερνοσόλη, ροσμαρινικό οξύ κ.ά. (Γάλαρης και Δούλιας, 2001) Όσον αφορά στα φαινολικά αντιοξειδωτικά δρουν μέσω του μηχανισμού ελεύθερων ριζών, αντιδρούν με αυτές και σχηματίζουν ενώσεις που δεν έχουν την τάση να δίνουν νέες ελεύθερες ρίζες. Η δράση τους αυξάνεται όταν χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό. Το φαινόμενο αυτό λέγεται συνέργεια ή συνεργισμός ή συνεργιστική δράση. (Μπόσκος, 1997)

• **Δευτεροταγή αντιοξειδωτικά:**

Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν κάποιες ομάδες αντιοξειδωτικών με διαφορετικές ιδιότητες και είναι:

1. Ενώσεις που δημιουργούν χηλικά σύμπλοκα (συνεργιστικές ενώσεις). Οι ενώσεις αυτές σχηματίζουν χηλικά σύμπλοκα με μεταλλικά ιόντα, όπως αυτά του χαλκού και του σιδήρου. Με τον τρόπο αυτό δεσμεύουν σωματίδια που δρουν ως εκκινητές της οξείδωσης. Παραδείγματα αποτελούν το κιτρικό οξύ, τα αμινοξέα, το αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA) κ.ά. Ωστόσο για να εκδηλωθεί η αντιοξειδωτική τους δράση, πρέπει να χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με κάποιο άλλο αντιοξειδωτικό .
2. Ενώσεις που απομακρύνουν το οξυγόνο. Οι ενώσεις αυτές αντιδρούν με το οξυγόνο οπότε, σχηματίζοντας ενώσεις με αυτό, εμποδίζουν την αντίδρασή του με τα λιπίδια που αποτελεί έναρξη της αυτοοξείδωσης. Την ικανότητα αυτή παρουσιάζουν αντιοξειδωτικά όπως το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), ο παλμιτικός του εστέρας, το ερυθροβικό οξύ και τα άλατά του με νάτριο, κ.ά.
3. Τα αναγωγικά, τα οποία αναγεννούν φαινόλες και εμφανίζουν το φαινόμενο του συνεργισμού. Το ασκορβικό οξύ, με τη μορφή εστέρων με λιπαρά οξέα (για να είναι λιποδιαλυτό) πιστεύεται ότι αναγεννά τα φαινολικά αντιοξειδωτικά, παρέχοντας υδρογόνο στις φαινοξυ-ρίζες και έτσι έχει μία έμμεση δράση ως αντιοξειδωτικό. Ως, αναγωγικό, το ασκορβικό οξύ μεταφέρει άτομα υδρογόνου στις κινόνες, που σχηματίζονται στην ενζυμική αμαύρωση των φαινολικών ουσιών και αυτό παρέχει μία προστασία στις πρόσφατα κομμένες επιφάνειες των φρούτων και λαχανικών.
4. Οι αποσβεστές διεγερμένου (singlet) οξυγόνου. Οι οποίοι απενεργοποιούν το μονήρες οξυγόνο. Εδώ ανήκουν οι τοκοφερόλες και το β-καροτένιο.
5. Ένζυμα. Αυτά δρουν είτε απομακρύνοντας το εν διαλύσει οξυγόνο, είτε απομακρύνοντας συστατικά του τροφίμου που είναι ευοξειδωτα. Παραδείγματα για την κατηγορία αυτή αποτελούν αντίστοιχα η οξειδάση της γλυκόζης, η υπεροξειδάση της δισμουτάσης, η καταλάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (Roberfroid και Calderon, 1990).
6. Η μεθυλοσιλικόνη και οι στερόλες με αιθυλιδενική πλευρική αλυσίδα, όπως το πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο, εμποδίζουν τον οξειδωτικό πολυμερισμό σε θερμαινόμενα έλαια.
7. Τέλος σε αυτή την κατηγορία ανήκουν τα αντιοξειδωτικά με πολύπλοκη ή μη

πλήρως γνωστή δράση. Τέτοια είναι τα φωσφολιπίδια και τα προϊόντα των αντιδράσεων Maillard. (Μπόσκος, 1997)

2.3 Συνθετικά αντιοξειδωτικά

Τα αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται για να παρατείνουν την ζωή ενός τροφίμου, για αυτόν τον λόγο έχουν αναπτυχθεί τα συνθετικά αντιοξειδωτικά. Τα οποία είναι ενώσεις που προστίθενται στα τρόφιμα έτσι ώστε να μπορεί να αντέξει σε διάφορες θερμοκρασίες και συνθήκες αποθήκευσης και μεταφοράς, καθώς και να παρατείνει την ζωή στο ράφι. Σήμερα, σχεδόν σε όλα τα επεξεργασμένα τρόφιμα προστίθενται συνθετικά αντιοξειδωτικά. (Marcio Carochο και Isabel C.F.R. Ferreira, 2012) Αποτελούν ενώσεις φαινολικής κυρίως δομής και χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα λιπαρών τροφίμων, ώστε να αποτρέψουν ή να επιβραδύνουν την οξείδωσή τους. Η ανώτατη επιτρεπόμενη συγκέντρωση των συνθετικών αντιοξειδωτικών στα τρόφιμα είναι 0,02%.

Τα χαρακτηριστικά των ιδανικών αντιοξειδωτικών είναι τα εξής :

- ³⁵/₁₇ Να μην είναι τοξικό.
- ³⁵/₁₇ Να μην προσδίδει δυσάρεστη οσμή και γεύση, ούτε ανεπιθύμητο χρώμα στις λιπαρές ύλες.
- ³⁵/₁₇ Να είναι αποτελεσματικό σε πολύ μικρές δόσεις.
- ³⁵/₁₇ Να είναι λιποδιαλυτό.
- ³⁵/₁₇ Να μην αλλοιώνεται στις διαφορές συνθήκες που υποβάλλεται η λιπαρή ύλη.
- ³⁵/₁₇ Να βρίσκεται εύκολα στην αγορά.
- ³⁵/₁₇ Να μην αντιδρά με άλλα συστατικά της λιπαρής ύλης.
- ³⁵/₁₇ Να προσδιορίζεται εύκολα η περιεκτικότητά του στα τρόφιμα.
- ³⁵/₁₇ Να είναι οικονομικό.

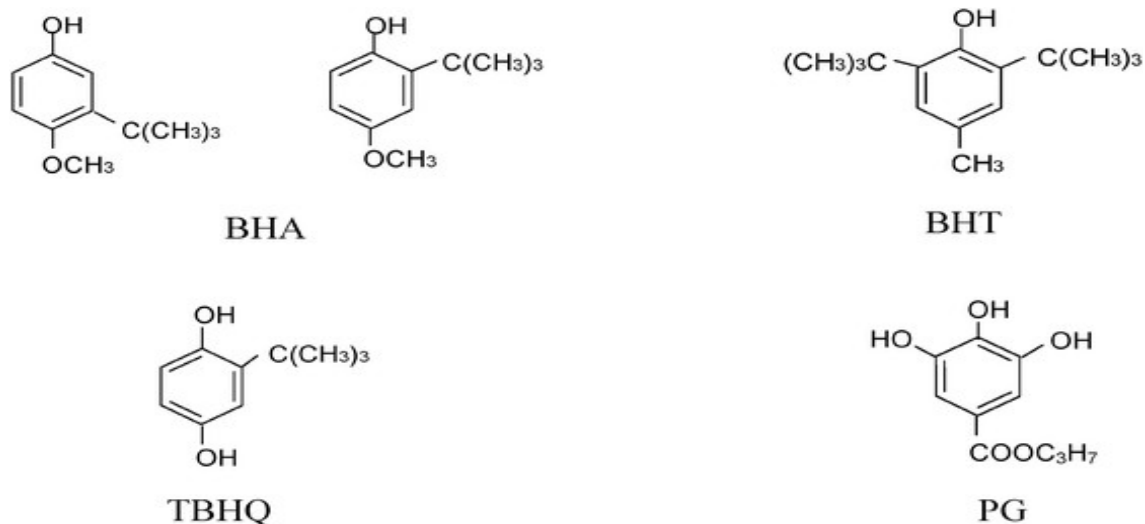
Τα κυριότερα συνθετικά αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται για την προστασία των λιπαρών υλών των τροφίμων είναι :

BHT: βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο ή 2,6-δι-τρι-βουτυλοπαρακρεσόλη. Το BHT είναι πιο αποτελεσματικό στην προστασία των ζωικών από ότι των φυτικών λιπών.

BHA: βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη που είναι μίγμα δυο ισομερών της 2-τρι-βούτυλο-4-μεθοξυφαινόλης και 3-τρι-βουτυλο-4-μεθοξυφαινόλης. Είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την προστασία του αρώματος και του χρώματος των αιθέριων ελαίων και εξαιρετικά αποτελεσματική για την οξειδωτική προστασία ελαίων πλούσιων σε λιπαρά οξέα μικρής αλυσίδας. Είναι λιποδιαλυτό και αδιάλυτο στο νερό όπως και το BHT.

PG: Εστέρες του γαλλικού οξέος όπως ο προπυλικός, ο οκτυλικός και ο δεκυλικός. Είναι από τα πιο πολικά αντιοξειδωτικά, είναι πολύ ενεργά στα λίπη και στα έλαια δεδομένου ότι είναι εμπλουτισμένα στην επιφάνεια του λίπους και έρχονται σε επαφή με τον αέρα. Οι εστέρες του γαλλικού οξέος και κυρίως ο προπυλικός χάνουν την δραστηρότητά τους κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με την BHA και το BHT, ενώ για να παρεμποδιστεί η προοξειδωτική δράση μεταλλικών ιόντων, όπως σιδήρου και χαλκού, χρησιμοποιείται ταυτόχρονα και κιτρικό οξύ.

TBHQ: Δι-τρι-βουτυλο-υδροκινόνη. Είναι πιο πολικό αντιοξειδωτικό και επαρκώς λιποδιαλυτή και μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνη ή σε συνδυασμό με την BHA και το BHT σε συγκεντρώσεις έως 200 ppm. Ως διφαινόλη μπορεί να αντιδράσει με υπεροξυ-ρίζες δίνοντας ημικινοειδείς ρίζες οι οποίες σταθεροποιούνται μέσω δομών συντονισμού ή παίρνουν μέρος σε άλλες αντιδράσεις παράγοντας πιο σταθερά προϊόντα. (Belitz *et al*, 2006)



Σχήμα 2.3.1: Συνθετικά αντιοξειδωτικά.

2.4 Φυσικά αντιοξειδωτικά

Τα φυσικά αντιοξειδωτικά είναι ουσίες φυτικής προέλευσης με αντιοξειδωτική δράση. Η δραστηριότητα των φυσικών αντιοξειδωτικών εξαρτάται κυρίως από τα φυτά από τα οποία προέρχονται και τον τρόπο επεξεργασίας τους. Η αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων τα οποία παραλαμβάνονται από τα φυτά επηρεάζονται από τις συνθήκες και τον τρόπο εκχύλισης καθώς και από την πολικότητα του διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε για την παραλαβή τους. (Κυριτσάκης, 2007)

Τα φυτά, τα ζώα αλλά και ο άνθρωπος διαθέτουν κάποιες ποσότητες αντιοξειδωτικών και ενζύμων, ενδογενώς, για την προστασία των λιπιδίων τους από την οξείδωση. Πιο συγκεκριμένα το ενδογενές αντιοξειδωτικό σύστημα του ανθρώπου χωρίζεται σε δυο μεγάλες ομάδες, τα ενζυμικά αντιοξειδωτικά και τα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά. Παρά την αξιολογώτερη δράση του ενδογενούς συστήματος σε πολλές περιπτώσεις δεν επαρκεί και γι αυτό το λόγο οι άνθρωποι εξαρτώνται από διάφορων ειδών αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στα τρόφιμα έτσι ώστε να διατηρηθούν οι συγκεντρώσεις των ελεύθερων ριζών σε χαμηλά επίπεδα. Λόγω του ότι τα συνθετικά αντιοξειδωτικά δεν είναι βέβαιο ότι δεν επιδρούν αρνητικά στην υγεία του ανθρώπου, η προσοχή στράφηκε στα φυσικά αντιοξειδωτικά. Αυτά είναι φυσικές οργανικές ουσίες που περιέχουν στο μόριό τους μια φαινολική ομάδα, στην

οποία οφείλεται και η αντιοξειδωτική τους δράση. (Dai.Jain και R. Mumper , 2010)

2.5 Λιπόφιλα και υδρόφιλα αντιοξειδωτικά

Το εσωτερικό των κυττάρων μας αποτελείται κυρίως από νερό, αλλά οι κυτταρικές μεμβράνες καθίστανται σε μεγάλο βαθμό από λιπίδια. Τα λιποδιαλυτά αντιοξειδωτικά όπως η βιταμίνη E, η βιταμίνη A, τα καροτενοειδή και το λιποϊκό οξύ βρίσκονται στις κυτταρικές μεμβράνες, ενώ τα υδατοδιαλυτά αντιοξειδωτικά είναι αυτά που προστατεύουν τις κυτταρικές μεμβράνες από την υπεροξειδωση των λιπιδίων. (Deepshikha Gupta, 2015)

2.6 Φαινολικές ενώσεις

Οι φαινολικές ενώσεις περιλαμβάνουν έναν αρωματικό δακτύλιο και μια σειρά από μια ή περισσότερες υδροξυλικές ομάδες από τα απλά φαινολικά μόρια έως πολυμερείς ενώσεις. Επίσης, απαντώνται ως μονό- και πολυσακχαρίτες που συνδέονται με μια ή περισσότερες από τις υδροξυλομάδες τους με σάκχαρα και μπορούν επίσης να εμφανιστούν με την μορφή εστέρων και μεθυλεστέρων. (Balasundram *et al.*, 2006)

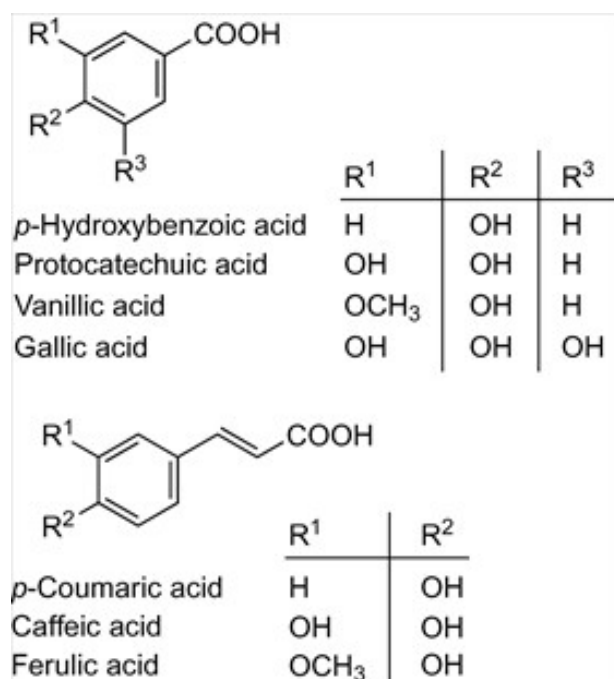
Οι φαινολικές ενώσεις κυριαρχούν στο φυτικό βασίλειο, γι αυτό και είναι αναπόσπαστο μέρος της διατροφής του ανθρώπου, είναι γνωστό ότι υπάρχουν περισσότερες από 8.000 φαινολικές δομές που μπορούν να είναι είτε απλά μόρια είτε σύνθετα. Είναι ευρέως διαδεδομένες ως συστατικά των φυτικών τροφών (φρούτα, λαχανικά, δημητριακά, ελαιόλαδο κλπ.) των ποτών (τσάι, καφές, μπύρα, κρασί κλπ.) και ευθύνονται για τις οργανοληπτικές τους ιδιότητες. Για παράδειγμα τα φαινολικά συμβάλλουν στην πικρή και στυφή γεύση των φρούτων και λαχανικών. Ανάλογα με τον αριθμό των φαινολικών δακτυλίων οι φαινολικές ενώσεις μπορούν να καταταχθούν σε απλές φαινόλες, όταν έχουν ένα φαινολικό δακτύλιο όπως είναι τα φαινολικά οξέα και οι κουμαρίνες, σε πολυφαινόλες, όταν διαθέτουν δυο ή περισσότερους αρωματικούς δακτυλίους όπως είναι τα φλαβονοειδή, τα στυλβένια, τα λιγνάνια και οι ταννίνες.

Οι φαινολικές ουσίες ενισχύουν την άμυνα του οργανισμού και βρίσκονται στα όργανα των φυτών επομένως είναι ένα αναπόσπαστο μέρος της ανθρώπινης διατροφής. (J.Dai και R.Murphy, 2010) Κύριες φαινολικές ενώσεις που είναι υπεύθυνες για την αντιοξειδωτική δράση είναι τόσο οι απλές μονοφαινόλες όπως η π-κρεσόλη, η 3-αιθυλοφαινόλη και η 3,4-διμεθυλοφαινόλη όσο και διφαινόλες όπως η υδροκινόνη που είναι η πιο διαδεδομένη. (Zheng *et al.*, 2001)

2.7 Φαινολικά οξέα

Οι πολυφαινολικές ενώσεις είναι ευρέως διαδεδομένες ως δευτερογενείς μεταβολίτες στα αρωματικά φυτά και οι κυριότερες ανήκουν στις κατηγορίες των φαινολικών οξέων, των φλαβονοειδών και φαινολικών διτερπενίων. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να δράσουν ως δότες ηλεκτρονίου και παράγοντες αδρανοποίησης δραστικών μορφών οξυγόνου. Έχουν επίσης ικανότητα σχηματισμού χηλικών ενώσεων με ιόντα μετάλλων και παρεμπόδισης της αντίδρασης Fenton.

Τα φαινολικά οξέα διακρίνονται σε: i) υδροξυλιωμένα παράγωγα του βενζοϊκού οξέος και βρίσκονται σε ελεύθερη μορφή καθώς και ως εστέρες ή γλυκοζίτες όπως το γαλλικό οξύ, το πρωτοκατεχικό οξύ, 3-υδροξυβενζοϊκό οξύ, το συριγικό οξύ και το βανιλικό οξύ, ii) σε υδροξυλιωμένα παράγωγα κινναμωμικού οξέος κυρίως απαντούν με την μορφή εστέρων ή γλυκοζιτών, όπως το καφεϊκό οξύ, το π-κουμαρικό οξύ, το ο-κουμαρικό οξύ και το φερουλικό οξύ και τέλος οι γλυκοζιτικοί φαινολοξικοί εστέρες. (Balasundram *et al*, 2006) Μεταξύ των φαινολικών οξέων που εμφανίζονται σαν φυσικά αντιοξειδωτικά σε φυτικής προέλευσης τρόφιμα τα πιο διαδεδομένα είναι το καφεϊκό οξύ, φερουλικό οξύ και το βανιλικό οξύ. Το καφεϊκό οξύ έχει υψηλή δραστηριότητα συγκρίσιμη της φλαβονόλης κερκετίνης. Το φερουλικό οξύ εμφανίζεται να εμποδίζει την προοξείδωση του λινολενικού ή λινελαϊκού οξέος σε υψηλές συγκεντρώσεις. (Zheng *et al*, 2001)



Σχήμα 2.7.1: Δομή φαινολικών οξέων.

Τα υδροξυκινναμωμικά οξέα είναι η πιο σημαντική κατηγορία φαινολικών ενώσεων και βρίσκονται στα φυτά και στα προϊόντα τους. Τα υδροξυκινναμωμικά οξέα και τα παράγωγά τους είναι βιοδραστικά συστατικά με αντιοξειδωτική δράση *in vitro* και έχει ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία των ανθρώπων. (Kroon και Williamson, 1999) Ειδικότερα οι ο-διφαινόλες (κατεχόλες) όπως το πρωτοκατεχικό οξύ (3,4- διυδροξυβενζοϊκό οξύ) (PA) και το καφεϊκό οξύ (3,4-διυδροξυκινναμωμικό οξύ) (CA) παρουσιάζουν ισχυρή δράση αδρανοποίησης ελεύθερων ριζών. Το καφεϊκό οξύ και τα παράγωγά του εμφανίζουν αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιμικροβιακές ιδιότητες.

Το φερουλικό οξύ (4-υδροξυ-3-μεθοξυκινναμωμικό οξύ) (FA), το μεθοξυπαράγωγο του καφεϊκού οξέος βρίσκεται ευρέως στους φυτικούς ιστούς και αποτελεί βιοδραστικό συστατικό των τροφίμων. Μια από τις πιο σημαντικές βιολογικές δράσεις του φερουλικού οξέος είναι οι αντιοξειδωτικές του ιδιότητες. Με τον τρόπο αυτό το FA προστατεύει το DNA και τα λιπίδια από την οξείδωση που προκαλούν οι δραστικές μορφές οξυγόνου. Έτσι το FA δρα ευεργετικά στην πρόληψη και θεραπεία παραγόντων που συνδέονται με το οξειδωτικό στρες όπως το Alzheimer, ο διαβήτης, διάφορες μορφές καρκίνου, υπέρταση, αθηρωμάτωση και φλεγμονώδεις

αντιδράσεις. Επιπλέον το φερουλικό οξύ παρεμποδίζει την φωτοξείδωση του λινελαϊκού οξέος και μπορεί να λειτουργήσει ως παράγοντας φωτοπροστασίας του δέρματος. (Ozaki.Y., 1992) Το γαλλικό οξύ (3,4,5-τριυδροξυβενζοϊκό οξύ) (GA), επίσης σημαντικό φαινολικό φυτοχημικό, έδειξε ισχυρή αντιοξειδωτική δράση τόσο σε γαλακτώματα όσο και σε λιπαρά υποστρώματα. (Anselmi *et al.*, 2004)

2.8 Φλαβονοειδή

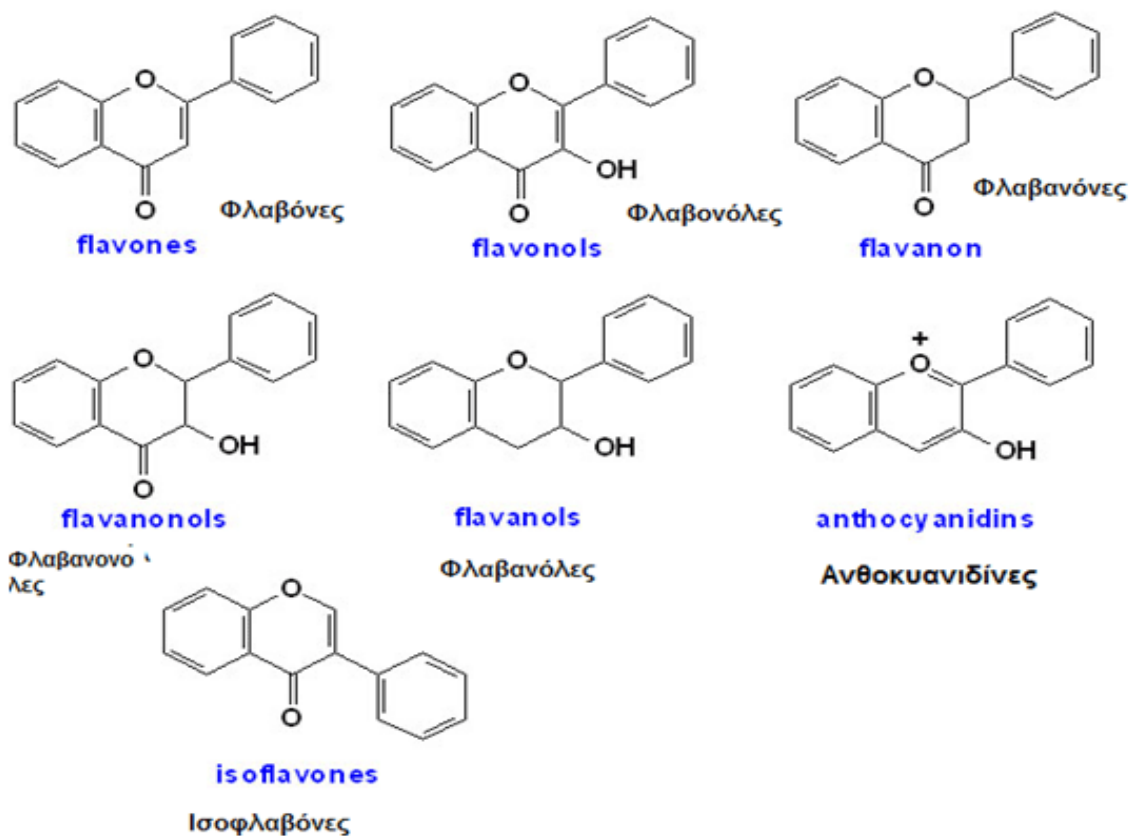
Τα φλαβονοειδή είναι η μεγαλύτερη κατηγορία φαινολικών ενώσεων και είναι παράγωγα του βενζο-γ-πυρανίου. Η δομή τους αποτελείται από δυο αρωματικούς δακτύλιους τον Α και τον Β, ενωμένους από μια γέφυρα 3 ατόμων άνθρακα, συνήθως σε μορφή ετεροκυκλικού δακτύλιου. Στα φλαβονοειδή συμπεριλαμβάνονται οι κατεχίνες, οι φλαβονόλες, οι φλαβονόνες, οι φλαβόνες, οι ισοφλαβόνες και οι ανθοκυανίνες. (Balasundram *et al.*, 2006)

Οι φλαβονόλες και οι φλαβόνες βρίσκονται στα φυτά με την μορφή Ο-γλυκοζιτών, κυρίως στα φύλλα και τα εξωτερικά μέρη των φυτών και στα περισσότερα φρούτα και λαχανικά. Φλαβονοειδή έχουν βρεθεί ακόμα σε σπόρους (chia seeds), ελαιούχους καρπούς (φιστίκια), στη σόγια και στα προϊόντα της. Έχουν ανιχνευτεί πάνω από 4000 φλαβονοειδή και βρίσκονται σε φρούτα, λαχανικά, τσάι, κόκκινο κρασί και σε πολλά συμπληρώματα διατροφής ή φυτικά φάρμακα.

Είναι από τα πιο σημαντικά φαινολικά φυτοχημικά και το ενδιαφέρον για αυτά τα συστατικά οφείλεται κυρίως λόγω της ικανότητάς τους να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες. Πολλά φλαβονοειδή έχουν βρεθεί να εμποδίζουν την υπεροξείδωση των λιπιδίων και την οξείδωση των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας. (Sang *et al.*, 2003) Τα φυσικά φλαβονοειδή μπορούν να προσφέρουν μια εναλλακτική λύση για την προστασία από την οξείδωση των λιπιδίων στα τρόφιμα. Έχουν χαρακτηριστεί ως προασπιστές της υγείας, για την πρόληψη ασθενειών όπως του καρκίνου. Επίσης, μπορούν να χρησιμοποιηθούν εναλλακτικά αντί των ευρέως χρησιμοποιημένων συνθετικών φαινολικών αντιοξειδωτικών στις βιομηχανίες τροφίμων, και να έχουν οφέλη για την υγεία, όπως προκύπτει από επιδημιολογικές μελέτες οι οποίες δείχνουν ότι η κατανάλωση τροφίμων που είναι πλούσια σε φλαβονοειδή μπορεί να μειώσει το

κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου και ορισμένων μορφών καρκίνου. (Jullian, *et al.*, 2010)

Τα περισσότερα φλαβονοειδή εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση σε λιπαρά συστήματα τροφίμων. Η δράση αυτή εξαρτάται από τη θέση και τον αριθμό των υδροξυλίων στο μόριο τους, η υδροξυλίωση του αρωματικού δακτυλίου Β συνεισφέρει σημαντικά στην αντιοξειδωτική δράση. Επίσης, δρουν με δυο μηχανισμούς ως αντιοξειδωτικά, κυρίως διακόπτουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις της οξείδωσης δίνοντας άτομα υδρογόνου στις υπέροξυ-ρίζες όπως όλα τα φαινολικά αντιοξειδωτικά. Επίσης σχηματίζουν σύμπλοκα με μεταλλικά ιόντα που εμφανίζουν προοξειδωτική δράση. (Pratt & Hudson., 1990)



Σχήμα 2.8.1: Δομή φλαβονοειδών.

2.9 Φαινολικά διτερπένια

Μία μεγάλη κατηγορία ενώσεων που απαντούν στα φυτά είναι τα τερπένια. Αυτή περιλαμβάνει ενώσεις που έχουν κοινή βιοσυνθετική προέλευση και ως βασική δομική μονάδα το μόριο του ισοπροπενίου $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$. Συγκεκριμένα, τα διτερπένια είναι ενώσεις των οποίων ο ανθρακικός σκελετός αποτελείται από τέσσερις ισοπρενικές ομάδες. Διτερπένια με φαινολική δομή όπως η καρνοσόλη, το καρσονικό οξύ, η ροσμανόλη, η επιροσμανόλη, η ισοροσμανόλη, η ροσμαριδιφαινόλη και η ροσμαρικινόννη έχουν ταυτοποιηθεί κυρίως σε εκχυλίσματα αρωματικών φυτών και συνεισφέρουν σημαντικά στην αντιοξειδωτική τους δράση. (Aguoma *et al.*, 1992)

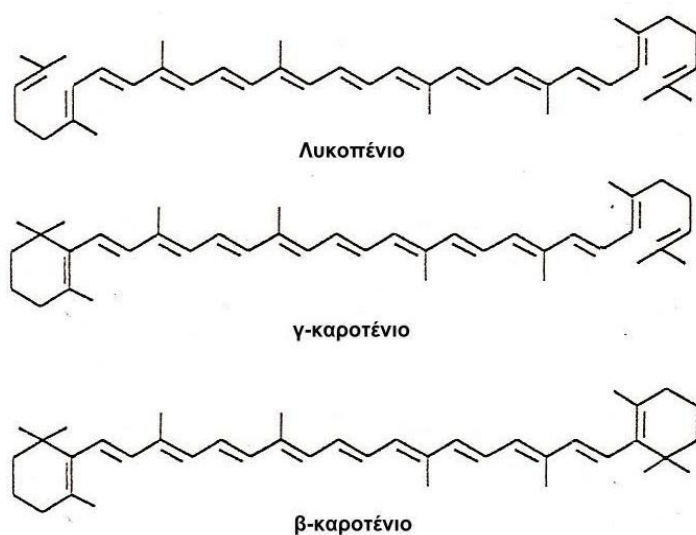
2.10 Καροτενοειδή

Τα καροτενοειδή είναι φυσικά αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στα φυτά και είναι συχνά υπεύθυνα για το κόκκινο, κίτρινο και πορτοκαλί χρώμα των φρούτων και των λαχανικών. Επίσης, υπάρχουν και σε ορισμένα σκούρα πράσινα λαχανικά. (Oliver Jordi και Andreu Palou, 2000) Στα καροτενοειδή ανήκουν το λυκοπένιο και το β-καροτένιο, αυτά τα καροτενοειδή είναι ιδιαίτερα γιατί περιέχουν 600 διαφορετικές ενώσεις και είναι πολύ γνωστά για την εξουδετέρωση των ριζών υπεροξείδωσης των λιπιδίων τα οποία μπορούν να βλάψουν τα λιπίδια στο κυτταρικό τοίχωμα. Για αυτόν τον λόγο διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία των κυτταρικών μεμβρανών και των λιποπρωτεϊνών. (S. Balasaheb Nimse and Dilipkumar Pal , 2015)

Πρόσφατες επιδημιολογικές έρευνες έδειξαν ότι η κατανάλωση τομάτας και προϊόντων διατροφής με βάση τη τομάτα, μειώνουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου. Αυτό το προστατευτικό αποτέλεσμα οφείλετε στα καροτενοειδή που υπάρχουν στα διάφορα φρούτα και λαχανικά. Το καροτένιο με τη μεγαλύτερη ποσότητα στη τομάτα είναι το λυκοπένιο σε συγκέντρωση 90-80 % στην trans μορφή του. Επιπλέον, σύμφωνα με μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε, βρέθηκε ότι η κατανάλωση σάλτσας και όχι φρέσκιας τομάτας περιέχει μεγαλύτερη ποσότητα λυκοπενίου. (Oliver Jordi

και Andreu Palou, 2000)

Δομικά τα καροτενοειδή αποτελούνται από 8 ισοπρενοειδείς ομάδες δηλαδή 40 άτομα άνθρακα. Τα καροτενοειδή με μεγαλύτερη αλυσίδα βρίσκονται σε μερικά είδη βακτηρίων. Επιπλέον, μπορούν να διαχωριστούν σε δυο κατηγορίες τα καροτενοειδή με τους υδρογονάνθρακες που περιέχουν λυκοπένιο και β-καροτένιο, η άλλη κατηγορία καροτενοειδών είναι τα οξυγονωμένα καροτενοειδή που είναι γνωστά ως ξανθοφύλλες και περιλαμβάνουν την ζεαξανθίνη και την λουτεΐνη. (Jin Da and Russell J. Mumper, 2010) Οι ενώσεις του διακρίνονται μεταξύ υδρογονανθράκων κατασκευασμένων από C και H ονομάζονται ξανθοφύλλες. Μια πολύ γνωστή ξανθοφύλλη είναι η κρυπτοξανθίνη, είναι μια ένωση ανάλογη με τα καροτένια δηλαδή έχει πολλές ισοπρενοειδείς ομάδες με πλήθος διπλών δεσμών σε συζυγική θέση. Στα άκρα των καροτενοειδών ενώσεων εμφανίζονται γραμμές ή κυκλικές ομάδες τα κυκλοεξάνια και τα κυκλοπεντάνια. Ο συνδυασμός τους με το οξυγόνο που περιέχει λειτουργικές ομάδες ευθύνεται για το πλήθος των δομικών μορφών τους.



Σχήμα 2.10.1: Δομή καροτενοειδών.

2.11 Λυκοπένιο

Το λυκοπένιο είναι ένα από τα 600 καροτενοειδή στοιχεία που υπάρχουν στην φύση. Αποτελεί μια κόκκινη χρωστική και βρίσκεται κυρίως στην τομάτα και σε λίγα φρούτα και λαχανικά. Σε φωτοσυνθετικούς ιστούς υπάρχουν ελάχιστα ποσά λυκοπενίου. Αν και χρησιμοποιούνται ως χρωστική στα τρόφιμα εδώ και πολλά χρόνια, πρόσφατα έχει αποτελέσει αντικείμενο έντονης μελέτης όσον αφορά την αντιοξειδωτική του δραστηριότητα και την δυνατότητα πρόληψης χρόνιων παθήσεων, όπως ορισμένα είδη καρκίνου και καρδιαγγειών. Με την σειρά του αυτό οδήγησε στην ιδέα της αύξησης της συγγέντρωσης του σε καλλιέργειες μέσω γενετικών χειρισμών, έτσι ώστε να αυξηθούν τα ποσά λυκοπενίου σε μια τυπική δίαιτα. (Peter M. Bramles, 2000)

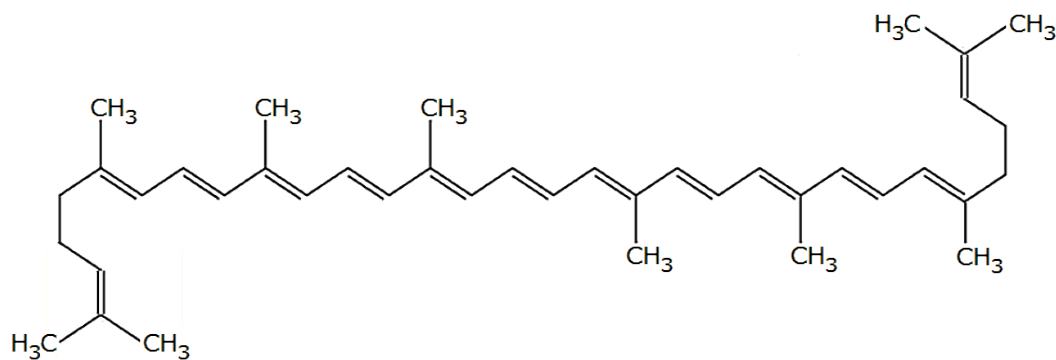
Χημική δομή λυκοπενίου

Το λυκοπένιο είναι ένα ακυκλικό καροτένιο με 11 συζευγμένους διπλούς δεσμούς. Οι διπλοί δεσμοί υπόκεινται σε ισομερίωση εμφανίζοντας cis και trans μορφές και έτσι σχηματίζονται τελικά 72 ισομερή του λυκοπενίου. Τα διάφορα cis ισομερή βρίσκονται σε ανώτερα φυτά καθώς και στο πλάσμα. Η ισομερίωση μπορεί να προκληθεί μέσω θερμικής επεξεργασία και οξειδωτικών διαδικασιών που προκύπτουν κατά την διάρκεια της προετοιμασία, επεξεργασία και αποθήκευσης προϊόντων που περιέχουν τομάτα, οδηγώντας σε εξασθένηση του χρώματος και τις βιολογικής δραστηριότητας. (Juliana *et al*, 2010)

Στο μόριο του λυκοπενίου δεν υπάρχει ο χαρακτηριστικός δακτύλιος β-καροτενίου για αυτό και δεν αποτελεί πρόδρομη μορφή της βιταμίνης Α. Το μεγάλο χρωμοφόρο στην πολυενική αλυσίδα ευθύνεται για το κόκκινο χρώμα του λυκοπενίου καθώς επίσης και για την έντονη αντιοξειδωτική του δράση. Το λυκοπένιο αντιδρά με μονήρες οξυγόνο και με άλλες ρίζες και έχει την υψηλότερη TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) τιμή από όλα τα καροτενοειδή. Το καροτένιο συντίθεται μέσω μιας σειράς 4 αντιδράσεων από κορεσμού του άχρωμου καροτενοειδούς φυτοΐνη καθώς το ίδιο το λυκοπένιο κυκλοποιείται σε ε-και β-καροτένιο τα οποία αποτελούν πρόδρομες μορφές των ξανθοφυλλών που λαμβάνουν μέρος στον φωτοσυνθετικό μηχανισμό. Τα γονίδια για αυτά τα ένζυμα στην πραγματικότητα κλωνοποιούνται και χρησιμοποιούνται σε πειράματα γενετικής

μηχανικής. Τέτοια προσέγγιση οδηγεί σε φυτά κυρίως τομάτα, με υψηλά επίπεδα συγκέντρωσης λυκοπενίου. (Peter M.Bramley, 2000)

Τα επίπεδα λυκοπενίου στο πλάσμα αντικατοπτρίζονται την διαιτητική του πρόληψη. Σε έρευνα παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα λυκοπενίου στο πλάσμα μειώθηκαν σημαντικά σε άτομα που ακολούθησαν για δύο εβδομάδες δίαιτα ελεύθερη ντομάτας. Το λυκοπένιο κατά την πέψη, ενσωματώνεται σε μικκύλια λιπιδίων και απορροφάται από το εντερικό βλεννογόνο με παθητική διάχυση. Στη συνέχεια μεταφέρεται μέσω λιποπρωτεϊνών στο πλάσμα για να κατανεμηθεί στους διάφορους ιστούς και τα όργανα. Λόγω της λιπόφιλης φύσης του, συγκεντρώνεται στις LDL και VLDL λιποπρωτεΐνες και όχι στις αντίστοιχες HDL λιποπρωτεΐνες του ορού. Στους ανθρώπους το λυκοπένιο απορροφάται σε ποσοστό 10-30 % και το υπόλοιπο απεκκρίνεται. Πολλοί είναι οι βιολογικοί παράγοντες που επηρεάζουν την απορρόφησή τους όπως η ηλικία, το φύλο, η ορμονική κατάσταση, η μάζα σώματος, η σύνθεση του σώματος, τα επίπεδα λιπιδίων του αίματος, το κάπνισμα, το αλκοόλ και η παρουσία άλλων καροτενοειδών στα τρόφιμα. (A.I.J.N, 2006)



Σχήμα 2.11.1: Δομή λυκοπενίου.

3. ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΑΣ

3.1 Γενικά για την τομάτα

Η τομάτα μεταφέρθηκε από το Περού ή το Μεξικό στις αρχές του 16ου αιώνα στην Ισπανία, στην Ιταλία και αργότερα επεκτάθηκε στην υπόλοιπη Ευρώπη. Στην πραγματικότητα, οι Αζτέκοι καλλιεργούσαν ένα φυτό που ονομαζόταν τοματάλ οι καρποί του οποίου έμοιαζαν με τις σημερινές τομάτες (tomates-cerises). Το φυτό αυτό συναντάται ακόμη, στην άγρια μορφή του, στις περιοχές του Ισημερινού και στο Περού. Η τομάτα ανήκει στην τάξη *Scrophulariales* στην υπόταξη *Solanineae*, στην οικογένεια *Solanaceae* (Σολανώδη), στην φυλή *Solanaeae* και γένους *Lycopersicon*. (V.Preedy και R.Watson, 2008) Οι ποικιλίες χωρίζονται σε πρώιμες και όψιμες, οι πρώιμες ποικιλίες είναι εκείνες που παράγουν καρπούς νωρίτερα από τις υπόλοιπες. Η διάρκεια του παραγωγικού κύκλου τους είναι μικρή και οι καρποί τους είναι πάντα μικρού ή μεσαίου μεγέθους. Αντιθέτως, οι όψιμες ποικιλίες καρποφορούν αργότερα. Ωστόσο, όλα αυτά είναι θεωρητικά, καθώς ανάλογα με τις χρονιές ορισμένες πρώιμες ποικιλίες καρποφορούν αργότερα από άλλες ποικιλίες που θεωρούνται όψιμες, και αντιστρόφως. (Jean-Marie Polese, 2008)

Αυξήθηκε σε μικρό χρονικό διάστημα η δημοτικότητα της τομάτας και επεκτάθηκε σε όλη την Ευρώπη. Κατά την περίοδο αυτή υπήρξε σημαντική πρόοδος όσον αφορά την καλλιέργειά της τομάτας, την βελτίωση της ποιότητας, τον καλύτερο χειρισμό στην αποθήκευση και βελτιωμένη αντοχή στα παράσιτα. Επιπλέον, δημιουργήθηκαν πολλά προϊόντα με βάση την τομάτα. Η βιομηχανία της τομάτας έχει κάνει τεράστια πρόοδο στην ανάπτυξη πολλών μορφών τροφίμων με βάση την τομάτα, όπως σάλτσα τομάτας, κέτσαπ, πουρέ, πάστες, σούπες, χυμούς, κονσέρβες τα οποία είναι ιδιαίτερα επιθυμητά στους ανθρώπους λόγω χρώματος και γεύσης.

Επιπρόσθετος, η τομάτα και τα προϊόντα της θεωρούνται πλούσια σε θρεπτικά συστατικά καθώς είναι εμπλουτισμένα σε βιταμίνη C, βιταμίνη A, λυκοπένιο, β-καροτένιο, λουτεΐνη, λεκτίνη και μία ποικιλία φαινολικών ενώσεων, όπως τα φλαβονοειδή και τα φαινολικά οξέα. Επίσης είναι πλούσια σε φολικό οξύ, κάλιο, φυτικές ίνες και πρωτεΐνες, αλλά χαμηλά σε λιπαρά και θερμίδες. Επιδημιολογικές

μελέτες έχουν δείξει ότι η τομάτα έχει ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η τομάτα περιέχει μία πληθώρα αντιοξειδωτικών.

3.2 Χημική σύσταση και διατροφική αξία του καρπού

Οι τομάτες αποτελούνται από 93-95 % νερό, το 5-7 % είναι ανόργανες ενώσεις, οργανικά οξέα (κιτρικό και μηλικό), σάκχαρα (γλυκόζη και σακχαρόζη) καθώς και πρωτεΐνες, κυτταρίνη, πηκτίνη και πολυσακχαρίτες. Συγκεκριμένα τα ανόργανα σάκχαρα, όπως η γλυκόζη και η σακχαρόζη αντιπροσωπεύουν το 50 % του ξηρού περιεχομένου του καρπού ενώ το υπόλοιπο είναι πρωτεΐνες, πηκτίνη, κυτταρίνες, ημικυτταρίνες, οργανικά οξέα, ανόργανες ουσίες, χρωστικές, βιταμίνες και λιπίδια. Το β-καροτένιο έχει χρωστική ουσία και είναι υπεύθυνη για το κιτρινωπό χρώμα και αντιπροσωπεύει το 3-7 %. (V.Preedy και R.Watson, 2008)

Ο καρπός της τομάτας έχει υψηλή περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες, ελεύθερος από χοληστερόλη και αποτελεί πλούσια πηγή βιταμινών Α και C. Η κατανάλωση μίας μεσαίου μεγέθους τομάτας (148 g) αποφέρει 135 θερμίδες ενώ περιλαμβάνει περίπου 20-50 mg λυκοπενίου/100 g βάρους καρπού. Το λυκοπένιο ανήκει στην ομάδα των καροτενοειδών και αποτελεί ένα από τα ισχυρότερα αντιοξειδωτικά. (Bhatia *et al*, 2004) Επιπλέον, η τομάτα περιέχει ιχνοστοιχεία όπως κάλιο, μαγνήσιο, ασβέστιο, φώσφορο και είναι καλή πηγή βιταμινών και αντιοξειδωτικών ουσιών. Οι μεταποιημένες τομάτες ενδέχεται να διαθέτουν υψηλότερα επίπεδα ορισμένων θρεπτικών συστατικών, αφενός διότι η συγκέντρωση τους μπορεί να είναι υψηλότερη σε αυτές τις μορφές και αφετέρου διότι η μεταποίηση μπορεί να επιφέρει αλλαγές στη χημική τους δομή και στην βιοδιαθεσιμότητα του.

Πίνακας 3.2.1: Διατροφική σύσταση νωπής τομάτας και επεξεργασμένου τοματοπολτού.

Σύσταση	Νωπή τομάτα	Τοματοπολτός *
Νερό (g)	94,5	87,88
Ενέργεια (kcal)	18	38
Πρωτεΐνες (g)	0,88	1,65
Λίπος (g)	0,20	0,21
Υδατάνθρακες (g)	3,89	8,98
Διαιτητικές ίνες (g)	1,20	1,90
Σάκχαρα (g)	2,63	4,83

*Ο τοματοπολτός είναι επεξεργασμένος με απλή συμπύκνωση χωρίς προσθήκη αλατιού. (Η τιμή είναι ανά 100 g) Πηγή: USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 27, 28.

3.3 Ολικά στερεά

Η τομάτα αποτελείται από 4,5-8,5 % ολικά στερεά, εκ των οποίων το 1% αντιστοιχεί στο φλοιό και στους σπόρους. Ο Petro-Turza (1986) αναφέρει ότι τα ολικά στερεά του ώριμου καρπού της τομάτας κυμαίνονται μεταξύ 5,0 και 7,5 %. Το ποσοστό των ολικών στερεών της τομάτας μπορεί να διαφέρει αρκετά ανάλογα με την ποικιλία της τομάτας, το έδαφος και ιδιαίτερα με το ύψος βροχόπτωσης κατά την περίοδο της ανάπτυξης και της συγκομιδής .

Πίνακας 3.3.1: Η σύνθεση των ολικών στερεών του καρπού της τομάτας. (Gould,

2003)

Συστατικό	Ποσοστό %
Ολικά στερεά	4,5-8,5
Αδιάλυτα στερεά	0,5-1,5
Διαλυτά στερεά	4,0-7,0
Σάκχαρα	2,0-3,0
Οξέα	0,3-0,5
Διαλυτά αμινοξέα	0,8-1,2
Ανόργανα άλατα	0,3-0,6

3.4 Σάκχαρα

Τα ελεύθερα σάκχαρα είναι κυρίως αναγωγικά σάκχαρα, ενώ η συγκέντρωση της σακχαρόζης είναι αμελητέα. Τα αναγωγικά σάκχαρα, που αποτελούν το 50-65 % των διαλυτών στερεών της τομάτας, είναι η γλυκόζη και η φρουκτόζη. Τα σάκχαρα αυτά βρίσκονται σε ίσες περίπου ποσότητες, με επικρατέστερη την φρουκτόζη. (Gould, 2003). Συγκεκριμένα τα αναγωγικά σάκχαρα όπως η γλυκόζη και η σακχαρόζη αντιπροσωπεύουν το 50 % του ξηρού περιεχομένου του καρπού ενώ το υπόλοιπο είναι πρωτεΐνες, πηκτίνη, κυτταρίνες, ημικυτταρίνες, οργανικά οξέα, ανόργανες ουσίες, χρωστικές ουσίες, βιταμίνες και λιπίδια. (V.Preedy και R.Watson, 2008)

Στις πηκτίνες οφείλεται η χαρακτηριστική σαρκώδης υφή της τομάτας, οι πηκτίνες είναι πολυμερή του γαλακτουρονικού οξέος. Αρχικά από τον καρπό σχηματίζεται ένα αδιάλυτο συστατικό που ονομάζεται πρωτοπηκτίνη, το οποίο συνδέει τα κύτταρα μεταξύ τους. Καθώς ο καρπός ωριμάζει η πρωτοπηκτίνη μετατρέπεται σε πηκτίνη και η περαιτέρω ωρίμανση του καρπού της τομάτας έχει ως αποτέλεσμα την αποικοδόμησή της πηκτίνης σε διαλυτά συστατικά, με συνέπεια ο καρπός να γίνεται αρκετά μεγάλος. (Gould, 2003)

Πίνακας 3.4.1: Αναγωγικά σάκχαρα νωπής τομάτας και επεξεργασμένου τοματοπολτού.

Σάκχαρα	Νωπή τομάτα	Τοματοπολτός γσακχάρου/100g
Γλυκόζη	1,25	2,45
Φρουκτόζη	1,35	2,38

Πηγή :USDA National Nutrient Datadase for Standard Reference, Release 27.

3.5 Αμινοξέα

Στο φρέσκο χυμό της τομάτας υπάρχουν περίπου 19 διαλυτά αμινοξέα, τα σημαντικότερα φαίνονται στον Πίνακα 3.5.1. Το κυριότερο από αυτά είναι το γλουταμινικό οξύ και το αμέσως επόμενο το ασπαρτικό οξύ. Κατά την επεξεργασία του τοματοχυμού, η περιεκτικότητα σε ελεύθερα αμινοξέα μεταβάλλεται λόγω της αποικοδόμησης και μερικής υδρόλυσης των πρωτεϊνών. Η μεγαλύτερη αύξηση παρατηρείται στο γλουταμικό και στο ασπαρτικό οξύ, στην αλανίνη και στην φαινυλαλανίνη. (Miladi *et al*, 1969)

Πίνακας 3.5.1: Αμινοξέα νωπής τομάτας και τοματοπολτού. (Gould, 2003).

Αμινοξέα (g αμινοξέος/100g)	Νωπή τομάτα	Τοματοπολτός
Γλουταμινικό οξύ	0,431	0,658
Θρεονίνη	0,135	0,037
Λυσίνη	0,027	0,048
Φαινυλαλανίνη	0,027	0,034
Αλανίνη	0,027	0,052
Σερίνη	0,026	0,039
Λευκίνη	0,025	0,046

Γλοκίνη	0,019	0,027
Βαλίνη	0,018	0,033
Προλίνη	0,015	0,036
Τρυπτοφάνη	0,006	0,011
Κυστίνη	0,009	0,010

3.6 Οξέα

Επικρατέστερο οξύ στον καρπό της τομάτας είναι το κιτρικό οξύ, με αμέσως επόμενο το μηλικό οξύ. (Belitz *et al*, 2006) Η μέγιστη συγκέντρωση οργανικών οξέων έχει βρεθεί στο στάδιο της αλλαγής του χρώματος όπου τα οργανικά οξέα αποτελούν το 15 % της ξηρής ουσίας του καρπού ή 5,0-7,5 % του νωπού βάρους του. (Petro-Turza, 1986)

Στον επεξεργασμένο τοματοχυμό δεύτερο επικρατέστερο οξύ είναι το καρβοξυλικό οξύ της πυρρολίνης. Η επεξεργασία του τοματοχυμού έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ολικής οξύτητας στο τελικό προϊόν. Έχει αναφερθεί αύξηση της περιεκτικότητας σε οξικό οξύ κατά 32 % που αποδίδει στην οξείδωση αλδευδών και αλκοολών και την απομίνωση αμινοξέων του χυμού τομάτας κατά την επεξεργασία (Crean, 1996). Στον πίνακα παρουσιάζονται οι περιεκτικότητες σε οξέα του φρέσκου και επεξεργασμένου τοματοχυμού. Τα οξέα αποτελούν σημαντικό παράγοντα γεύσης της τομάτας, ενώ η ολική οξύτητα αποτελεί δείκτη ικανότητας επεξεργασίας των προϊόντων της . Η αναλογία σακχάρων προς οξέα στον καρπό είναι επίσης ένας σημαντικός παράγοντας. (Gould, 2003)

Πίνακας 3.6.1: Οξέα τοματοχυμού φρέσκου και επεξεργασμένου. (Gould, 2003)

Οξέα	Φρέσκου Τοματοχυμού(mg/ml)	Τοματοπολτού τοματοχυμού (mg/ml)
Κιτρικό	60,92	66,92
Μηλικό	3,72	5,39

Γαλακτικό	1,37	1,46
Ακετογλουταρικό	1,10	0,53
Οξικό	1,06	1,56

3.7 Ανόργανα στοιχεία

Τα μεταλλικά στοιχεία απαντώνται στη τομάτα σε ποσοστό που κυμαίνεται από 0,3 έως 0,6 %. Τα κυριότερα από αυτά είναι το κάλιο, το μαγνήσιο, ο φώσφορος, το ασβέστιο και το νάτριο (Belitz *et al*, 2006) και παίζουν δευτερεύοντα ρόλο στην ποιότητα των προϊόντων της τομάτας. (Gould, 2003) Στον Πίνακα 3.7.1 παρουσιάζονταν τα ανόργανα άλατα της νωπής τομάτας και του επεξεργασμένου τοματοπολτού σύμφωνα με τον USDA.

Πίνακας 3.7.1: Ανόργανα άλατα νωπής τομάτας και επεξεργασμένου τοματοπολτού.

Ανόργανα άλατα mg /100 g	Νωπή τομάτα	Τοματοπολτός
Ca	10	18
Mg	11	23
Fe	0,27	1,78
P	24	40
Na	5	28
K	237	439
Zn	0,17	0,36

Πηγή: USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 27, 28.

3.8 Λιπαρά συστατικά

Τα λιπαρά συστατικά αποτελούν το 0,2 % του συνολικού βάρους της τομάτας και απαντώνται κυρίως στους σπόρους, ενώ στον τοματοχυμό περιέχονται τα λιπόφιλα καροτενοειδή. (Belitz *et al*, 2006)

3.9 Καροτενοειδή στην τομάτα

Η τομάτα περιέχει το λυκοπένιο και μια σειρά καροτενοειδών όπως το φυτοένιο, το φυτοφλουένιο, το z-καροτένιο, το g-καροτένιο, το b-καροτένιο και τη λουτεΐνη. Τα καροτενοειδή όπως και το λυκοπένιο είναι εξαιρετικά λιπόφιλα και βρίσκονται κυρίως στις κυτταρικές μεμβράνες, συνεπώς η ικανότητα των καροτενοειδών να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες είναι μεγαλύτερη σε λιπόφυλο περιβάλλον. Η τομάτα περιέχει μεγάλη ποσότητα λυκοπενίου σε σχέση με άλλα λαχανικά. Η ποσότητα λυκοπενίου εξαρτάται από το χρόνο συγκομιδής, τη γεωγραφική θέση και το φυτικό γονότυπο.

Συγκεκριμένα οι τομάτες που εκτίθενται στο ηλιακό φως συνήθως έχουν χαμηλότερη περιεκτικότητα σε λυκοπένιο και αυτό έχει ως απόρροια να μην δημιουργηθεί το επιθυμητό χρώμα. Οι θερμοκρασίες μεταξύ 16-21 °C ευνοούν την σύνθεση του λυκοπενίου, ενώ οι θερμοκρασίες άνω των 30 °C αναστέλλουν τη σύνθεση του λυκοπενίου. Επιπλέον, το χρώμα της τομάτας οφείλεται στο λυκοπένιο και το κίτρινο χρώμα της τομάτας οφείλεται στο μείγμα του πρόδρομου λυκοπενίου όπως είναι το φυτοένιο ή φυτοφλουένιο. (V.Preedy και R.Watson, 2008) Το μεγαλύτερο μέρος του λυκοπενίου βρίσκεται στο αδιάλυτο και ινώδες μέρος της τομάτας καθώς και στο δέρμα της. (Khachik *et al*, 2002)

Το πράσινο χρώμα των μη ώριμων καρπών οφείλεται σε ένα μείγμα από χλωροφύλλες, τα επίπεδα των οποίων μειώνονται με την ωρίμανση του καρπού. Όταν ο καρπός αρχίζει να ωριμάζει παράγεται το κίτρινο χρώμα (β-καροτένιο) και μειώνεται η χλωροφύλλη. Στην συνέχεια υπάρχει και μία ραγδαία αύξηση στην συγκέντρωση του λυκοπενίου, το οποίο δίνει στον καρπό το κόκκινο χρώμα.

Επιπλέον, το χρώμα επηρεάζεται από την θερμοκρασία που επικρατεί στο περιβάλλον. (V.Preedy και R.Watson, 2008)

3.10 Βιταμίνες

Οι καρποί της τομάτας και τα προϊόντα της αποτελούν μία από τις κυριότερες πηγές βιταμίνης C (ασκορβικό οξύ) για τον άνθρωπο. Η μέση περιεκτικότητα ασκορβικού οξέος στον καρπό της τομάτας είναι 23 mg ανά 100 g νωπού βάρους. Η τομάτα αποτελεί επίσης σημαντική πηγή βιταμίνης A, η οποία απαντάται με την μορφή καροτενίου και βιταμινών του συμπλέγματος B (Gould, 2003). Οι βιταμίνες αν και βρίσκονται σε μικρές ποσότητες, είναι απαραίτητες ουσίες για τον μεταβολισμό του οργανισμού καθώς προστατεύουν τον οργανισμό από βλαβερές ουσίες. Επιπλέον, οι τομάτες περιέχουν ένα σύμπλεγμα βιταμινών B σε μικτότερες ποσότητες όπως είναι η B1 (θειαμίνη), B2 (ριβοφλαβίνη), B3(παντοθενικό οξύ), B6 (νιασίνη) και το φολικό οξύ.

3.11 Αντιοξειδωτική ικανότητα τομάτας

Η κατανάλωση της τομάτας συνεισφέρει στην υγεία και στην πρόληψη από χρόνιες παθήσεις. Αυτό είναι αποτέλεσμα των αντιοξειδωτικών ενώσεων όπως καροτενοειδή, ασκορβικό οξύ, τοκοφερόλες, πολυφαινόλες οι οποίες μειώνουν την οξειδωτική βλάβη στο ανθρώπινο σώμα. Επιδημιολογικές μελέτες που συγκρίνουν

πληθυσμούς με διαφορετικές διατροφικές συνήθειες, δείχνουν μια σαφή μείωση των χρόνιων ασθενειών όταν οι πληθυσμοί καταναλώνουν σε τακτά χρονικά διαστήματα τομάτα είτε σε φρέσκια είτε σε επεξεργασμένη μορφή.

Σύμφωνα με ένα επιστημονικό πείραμα που πραγματοποιήθηκε, δείγματα σάλιου συλλέχθηκαν πριν και μετά την κατανάλωση προϊόντος που αποτελούταν από χυμό τομάτας και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι αυξανόταν η αντικαρκινική ιδιότητα του σάλιου μετά την κατανάλωση χυμού τομάτας. Επίσης, αυτές οι αντικαρκινικές ιδιότητες μπορούν να διατηρηθούν μόνο με την τακτική κατανάλωση χυμού τομάτας. (V.Preedy και R.Watson, 2008)

4. ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ

Το τελευταίο χρονικό διάστημα τα αντιοξειδωτικά έχουν γίνει θέμα μεγάλου ενδιαφέροντος. Σύμφωνα με μία μελέτη που πραγματοποιήθηκε το οξειδωτικό στρες αυξήθηκε ραγδαία την τελευταία δεκαετία, γι αυτό το λόγο οι ερευνητές προσπαθούν να βρουν τρόφιμα με αντιοξειδωτική ικανότητα. Το μεγαλύτερο πρόβλημα είναι ότι

υπάρχουν αρκετές μέθοδοι για την μέτρηση των αντιοξειδωτικών στα τρόφιμα αλλά δεν είναι αξιόπιστα, πιθανότητα αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα αντιοξειδωτικά είναι αρκετά πολύπλοκη υπόθεση. (Dejian Huang *et al*, 2005)

Επίσης, η ολική αντιοξειδωτική ενεργότητα των τροφίμων είναι σημαντικό ζήτημα για τους επιστήμονες και τους ερευνητές που ασχολούνται με τους τομείς της υγείας και της διατροφής. Λόγο τις πολυπλοκότητας των μηχανισμών δράσεως των αντιοξειδωτικών ο διαχωρισμός και η μεμονωμένη μελέτη του κάθε αντιοξειδωτικού είναι χρονοβόρα, συνήθως είναι αρκετά δαπανηρή και υπάρχει ένα ποσοστό αποκλίσεων καθώς οι χημικές ουσίες των τροφίμων αντιδρούν διαφορετικά σε κάθε μέθοδο. Είναι αρκετά πολύπλοκη η διαδικασία εύρεσης σωστής μεθόδου για την μελέτη και την ανάλυση των αντιοξειδωτικών.

Παρόλα αυτά υπάρχουν βασικοί άξονες πάνω στους οποίους κινούνται ένα μεγάλο εύρος μεθόδων. Συγκεκριμένα, είναι χρήσιμο να επιλεγθεί το κατάλληλο υπόστρωμα οξειδωτικών συνθηκών όπως η σωστή επιλογή pH και διαλυτών, η μέτρηση των πρωτογενών και δευτερογενών προϊόντων της οξείδωσης, η σύγκριση αντιοξειδωτικών στις ίδιες μοριακές συγκεντρώσεις με τα ενεργά συστατικά. Η ποσοτικοποίηση να γίνεται με βάση τον ρυθμό σχηματισμού ή την αποσύνθεση ενός προϊόντος. (Re, 1999)

Οι μέθοδοι μέτρησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας χωρίζονται σε δυο κατηγορίες,

Στις μεθόδους που βασίζονται σε **αντιδράσεις μεταφοράς ατόμου υδρογόνου**,

(Hydrogen atom transfer reaction based assays, HAT)

³⁵₁₇ ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

Στις μεθόδους που βασίζονται σε **αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίου** (single electron transfer reaction based assays, ET)

³⁵₁₇ DPPH (diphenyl-1-picrylhydrazyl) όπου θεωρείται ότι βασίζεται κυρίως σε ET αντιδράσεις .

³⁵₁₇ FRAP (ferric reducing antioxidant parameter) Όπου βασίζεται σε ET αντιδράσεις

³⁵₁₇ ABTS Όπου βασίζεται σε ET αντιδράσεις

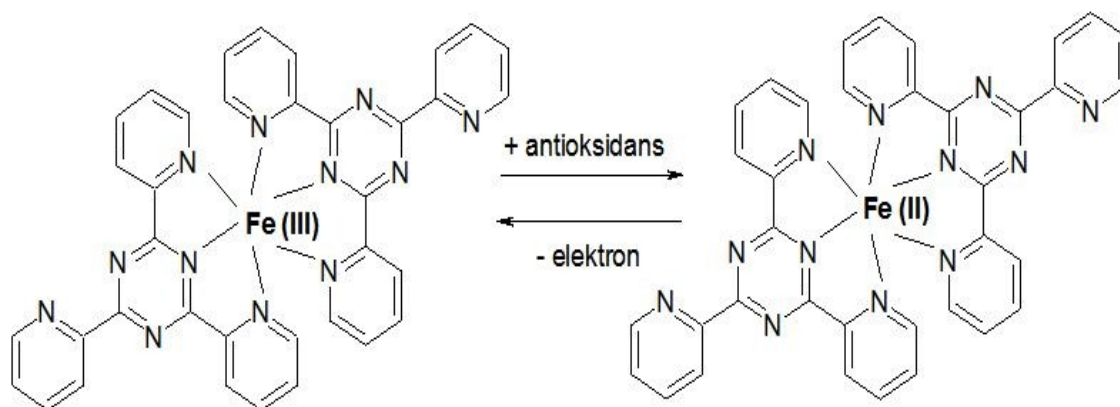
Η μέθοδος μετρήσεις συγκέντρωσης ολικών πολυφαινολών που θα αναλυθεί είναι:

³⁵/₁₇ Folin Ciocalteu. (Prior *et al*, 2005)

4.1 Μέθοδος FRAP

Στόχος της μεθόδου FRAP είναι ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων, η οποία καθορίζεται από την ικανότητα αναγωγής του συμπλόκου σιδήρου Fe₃⁺-TPTZ (2,4,6-Tri-(2-Pirydil)-s-triazine. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται αποκλειστικά στην ικανότητα του προς εξέταση δείγματος να μεταφέρει ένα μονήρες ηλεκτρόνιο για την αναγωγή του συμπλόκου του τρισθενούς σιδήρου με 2,4,6-τρι-(2-πυριδυλ-)-τριαζίνη (Fe₃⁺ - TPTZ) σε δισθενή σίδηρο (Fe₂⁺ - TPTZ) με έντονο μπλε χρώμα το οποίο εμφανίζει απορρόφηση στα 593 nm. Η αντίδραση διεξάγεται σε pH = 3,6 για τη διατήρηση της διαλυτότητας του σιδήρου στο διαλύτη. Η μέτρηση της διαφοράς της απορρόφησης μετά από κάποιο χρόνο δείχνει την ικανότητα αναγωγής του συμπλόκου, άρα και την αντιοξειδωτική ικανότητα του δείγματος. (Benzie και Strain, 1996)

Η μέθοδος FRAP δεν μετρά τα αντιοξειδωτικά της θειόλης, όπως η γλουταθειόνη. Μετρά στην πραγματικότητα μόνο την αναγωγική ικανότητα με βάση το ιόν τρισθενούς σιδήρου, η οποία δεν είναι σχετική με αντιοξειδωτική δράση. Ωστόσο, σε αντίθεση με άλλες δοκιμές ολικής αντιοξειδωτικής δύναμης, η μέθοδος FRAP είναι απλή, γρήγορη, φθηνή, και δεν απαιτεί εξειδικευμένο εξοπλισμό (Prior *et al*, 2005)

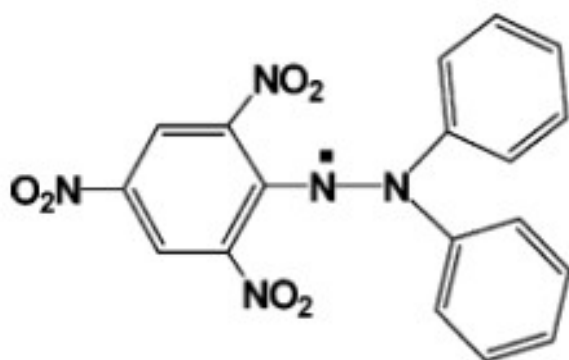


Σχήμα 4.1.1: Αναγωγή του συμπλόκου Fe_3^+ - TPTZ σε Fe_2^+ - TPTZ παρουσία αντιοξειδωτικού. (Prior *et al*, 2005)

4.2 Μέθοδος DPPH

Από τις πλέον διαδεδομένες μεθόδους εκτίμησης της αντιοξειδωτικής δράσης είναι η δοκιμή δέσμευσης της DPPH, δηλαδή της ιώδους ρίζας του 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλυδραζυλίου (DPPH). (Bondet, 1997) Το DPPH είναι μια σταθερή ρίζα μωβ χρώματος που όταν έρθει σε επαφή με φαινολικές ενώσεις ανάγεται και παίρνει κίτρινο χρώμα. Η αλλαγή χρώματος μετράται με ένα φασματοφωτόμετρο στα 517nm όπου παρατηρείται το μέγιστο του φάσματος του μορίου της ρίζας. Στη μέθοδο αυτή ο αποχρωματισμός μπορεί να συμβαίνει είτε μέσω μιας αντίδρασης μεταφοράς ατόμου υδρογόνου ή μέσω μεταφοράς ηλεκτρονίου, και γι αυτό το λόγο ανήκει και στις δυο κατηγορίες. (Prioretal, 2005) Το DPPH (diphenyl-1-picrylhydrazyl) αποτελεί μία από τις λίγες σταθερές και εμπορικά διαθέσιμες οργανικές ρίζες αζώτου. Η ρίζα αυτή δε διαμερίζεται και ενώ δέχεται πολύ εύκολα μονήρη ηλεκτρόνια ή άτομα υδρογόνου, οξειδώνεται πολύ δύσκολα. (Bondet, 1997)

Η μέθοδος DPPH είναι τεχνικά απλή αλλά παρουσιάζει μερικά μειονεκτήματα που περιορίζουν τη χρήση της. Το DPPH αποτελεί μία πολύ σταθερή ρίζα αζώτου, που δεν δείχνει όμως ομοιότητα με τις πολύ ενεργές υπεροξυ-ρίζες που παίρνουν μέρος στην λιπιδική υπεροξείδωση. Πολλά αντιοξειδωτικά που θα αντιδρούσαν γρήγορα με υπεροξυ- ρίζες, αντιδρούν αργά ή καθόλου με το DPPH. Αυτό εκφράζεται με τις τιμές του TIC50 που κυμαίνονται μεταξύ 1,15 min για το ασκορβικό οξύ και 103 min για την ρουτίνη (rutin). Η μέθοδος είναι εύκολη, ακριβής, ευαίσθητη και οικονομική καθώς η ρίζα είναι σταθερή και δεν χρειάζεται να παραχθεί όπως σε άλλες δοκιμές. Οι περιορισμοί της μεθόδου απορρέουν από το γεγονός ότι η ρίζα είναι αδιάλυτη στο νερό. (Arnao *et al.*, 1999)



Σχήμα 4.2.1: Δομή της 2,2-διφαινυλ-1-πικρυλυδραζύλιο (DPPH). (Prior *et al*, 2005)

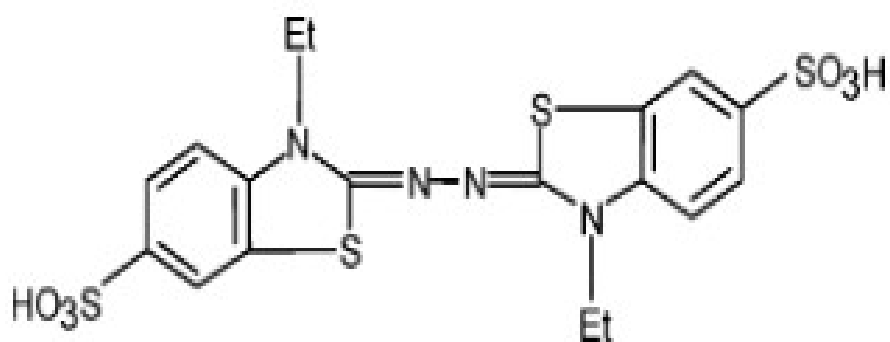
4.3 Μέθοδος Folin Ciocalteu

Η μέθοδος FOLIN αρχικά προοριζόταν για την ανάλυση των πρωτεϊνών αλλά αργότερα επεκτάθηκε για την ανάλυση της συνολικής φαινολικής περιεκτικότητας. Αυτή η μέθοδος είναι ευαίσθητη, ποσοτική και σχετικά ανεξάρτητη του βαθμού πολυμερισμού των φαινολών. Ο προσδιορισμός των ολικών φαινολικών συστατικών πραγματοποιείται με την μέθοδο FOLIN (Spanos και Wroltstand, 1990) Η μέθοδος αυτή περιγράφει τον ποσοτικό προσδιορισμό των συνολικών φαινολικών συστατικών. Τα ολικά φαινολικά προσδιορίζονται με τη βοήθεια φασματομέτρου υπεριόδου-ορατού (UV-vis) διπλής δέσμης, με το οποίο γίνεται μέτρηση της απορρόφησης στα 765nm. Η μέθοδος βασίζεται στην αναγωγή διαλύματος φωσφορομολυβδένικου/φωσφοροβολφραμικογαινολικό σύμπλοκο, μπλε-πράσινου χρώματος σε αλκαλικό περιβάλλον. (Sanchez-Moreno, 2002)

4.4 Μέθοδος ABTS

Η δοκιμή ABTS είναι πιθανώς η επικρατέστερη και συχνότερα χρησιμοποιούμενη μεταξύ δοκιμών για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας στα τρόφιμα. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στον έλεγχο του αποχρωματισμού του ριζικού κατιόντος ABTS⁺ που παράγεται από την οξείδωση του

αντιδραστηρίου 2,2'azinobis-(3-ethylbenzothiaziline-6-sulfonate) (ABTS). Η οξείδωση προκαλείται από την προσθήκη ενός χημικού οξειδωτικού παράγοντα. (πχ. $K_2S_2O_8$) Το $ABTS^{+}$ παρουσιάζει μια ισχυρή απορρόφηση στα 600-750nm και μπορεί να καθοριστεί εύκολα φασματοφωτομετρικά. Ελλείψει φαινολικών ουσιών, το $ABTS^{+}$ είναι σταθερό, αλλά όταν αντιδρά με ένα δότη ατόμων, όπως οι φαινολικές ουσίες, μετατρέπεται σε άχρωμη μορφή, η οποία προσδιορίζεται φασματοφωτομετρικά. Επομένως, όταν η συγκέντρωση των φαινολικών ουσιών είναι μεγαλύτερη η μη χρωματισμένη μορφή του $ABTS^{+}$ θα είναι πιο έντονη, δηλαδή θα έχουμε πιο έντονο αποχρωματισμό. Η ποσότητα του $ABTS^{+}$ που καταναλώνεται λόγω της αντίδρασης με τις φαινολικές ουσίες εκφράζεται σε ισοδύναμα Trolox (μονάδες συγκέντρωσης) ή και σε ισοδύναμα Γαλλικού Οξέος και εκφράζει την αντιοξειδωτική ικανότητα του δείγματος. (Villano *et al*, 2004)



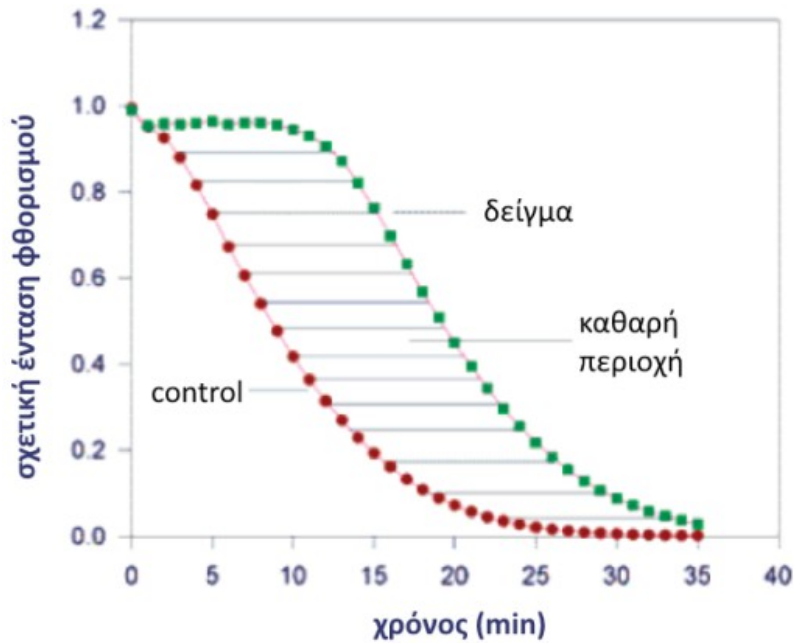
Σχήμα 4.4.1: Δομή της (3-αιθυλβενζοθειαζολινο-6-σουλφονικό οξύ) (ABTS). (Prioretal, 2005)

4.5 Μέθοδος ORAC

Μια από τις πιο τυποποιημένες μεθόδους για τον προσδιορισμό των αντιοξειδωτικών είναι η μέθοδος ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) βασίζεται στην εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών (ROS) με την βοήθεια θέρμανσης και του AAPH (2,2'-azobis-(2-amidino-propane)dihydrochloride) που είναι ελεύθερες ρίζες αζώτου, η αντίδραση επιτυγχάνεται με την ύπαρξη ενός φθοροσμομετρικού δείκτη. 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 την χρήση φθορισμόμετρου. (Huang *et al*, 2002)

Οι φθορίζουσες ουσίες που χρησιμοποιούνται περισσότερο είναι οι βήτα-φυκοερυθρίνη, φλουορεσκεΐνη και πυρογαλλόλη και διαφέρουν σε σταθερότητα και δραστηριότητα. Τα αντιοξειδωτικά συναγωνίζονται με το υπόστρωμα για τις ρίζες και εμποδίζουν ή επιβραδύνουν την οξείδωση του υποστρώματος. (Prior *et al*, 2005)

Η μέθοδος μετρά την αντιοξειδωτική δράση απομάκρυνσης έναντι της υπεροξυλικής ρίζας, που προκαλείται από 2,2'-αζωδισ-(2-αμιδινο-προπάνιο) διυδρογλωρίδιο (AAPH), στους 37 ° C. Συνήθως η χρονική υστέρηση στην απώλεια του φθορισμού που προκαλείται από τα αντιοξειδωτικά συγκρίνεται με αυτή ενός διαλύματος control που δεν περιέχει αντιοξειδωτικά. Το εμβαδόν της καθαρής περιοχής είναι ανάλογο της αντιοξειδωτικής ενεργότητας του δείγματος. (Thairong *et al.*, 2006)

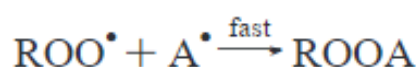
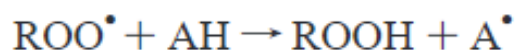
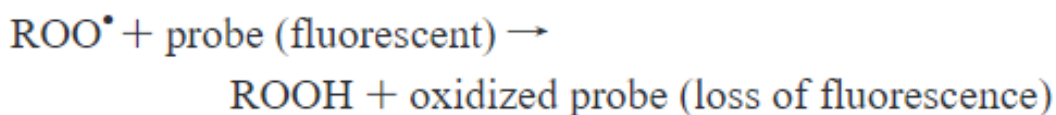
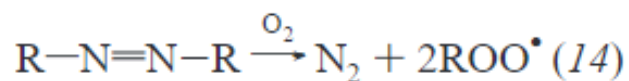


Σχήμα 4.5.1: Το διάγραμμα απεικονίζει την μέθοδο ORAC, όπου η αντιοξειδωτική δράση του δείγματος εκφράζει το καθαρό εμβαδόν κάτω από την καμπύλη.

Η δοκιμασία ORAC έχει προσαρμοστεί για να μετρά λιπόφιλα και υδρόφιλα αντιοξειδωτικά με την βοήθεια των εκχυλίσεων. Η δοκιμασία ORAC παρέχει αντιδράσεις με ελεγχόμενης πηγής υπερόξυ ριζών των αντιοξειδωτικών με λιπίδια τόσο τροφίμων όσο και φυσιολογικών συστημάτων, και μπορεί να προσαρμοστεί για την ανιχνεύσει τόσο των υδρόφιλων όσο και των υδρόφοβων αντιοξειδωτικών, μεταβάλλοντας τη πηγή και το διαλύτη.

Επειδή η αντίδραση ORAC είναι ευαίσθητη στην θερμοκρασία, είναι απαραίτητος ο στενός έλεγχος της θερμοκρασίας σε όλη την διάρκεια του πειράματος, αν μειωθεί η θερμοκρασία θα έχουμε λανθασμένο αποτέλεσμα. Αρχικά γίνεται επώαση του ρυθμιστικού διαλύματος της αντίδρασης στους 37 ° C πριν από την χρήση, ώστε να διαλυθεί και να μειωθεί η μεταβλητότητα της ενδο-δοκιμασίας. Επίσης, η ένταση του φθορισμού (485-525nm) μετράται για 35 λεπτά σε pH=7,4 και στους 37°C. Μικρές διαφορές θερμοκρασίας στις εξωτερικά της μικροπλάκας μπορεί να μειώσουν την αναπαραγωγικότητα της δοκιμασίας. Κάποιες βιομηχανίες τροφίμων έχουν αποδεχθεί την μέθοδο και προσθέτουν τα αποτελέσματα της ORAC στις ετικέτες τροφίμων.

Ο μηχανισμός της μεθόδου ORAC είναι :



Σχήμα 4.5.2: Μηχανισμός της μεθόδου ORAC.

Η δοκιμασία ORAC ακολουθεί την αντίδραση για εκτεταμένες περιόδους, για παράδειγμα, 30 min. Υπολογισμός των προστατευτικών αποτελεσμάτων ενός αντιοξειδωτικού (AOX) είναι από τις καθαρές ολοκληρωμένες περιοχές που βρίσκονται υπό τον φθορισμό. Οι τιμές ORAC που συνήθως αναφέρεται ως ισοδύναμα Trolox. Η μέθοδος βαθμονομείται κατασκευάζοντας μία πρότυπη καμπύλη από το εμβαδόν της καθαρής περιοχής για πέντε πρότυπα Trolox, και τα ισοδύναμα Trolox του δείγματος υπολογίζεται με τον ακόλουθο γραμμικό ή τετραγωνική σχέσεις $(Y) = a + bX$. (Prior, 2005)

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5. Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με χρήση της μεθόδου ORAC

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητα εκχυλισμάτων ντομάτας πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο ORAC. Όλες οι μετρήσεις επαναλήφθηκαν τρεις φορές και τα αποτελέσματα αυτών εκφράζονται σε mg Trolox/ 100 g ντομάτας . Για να πραγματοποιηθεί η απομόνωση των αντιοξειδωτικών απαραίτητη η εκχύλιση του δείγματος.

5.1 Υδρόφιλη Εκχύλιση

Διαδικασία

Αρχικά ζυγίζουμε 2,00 ~~93~~²³⁸ g δείγματος τομάτας. Τα δείγμα τομάτας είναι μια συγκεκριμένη ποικιλία τομάτας πολτοποιημένη σε στάδιο ωρίμανσης Red Ripe ή Breaker.

Στην συνέχεια προστίθενται

³⁵/₁₇ 10ml νερό και ομογενοποιούνται με την βοήθεια vortex για δύο λεπτά,

³⁵/₁₇ φυγοκεντρείται για 10 min σε στροφές 6000 rpm και

³⁵/₁₇ το υγρό φυλάσσεται στην κατάψυξη

³⁵/₁₇ Σε όλη την διαδικασία του πειράματος τα φιαλίδια βρίσκονται σε σκοτεινό μέρος.

5.2 Λιπόφιλη Εκχύλιση

Διαδικασία

³⁵₁₇ Σε 2 g τομάτας προστίθενται 2,5 ml μεθανόλη (100% μεθανόλη) και ανάδευση με Vortex για 30 sec

³⁵₁₇ Μετά προστίθενται 2 ml Tris pH 7,5 και Vortex για 30 sec

³⁵₁₇ Αφήνεται ήρεμο 5 min σε σκοτάδι

³⁵₁₇ Μετά προστίθενται 2 ml χλωροφόρμιο (chloroform) και αναδεύεται σε Vortex 1 min

³⁵₁₇ Έπειτα φυγοκεντρείται για 10 min

³⁵₁₇ Διαχωρίζονται οι δύο στοιβάδες

³⁵₁₇ Η στοιβάδα του χλωροφορμίου μεταφέρεται σε σφαιρική φιάλη και συμπυκνώνεται υπό κενό σε rotary evaporator

³⁵₁₇ Στο υπόλειμμα που θα μείνει διαλύεται 2ml ακετόνη και 8 ml ισοπροπανόλη ενδιάμεσα χρησιμοποιούμε Vortex στα φιαλίδια ώστε να συλλέξουμε όλα τα αντιοξειδωτικές ουσίες (πχ καροτενοειδή, λυκοπένιο) που έχουν μείνει στα τοιχώματα.

³⁵₁₇ Σε όλη την διαδικασία του πειράματος τα φιαλίδια βρίσκονται σε σκοτεινό μέρος.

5.3 Παρασκευή διαλυμάτων

Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών pH =7,4 75Mm

0,66 g monosodium phosphate dehydrate $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (MB=156) και 2,57 g disodium phosphate dihydrate $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (MB=178) τοποθετούνται σε ποτήρι ζέσεως 250ml ή μεγαλύτερο μαζί με μαγνήτη ανάδευσης και προστίθενται περίπου

200 ml νερό. Αναδεύεται μέχρι να διαλυθούν τα στερεά.

Ρύθμιση pH στο 7,4

Μετρίεται το pH με pHμετρο. Προστίθενται με ανάδευση σταγόνες πυκνού HCL ή πυκνού NaOH (φτιάχνεται με διάλυση 6-7 κόκκων NaOH σε 5-6 ml νερό) μέχρι το pH να γίνει 7,4 (έξοδος κατά την μέτρηση σταματά η ανάδευση). Όταν ρυθμιστεί το pH το διάλυμα μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη 250 ml και προστίθεται νερό μέχρι την χαραγή.

Διάλυμα AAPH (2,2'-azobis-(2-amidino-propane)dihydrochloride) 515mM 0.6983 g

AAPH (MB 271.19) τοποθετούνται σε ογκομετρική των 5 ml και προστίθεται μέχρι την χαραγή ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (με pH=7,4 75mM). Στην συνέχεια αποθηκεύεται στην κατάψυξη και στο σκοτάδι

Διάλυμα Fluorescein 6.30×10^{-8} M

0.0021 g Fluorescein (332,31) τοποθετούνται σε ογκομετρική των 100 ml και προστίθενται μέχρι την χαραγή ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (με pH =7.4 75mM)

Από τα παραπάνω διάλυμα Fluorescein λαμβάνονται με αυτόματη πιπέτα 0,1 ml και τοποθετούνται σε ογκομετρική των 100 ml και προστίθενται μέχρι την χαραγή ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (με pH=7,4 75 mM). Το διάλυμα αυτό έχει συγκέντρωση **6.30×10^{-8} M.**

Πρότυπα διαλύματα Trolox

1000 μ M : 0,0025 g Trolox τοποθετούνται σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml και προστίθενται μέχρι την χαραγή ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (με pH=7,4 75 mM)

100 μ M : Λαμβάνεται 1ml από το διάλυμα των 1000 μ M τοποθετείται σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml συμπληρώνεται μέχρι την χαραγή με ρυθμιστικό

διάλυμα φωσφορικών (με pH=7,4 75 mM)

50 μM : Λαμβάνονται 5ml από το διάλυμα των 100 μM τοποθετείται σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml συμπληρώνεται μέχρι την χαραγή με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (με pH=7,4 75mM)

25 μM : Λαμβάνονται 5 ml από το διάλυμα των 50 μM τοποθετείται σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml συμπληρώνεται μέχρι την χαραγή με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (με pH=7,4 75 mM)

12,5 μM : Λαμβάνονται 5 ml από το διάλυμα των 25 μM τοποθετείται σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml συμπληρώνεται μέχρι την χαραγή με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (με pH=7,4 75 mM)

6,255 μM : Λαμβάνονται 5 ml από το διάλυμα των 12,5 μM τοποθετείται σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml συμπληρώνεται μέχρι την χαραγή με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (με pH=7,4 75 mM)

5.4 Διαδικασία

Αρχικά, πριν ξεκινήσει η διαδικασία ανοίγεται το υδατόλουτρο στου 37 °C για 10 λεπτά έτσι ώστε να σταθεροποιηθεί η θερμοκρασία στο φθοροσίμετρο. Πριν αρχίσει η διαδικασία ρυθμίζεται το φθοροσίμετρο και τοποθετείται η κυψελίδα στην υποδοχή για να θερμοστατείται.

A) Μέτρηση δείγματος για Υδρόφιλες εκχυλίσσεις

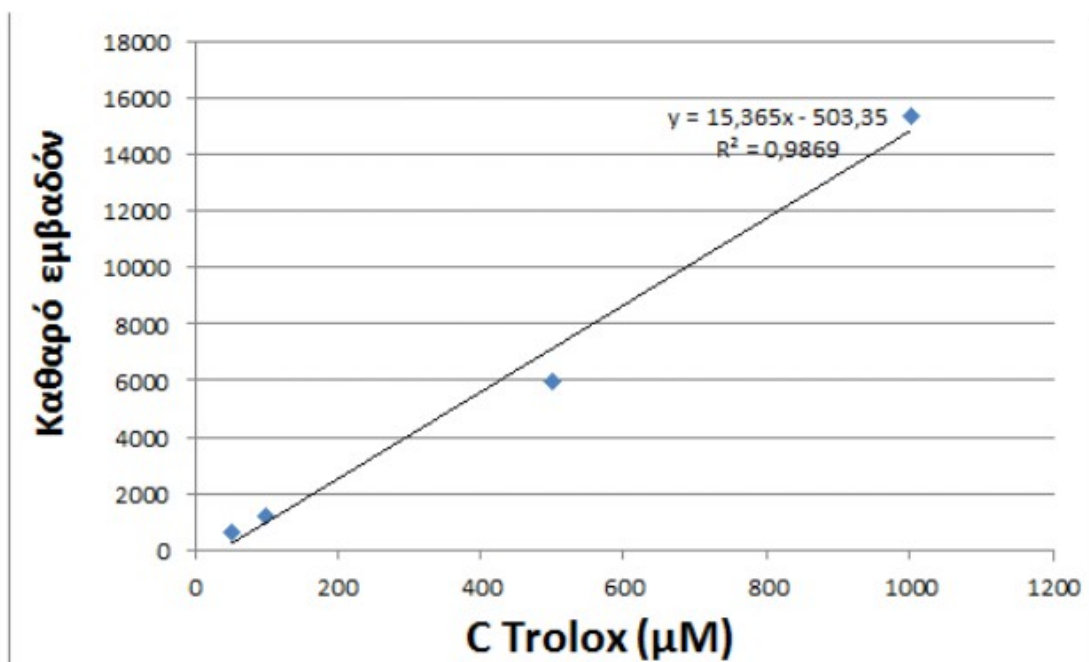
1. Αναμιγνύονται 1700 μl διαλύματος Fluorescein με 40 μl δείγματος (ή 40 μl Trolox). Ανάδευση με Vortex και το μίγμα τοποθετείται σε υδατόλουτρο στους 37 °C για 15 min.
2. Στο μείγμα προστίθενται διαλύματα 220 μl διαλύματος AAPH και αναδεύεται με Vortex.
3. Το μίγμα τοποθετείται στο υδατόλουτρο για 30 sec

4. Αμέσως μεταφέρεται στην κυψελίδα και αρχίζει η μέτρηση.

B) Μέτρηση τυφλού

1. Αναμιγνύονται 1700μl διαλύματος Fluorescein με 40 μl ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (ή 40 μl Trolox). Ανάδευση με Vortex και το μίγμα τοποθετείται σε υδατόλουτρο στους 37°C για 15 min.
2. Στο μίγμα προστίθενται διαλύματα 220 μl διαλύματος AAPH και αναδεύεται με Vortex.
3. Το μίγμα τοποθετείται στο υδατόλουτρο για 30 sec
4. Αμέσως μεταφέρεται στην κυψελίδα και αρχίζει η μέτρηση.

6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ






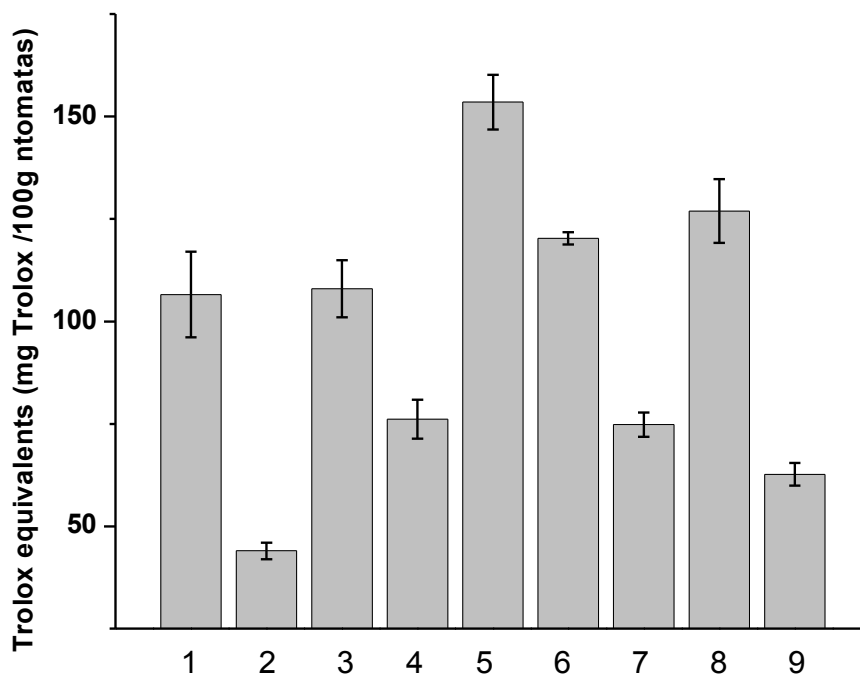
Σχήμα 6: Πρότυπη καμπύλη της μεθόδου ORAC.

6.1 Υδρόφιλες εκχυλίσσεις

Πίνακας 6.1: Αντιοξειδωτικά ικανότητα υδρόφιλων εκχυλισμάτων στα δύο στάδια ωρίμανσης φυτού.

Ποικιλία ντομάτας / στάδιο ωρίμανσης	Ισοδύναμα Trolox (mg / 100 g ντομάτας)
ΕΛΠΙΔΑ RED RIPE	106,55 $\frac{238}{93}$ \rightarrow \rightarrow \rightarrow
ΕΛΠΙΔΑ BREAKER	43,98 $\frac{238}{93}$ \rightarrow \rightarrow \rightarrow

ΚΟΝΤΗ ΚΥΘΗΡΩΝ	RED RIPE	107,99 $\frac{238}{93}$ 
ΚΟΝΤΗ ΚΥΘΗΡΩΝ	BREAKER	76,13 $\frac{238}{93}$ 
ΛΕΙΑ ΣΑΝΤΟΡΙΝΗΣ	RED RIPE	153,49 $\frac{238}{93}$ 
ΜΑΚΡΙΑ ΚΙΘΥΡΩΝ	RED RIPE	120,27 $\frac{238}{93}$ 
ΜΑΚΡΙΑ ΚΙΘΥΡΩΝ	BREAKER	74,80 $\frac{238}{93}$ 
ΧΟΝΤΡΟΚΑΤΣΑΡΗ	RED RIPE	126,94 $\frac{238}{93}$ 
ΧΟΝΤΡΟΚΑΤΣΑΡΗ	BREAKER	62,68 $\frac{238}{93}$ 



Σχήμα 6.1: 1 Ελίδα Red Ripe, 2 Ελίδα Breaker, 3 Κοντή Κυθήρων Red Ripe, 4 Κοντή Κυθήρων Breaker, 5 Λεία Σαντορίνης Red Ripe, 6 Μακριά Κυθήρων Red Ripe, 7 Μακριά Κυθήρων Breaker, 8 Χοντροκάτσαρη Red Ripe, 9 Χοντροκάτσαρη Breaker

Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση ANOVA υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά (για επίπεδο σημαντικότητας 0,05) μεταξύ της Ελίδας Red Ripe και της Ελίδας Breaker ως προς την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, καθώς η Ελίδα Red Ripe είναι σχεδόν διπλάσια από την Ελίδα Breaker.

Η Κοντή Κυθήρων Red Ripe έχει στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την Κοντή Κυθήρων Breaker.

Η Λεία Σαντορίνη Red Ripe έχει την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σχέση με τις υπόλοιπες ποικιλίες τομάτες.

Η Μακριά Κυθήρων Red Ripe έχει στατιστικά σημαντική διαφορά με την Μακριά Κυθήρων Breaker.

Τέλος η Χοντροκάτσαρη Red Ripe έχει μεγάλη διαφορά ως προς την αντιοξειδωτική



ικανότητα σε σχέση με την Χοντροκάτσαρη Breaker.

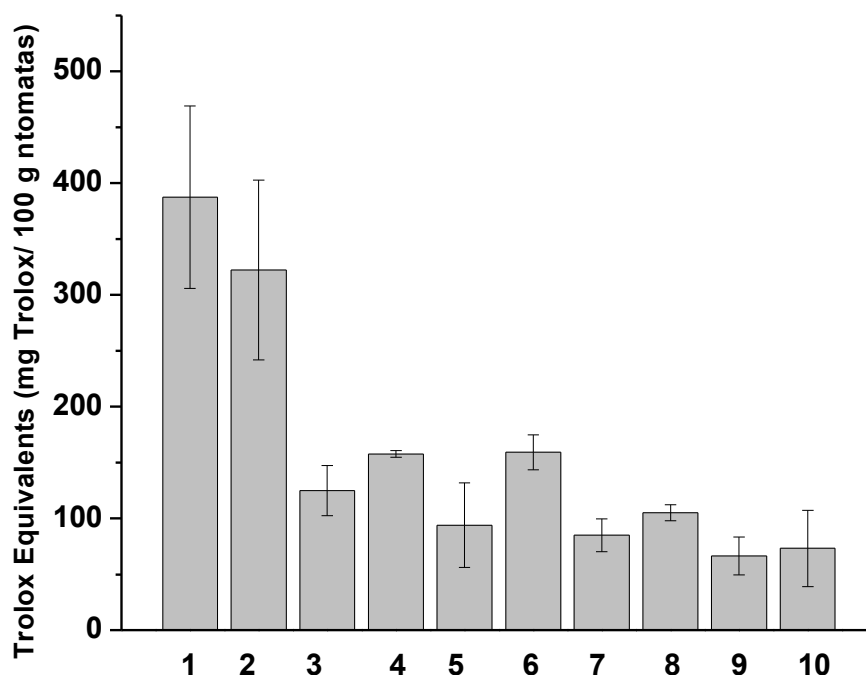
Σύμφωνα με το διάγραμμα παρατηρούμε ότι οι τομάτες που βρίσκονται στο στάδιο Red Ripe έχουν στατιστικά μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τις τομάτες που βρίσκονται στο στάδιο Breaker.

6.2 Λιπόφιλες εκχυλίσσεις

Πίνακας 6.2: Αντιοξειδωτικά ικανότητα λιπόφιλων εκχυλισμάτων στα δυο στάδια ωρίμανσης του φυτού.

Ποικιλία ντομάτας / στάδιο ωρίμανσης	Ισοδύναμα Trolox (mg / 100 g ντομάτας)
ΕΛΠΙΔΑ RED RIPE	387,51 $\frac{238}{93}$
ΕΛΠΙΔΑ BREAKER	322,28 $\frac{238}{93}$
ΚΟΝΤΗ ΚΥΘΗΡΩΝ RED RIPE	125,01 $\frac{238}{93}$
ΚΟΝΤΗ ΚΥΘΗΡΩΝ BREAKER	157,60 $\frac{238}{93}$
ΜΑΚΡΙΑ ΚΙΘΥΡΩΝ RED RIPE	94,11 $\frac{238}{93}$
ΜΑΚΡΙΑ ΚΙΘΥΡΩΝ BREAKER	159,13 $\frac{238}{93}$
ΧΟΝΤΡΟΚΑΤΣΑΡΗ RED RIPE	84,92 $\frac{238}{93}$
ΧΟΝΤΡΟΚΑΤΣΑΡΗ BREAKER	105,13 $\frac{238}{93}$

ΚΑΤΣΑΡΗ ΣΑΝΤΟΡΙΝΗΣ RED RIFE	66,53 $\frac{238}{93}$ 
ΚΑΤΣΑΡΗ ΣΑΝΤΟΡΙΝΗΣ BREAKER	73,16 $\frac{238}{93}$ 



Σχήμα 6.2: 1 Ελίδα Red Ripe, 2 Ελίδα Breaker, 3 Κοντή Κυθήρων Red Ripe, 4 Κοντή Κυθήρων Breaker, 5 Μακριά Κυθήρων Red Ripe, 6 Μακριά Κυθήρων Breaker, 7 Χοντροκάτσαρη Red Ripe, 8 Χοντροκάτσαρη Breaker, 9 Κατσαρή Σαντορίνης Red Ripe, 10 Κατσαρή Σαντορίνης Breaker.

Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση ANOVA δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά (για επίπεδο σημαντικότητας 0,05) μεταξύ της Ελίδας Red Ripe και της Ελίδας Breaker ως προς την αντιοξειδωτική τους ικανότητα.

Η Κοντή Κυθήρων Red Ripe έχει στατιστικά σημαντική διαφορά με την Κοντή Κυθήρων Breaker.

Η Μακριά Κυθήρων Red Ripe έχει στατιστικά σημαντική διαφορά με την Μακριά Κυθήρων Breaker, με αποτέλεσμα και τα δύο στάδια ωρίμανσης της συγκεκριμένης ποικιλίας να έχουν μικρή διαφορά όσον αφορά την αντιοξειδωτική ικανότητα των λιπόφιλων εκχυλισμάτων.

Η Χοντροκάτσαρη Red Ripe δεν έχει στατιστικά σημαντική διαφορά με την Χοντροκάτσαρη Breaker με αποτέλεσμα και τα δύο στάδια ωρίμανσης της συγκεκριμένης ποικιλίας να έχουν μικρή διαφορά όσον αφορά την αντιοξειδωτική ικανότητα των λιπόφιλων εκχυλισμάτων.

Η Κατσαρή Σαντορίνης Red Ripe δεν έχει στατιστικά σημαντική διαφορά με την Κατσαρή Σαντορίνης Breaker, αυτό σημαίνει ότι και στα δύο στάδια ωρίμανσης της συγκεκριμένης ποικιλίας έχουν μικρή διαφορά όσον αφορά την αντιοξειδωτική ικανότητα των λιπόφιλων εκχυλισμάτων.

Σύμφωνα με το διάγραμμα παρατηρούμε ότι η Ελπίδα Red Ripe και η Ελπίδα Breaker έχουν την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από όλες τις ποικιλίες.

Λαμβάνοντας υπόψη τα διαγράμματα μέτρησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας παρατηρούμε ότι στα υδρόφιλα υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ των σταδίων ωρίμανσης (Breaker, Red Ripe). Οι ποικιλίες που βρίσκονται στην φάση Red Ripe έχουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από την φάση Breaker. Αντιθέτως η μέτρησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας στα λιπόφιλα εκχυλίσματα δεν έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο φάσεων ωρίμανσης. Εκτιμούμε ότι η συγκέντρωση τις αντιοξειδωτικής ικανότητας των υδρόφιλων εκχυλισμάτων μεταβάλλατε αρκετά μεταξύ των 2 σταδίων ωρίμανσης ενώ η συνολική συγκέντρωση των λιπόφιλων (λυκοπένιο, καροτένιο, βιταμίνη Α) δεν έχουν τόσο μεγάλη διαφορά μεταξύ των 2 φάσεων ωρίμανσης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ³⁵₁₇ Anselmi C., Centini, M. Granata, P., Segal, A., Buonocore, A., Bernini, A. and Facino, R.M., 2004, Antioxidant activity of ferulic acid and alkyl esters in a heterophasic system: a mechanistic insight. *Journal of Agriculture and Food chemistry* 52, 6425-32
- ³⁵₁₇ Arnao M., Cano A., Acosta M., 1999. Methods to measure the antioxidant activity in plant material, A comparative discussion. *Free Radical Research*, 31, 89-96
- ³⁵₁₇ Aruoma, O.I., Halliwell, B., Aeschbach, R. and Loliger J, 1992, Antioxidant and prooxidant properties of active rosemary constituents: carnosol and carnosic acid, *Xenobiotica* 22, 257-68
- ³⁵₁₇ A.I.J.N, 2006, Functional claims of article 13 Lycopene in tomato juice reference and scientific evidence, 251
- ³⁵₁₇ Balasundram, N., Sundram, K., Sammam, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by products : Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99, 191-203
- ³⁵₁₇ Benzie I. F. F. and Strain J. J., 1999, Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration, *Methods of Enzymology*, 299, 15.

- ³⁵₁₇ Benzie, I. F. F.; Strain, J. J.,1996. The Ferric reducing ability of plasma n (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239, 70-76.
- ³⁵₁₇ Berry Ottaway P., 2001, The roots of a healthy diet. *Chemistry and Industry* 22 January,. 42-45
- ³⁵₁₇ Bhatia P, Ashwath N, Senaratna T, Midmore D, 2004, Tissue culture studies of tomato (*Lycopersicon esculentum*), *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 78:1-21
- ³⁵₁₇ Belitz H.D, Grosch W, Schieberle P, 2006, *Χημεία Τροφίμων*, 3^η έκδοση (μεταφρασμένη) , εκδόσεις Τζιόλα, Θεσσαλονίκη, 1237-87
- ³⁵₁₇ Boskou G, Salta, F.N, Chrysostomous S., Mylona, A. Chiou, A.Andrikopoulos N.K, 2006, Antioxidant capacity and phenolic profile of table olivew from Greek market, *Food Chem*, 94,558-564
- ³⁵₁₇ Bondet, V., Brand-Williams, W.; Berset, C.,1997. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Lebensmittel Wissenschaft and Technology*., 30, 609-615.
- ³⁵₁₇ Coopen, P.P, 1983, Use of antioxidants in Rancidity in Foods, edited by Allen, J.C., Hamiltokati n, R.J. *Applied Science*, London, 76-85
- ³⁵₁₇ Dai J. & Mumper R. 2010, Plant phenolic: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties, *Molecules*, 15, 7313-7352.
- ³⁵₁₇ Dannenberg, A.J., 1999. Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester on

the activity and expression of cyclooxygenase-2 in human oral epithelial cells and in a rat model of inflammation. macrophages. American Journal of Physiology, Cell Physiology 290, C1092–C1099.

- ³⁵₁₇ Deepshikha Gupta, 2015, Methods for determination of antioxidant capacity: a review, International journal pharmaceutical science and research, 546-549, 551-554
- ³⁵₁₇ Dejian Huang, Boxinou and Ronald L. Prior, 2005, The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays, Journal of Agriculture and food chemistry, 1841, 1842
- ³⁵₁₇ Dorman, H.J.D., Kosar, M., Kahlos, K., Holm, Y. and Hiltunen, R. 2003, Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from Mentha species, hybrids, varieties and cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 4563-69
- ³⁵₁₇ Dziedzic, J.D., 1986, Preservatives: Antioxidants. Food Technology, 94-96
- ³⁵₁₇ Gloud W.A., 2003, Tomato Production, Processing and technology, CTI Publications, Baltimore, third edition, 433-443
- ³⁵₁₇ Groff, James L and Gropper, Sareen S, 2000, Microminerals in “Advanced Nutrition and Human Metabolism”, Third Edition, Wadsworth, 419-429
- ³⁵₁₇ Huang, D.; Ou, B.; Hampsch-Woodill, M.; Flanagan, J.; Deemer, E., 2002. Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated α -cyclodextrin as the solubility enhancer. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50, 1815-1821.
- ³⁵₁₇ Jean-Marie Polese, 2008, Η καλλιέργεια της τομάτας, έκδοση Βασδέκη, Αθήνα.

- ³⁵₁₇ Jordi Oliver and Andreu Palou, 2000, Chromatographic determination of carotenoids in foods, A. Review, Journal of chromatography, 543-355
- ³⁵₁₇ Juliana A. Egydio Angela M. Moraes, Paulo T. V Rosa, 2010, Supercritical Fluid extraction of lycopene from tomato juice and characterization of its antioxidant activity of supercritical fluids, The Journal of Supercritical Fluids , 54,159-164
- ³⁵₁₇ Khachik, F., Carvalho, L., Bernstein, P.S., Muir, G.J., Zhao, D.Y., Katz, N.B. 2002. Chemistry, distribution, and metabolism of tomato carotenoid and their impact on human health. Experimental Biology and Medicine 227(10): 845-851.
- ³⁵₁₇ Kroon P.A. and Williamson G. 1999. Hydroxycinnamates in plants and food: current and future perspectives. Journal of the Science of Food and Agriculture 79, 355-362
- ³⁵₁₇ Marcio Carocho, Isabel C.F.R. Ferreira, 2013, A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives, Review, Food and Chemical Toxicology, 453-456
- ³⁵₁₇ Md. Nur Alam, Nusrat Jahan Bristi, Md. Rafiquzzaman, 2012, Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity, Saudi Pharmaceutical Journal, Review, King Saud University, 144-145
- ³⁵₁₇ Miladi, S., Gould W.A, Clementes R.L, 1969, Heat processing effect of starch, sugar, proteins, amino acids of tomato juice, Food Technology 23:93
- ³⁵₁₇ Ozaki, Y. 1992. Antiinflammatory effect of tetramethylpyrazine and ferulic

acid. Chemical & pharmaceutical Bulletin 40, 954-56

- ³⁵₁₇ Peter M. Bramles, 2000, Is Lycopene beneficial to human health, *Phytochemistry*, Volume 54, Issue 3, page 233-236
- ³⁵₁₇ Petro-Turza M, 1986, Flavor of tomato and tomato products, *Food Reviews International*, Pratt, D.E., Hudson, B.J.F. 1990. Natural antioxidants not exploited commercially in *Food Antioxidants*, edited by Hudson B.J.F., Elsevier, Amsterdam. 171-189
- ³⁵₁₇ Pratt, D.E., Hudson, B.J.F. 1990. Natural antioxidants not exploited commercially in *Food Antioxidants*, edited by Hudson B.J.F., Elsevier, Amsterdam. 171-189
- ³⁵₁₇ Prior, R.L., Wu, X.L. and Schaich, K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302
- ³⁵₁₇ Preedy Victor R., Waston R. Ronald, 2008, *Tomatoes and Tomato Products Nutritional, Medicinal and Therapeutic Properties*, Science Publishers, United States of America, 16-29,22,27,35-39, 69-71
- ³⁵₁₇ Pokorny J., Yanishlieva, N. and Gordon M. 2001. *Antioxidants in Food Practical Applications*, Woodhead Publishing Limited.
- ³⁵₁₇ Re, R., Pellegrini, N.; Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M.; Rice-Evans, C., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol and Medicine*, 26 (9/10), 1231-1237

- ³⁵₁₇ Roberfroid, M. and Calderon, P., 1990. Free Radicals and Oxidation: Phenomena in Biological System, Belgium, 1,17-19
- ³⁵₁₇ .Sang, S., Tian, S., Wang, H., Stark, R.E., Rosen, R.T., Yang, C.S., 2003.
- ³⁵₁₇ Chemical studies of the antioxidant mechanism of tea catechins. *Bioorganic and Medical Chemistry* 11, 3371–3378
- ³⁵₁₇ Sidwell, C.G., Salwin, H., Benca, M., Mitchell, J.H. 1954. The use of TBA as a measure of fat oxidation, *Journal of American Oil Chemistry Society* 34, 603-606
- ³⁵₁₇ Schuler, P. 1990. Natural antioxidants exploited commercially in Food antioxidants, edited by Hudson, B.J.F., Elsevier Applied Science, London , 130-139
- ³⁵₁₇ Spanos G.A. and Wrolstad R.E, 1990, Influence of variety, maturity, processing and storage on the phenolic composition of pear juice, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 38 ,817-824
- ³⁵₁₇ Sherwin, E.R. 1978. Oxidation and antioxidants in fat and oil processing, *Journal of American Oil Chemical Society* 55, 809-814
- ³⁵₁₇ Sanchez-Moreno C., 2002. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International.*, 8,121-137.
- ³⁵₁₇ Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L and Byrne DH., 2006.
- ³⁵₁₇ Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Ana-*

lysis 19: 669–675.

³⁵₁₇ Villano.D., Fernandez-Pachon, M.S., Troncoso, A.M. and Garcia-Parrilia, M.C. 2004. The Antioxidant Activity of Wines Determined by the ABTS+ Method: Influence of Sample Dilution and Time, Talanta, 64, 501-509.

³⁵₁₇ Zheng, W , and Wang Y , 2001, Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs, J.. Agric, FoodChem, 49 :5165.

³⁵₁₇ Πηγή πινάκων : USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 27,28

<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/3223?fgcd=Vegetables+and+Vegetable+Products&manu=&lfacet=&format=&count=&max=50&offset=&sort=default&order=asc&qlookup=Tomatoes%2C+red%2C+ripe%2C+raw%2C+year+round+average&ds=Standard+Reference&qt=&qp=&qa=&qn=&q=&ing=>, Τελευταία επίσκεψη στις 7-4 2017

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

³⁵₁₇ Γαλάρης, Δ. και Δούλιας, Π.Θ. (2001). Βιολογικά Αντιοξειδωτικά. Χημικά Χρονικά, 2, 49-50.

³⁵₁₇ Δημόπουλος Κωνσταντίνος και Αντωνοπούλου Σμαράγδη ,2009, Βασική Βιοχημεία, 2^η έκδοση 63-66

³⁵₁₇ Μπαλατσούρας Γ. 1997, Αντιοξειδωτικές ουσίες στο ελαιόλαδο και στις άλλες λιπαρές ύλες. Το ελαιόλαδο pp. 204, Σύνδεσμος Ελληνικών Βιομηχανιών Τυποποιήσεις Ελαιολάδου.

³⁵₁₇ Μπόσκοι, Δ. 1997. Χημεία Τροφίμων. 4η Έκδοση, Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη. 230-232

³⁵₁₇ Μπόσκου, Δ. 2004. Χημεία τροφίμων. Εκδόσεις Ζήτη. Θεσσαλονίκη

³⁵₁₇ Κυριτσάκης Α Κ, 2007, Ελαιόλαδο Συμβατικό και βρώσιμη ελιά-πάστα ελιάς, τέταρτη έκδοση, Θεσσαλονίκη, 451-456