ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ IV : ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Παραλαβή φαινολικών συστατικών από τον καρπό της αρώνιας

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΚΑΛΟΥΔΗ ΘΕΟΔΩΡΑ
ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΩΡΑΙΟΠΟΥΛΟΥ ΒΑΣΙΛΙΚΗ
ΑΘΗΝΑ, 2022

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική αποτελεί απόρροια βιβλιογραφικής και πειραματικής έρευνας που ολοκληρώθηκε το Φεβρουάριο του 2022 στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων (Σχολή Χημικών Μηχανικών, ΕΜΠ).

Επιβλέπουσα της μελέτης ήταν η καθηγήτρια Βασιλική Ωραιοπούλου, στην οποία οφείλω να εκφράσω τις ευχαριστίες μου. Η καθοδήγησή της ήταν πάντοτε κατατοπιστική και οι παρατηρήσεις της καίριες. Ιδιαιτέρως όμως θα ήθελα αναφερθεί πως ανά πάσα στιγμή βρισκόταν στη διάθεσή μου. Οι αποκρίσεις της σε κάθε μου προβληματισμό ήταν ταχύτατες και ικανές να δημιουργήσουν ένα παραγωγικό και ασφαλές περιβάλλον.

Προχωρώντας, δε θα μπορούσα να παραλείψω τον Δρ. Δημήτριο Τσιμογιάννη ο οποίος καθ' όλη τη διάρκεια της προσπάθειάς μου συνείσφερε τα μέγιστα. Το υψηλό γνωστικό του επίπεδο και η πολυετής εργαστηριακή του εμπειρία έπαιξαν καθοριστικό ρόλο στην πρόοδο της παρούσας μελέτης. Με μεγάλη προθυμία με εκπαίδευσε πάνω στις διάφορες εργαστηριακές τεχνικές και μου μετέδωσε τις γνώσεις του, για αυτό και τον ευχαριστώ θερμά.

Ευχαριστώ επίσης τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου, με τα οποία συνεργάστηκα αρμονικά και ειδικότερα την Δρ. Βιργινία Γιάννου και τον υποψήφιο διδάκτορα Αθανάσιο Λημναίο που με βοήθησαν στην εκμάθηση επιπρόσθετων εργαστηριακών και αναλυτικών μεθόδων.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω κάποια αγαπημένα μου πρόσωπα: τον φίλο και συνάδελφο Γιάννη Χαλκιά με τον οποίο αντιμετωπίσαμε από κοινού τις προκλήσεις της σπουδαστικής εμπειρίας και τα μέλη της οικογένειάς μου για τη στήριξη, τη συμπαράσταση και την υπομονή τους.

Περίληψη

Η Αρώνια (*Aronia melanocarpa* ή black chokeberry) είναι ένας φυλλοβόλος θάμνος που παλαιότερα χρησιμοποιούνταν ως καλλωπιστικό φυτό. Πλέον όμως είναι γνωστό ότι ο καρπός της είναι πλούσιος σε φαινολικά συστατικά και για το λόγο αυτό έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών. Τα φαινολικά συστατικά είναι αναπόσπαστο κομμάτι της ανθρώπινης διατροφής, δρουν ως φυσικά αντιοξειδωτικά και διαθέτουν ένα πλήθος ωφελειών για την υγεία (αντιβακτηριακή, αντιφλεγμονώδης, αντιθρομβωτική δράση, αντικαρκινική πρόληψη κ.α.). Επιπλέον, χρησιμοποιούνται από τις βιομηχανίες τροφίμων ως φυσική απάντηση στα συντηρητικά πρόσθετα. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι ο καρπός της αρώνιας διαθέτει υψηλότερο φαινολικό περιεχόμενο από τους καρπούς συγγενικών της ειδών που θεωρούνται υπερτροφές, όπως είναι τα δαμάσκηνα, τα βατόμουρα και τα cranberries.

Η παρούσα διπλωματική διαχωρίζεται σε δύο κύρια μέρη. Το πρώτο σκέλος έχει ως στόχο τον προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών στα μέρη του καρπού μέσω μελέτης των κλασμάτων που τον συνθέτουν (φλοιός και εσωτερικό). Το δεύτερο έχει ως στόχο τη μελέτη της ολιστικής αξιοποίησής του. Η αρώνια διατίθεται στην αγορά συνήθως σε μορφή αποξηραμένου προϊόντος ή φυσικού χυμού. Για αυτό, διερευνήθηκε η εκμετάλλευση του υπολείμματος χυμοποίησης (πυρήνας) και μελετήθηκε η ανάκτηση φαινολικών συστατικών από τυχόν αδιάθετο προϊόν αποξηραμένου καρπού.

Για το πρώτο μέρος, ποσότητα μούρων αρώνιας αποφλοιώθηκε και τα κλάσματα που προέκυψαν (φλοιός και σάρκα-κουκούτσια) υποβλήθηκαν σε 3 διαδοχικές εκχυλίσεις με μεθανόλη οξινισμένη κατά 0,5 % v/v, υποβοηθούμενες από υπερήχους. Η μεθανόλη γενικά αποφεύγεται ως μέσο εκχύλισης στη βιομηχανία γιατί είναι τοξική όμως ενδείκνυται για αναλυτικούς σκοπούς καθώς παρέχει υψηλές αποδόσεις στην ανάκτηση φαινολικών συστατικών. Το μέσο οξίνισης (τριφθοροξικό οξύ) προστέθηκε με σκοπό την προστασία των ανθοκυανών, ασταθών φαινολικών ενώσεων που είναι και τα πολυτιμότερα συστατικά της αρώνιας. Διαπιστώθηκε ότι ο φρέσκος καρπός αποτελείται κατά 86 % από σάρκα-κουκούτσια και κατά 14 % από φλοιό w/w. Σε ξηρή βάση τα αντίστοιχα ποσοστά είναι 81 % και 19 %. Τα εκχυλίσματα αναλύθηκαν ως προς το ολικό φαινολικό περιεχόμενό τους (ανάλυση Folin – Ciocalteu) και το περιεχόμενό τους σε επιμέρους φαινολικές ενώσεις: ανθοκυάνες, φαινολικά οξέα και φλαβονόλες (ανάλυση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης - HPLC). Για την ποσοτικοποίησή τους χρησιμοποιήθηκαν κατά αντιστοιχία οι ακόλουθες πρότυπες ενώσεις: Γαλλικό οξύ (GA), Κυανιδίνη (Cy), Χλωρογενικό οξύ (ChA) και Ρουτίνη (QRE). Ο φλοιός παρουσίασε ιδιαίτερα υψηλή περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά (150 ± 5 mg_{GAE}/g[(1)]) και η σάρκα περίπου τη μισή (79 ± 3 mg_{GAE}/g) σε ξηρή βάση. Αναφορικά με την ανάκτηση των επιμέρους φαινολικών ενώσεων, διαπιστώθηκε ότι το 73 % των ανθοκυανών του καρπού περιέχεται στο φλοιό (63,19 ± 2,76 $mg_{CyE}/g_{φλοιού}$[(2)] και 5,44 ± 0,19 $mg_{CyE}/g_{σάρκας}$ σε ξηρή βάση), το 78 % των φαινολικών οξέων περιέχεται στη σάρκα (3,70 ± 0,24 $mg_{ChAE}/g_{φλοιού}$[(3)] και 3,121 ± 0,035 $mg_{ChAE}/g_{σάρκας}$ σε ξηρή βάση) και οι φλαβονόλες διαμοιράζονται εξίσου στα δύο κλάσματα (5,47 ± 0,13 $mg_{QRE}/g_{φλοιού}$[(4)] και 1,53 ± 0,02 $mg_{QRE}/g_{σάρκας}$ σε ξηρή βάση). Επιπλέον, ταυτοποιήθηκαν οι κύριες ανθοκυάνες και τα κύρια φαινολικά οξέα του καρπού, με τις πρώτες να απαρτίζονται από 4 γλυκοζίτες της κυανιδίνης (κατά σειρά ελαττούμενης συγκέντρωσης: 3-*O*-γαλακτοζίτης της κυανιδίνης, 3-*O*-αραβινοζίτης της κυανιδίνης, 3-*O*-γλυκοζίτης της κυανιδίνης και 3-*O*-ξυλοζίτης της κυανιδίνης) και τα δεύτερα να απαρτίζονται από δύο ισομερή εστεροποιημένα οξέα (κατά σειρά ελαττούμενης συγκέντρωσης: χλωρογενικό και νεοχλωρογενικό οξύ). Με βάση τη σύσταση του καρπού σε φλοιό και σάρκα, υπολογίσθηκαν οι συγκεντρώσεις των πολυφαινολών που ανακτήθηκαν συνολικά: 94 ± 2

$mg_{GAE}/g_{καρπού}$ πολυφαινόλες, 16,78 ± 0,42 $mg_{CyE}/g_{καρπού}$ ανθοκυάνες, 3,27 ± 0,05 $mg_{ChAE}/g_{καρπού}$ φαινολικά οξέα και 2,32 ± 0,00 $mg_{QRE}/g_{καρπού}$ φλαβονόλες (σε ξηρή βάση).

Για την αξιοποίηση τυχόν αδιάθετου καρπού μέσω ανάκτησης των φαινολικών συστατικών, πραγματοποιήθηκε εκχύλιση αποξηραμένου προϊόντος αρώνιας του εμπορίου (πλήρης ανάμειξη, διαλύτης νερό σε αναλογία 1:20 w/v, χρόνος εκχύλισης 90 min, θερμοκρασία περιβάλλοντος) η οποία μελετήθηκε σε σχέση με το χρόνο. Η ανάκτηση που επετεύχθη σε φαινολικά συστατικά ήταν 27,9 ± 0,8 $mg_{GAE}/g_{καρπού}$ (σε ξηρή βάση) και διαπιστώθηκε ότι σε χρόνο t = 10 min η συγκέντρωση είχε ήδη ξεπεράσει το 75 % της τελική τιμής της. Η βέλτιστη περιγραφή της ανάκτησης φαινολικών συστατικών σε σχέση με το χρόνο εκχύλισης παρασχέθηκε από καμπύλη της μορφής $c = c_{\infty}x - a \cdot e^{-kt}$, όπου c η ανάκτηση πολυφαινολών (mg_{GAE}/g), t ο χρόνος εκχύλισης (min) και c_{∞}, a, k, κινητικές σταθερές του συστήματος.

Για την αξιοποίηση του υπολλείματος χυμοποίησης, προσομοιώθηκε αρχικά η βιομηχανική χυμοποίηση του φρέσκου καρπού, από την οποία παρελήφθη φυσικός χυμός (45,3 ± 1,9 % v/w) και πυρήνας χυμοποίησης (51 ± 2 % w/w). Ο φυσικός χυμός υποβλήθηκε σε αναλύσεις και βρέθηκε ότι διέθετε 53,0 ± 0,05 g/L αναγωγικά σάκχαρα, 6231 ± 159 mg_{GAE}/L πολυφαινόλες, 892 ± 11 mg_{CyE}/L ανθοκυάνες, 1116 ± 45 mg_{ChAE}/L φαινολικά οξέα, 269 ± 12 mg_{QRE}/L φλαβονόλες και 2190 ± 109 mg_{GAE}/L ταννίνες. Οι ταννίνες είναι πολυμερείς φαινολικές ενώσεις στις οποίες είναι ιδιαίτερα πλούσια η αρώνια, όμως δεν ήταν εφικτός ο προσδιορισμός τους στα εκχυλίσματα κλασμάτων του καρπού. Στο χυμό του καρπού κατέστη δυνατός ο προσδιορισμός τους μέσω καταβύθισης με πρωτεΐνη βόειου ορού (BSA).

Ο πυρήνας της χυμοποίησης υπέστη αρχικά ήπια ξήρανση με αέρα 40°C και κονιοποίηση. Η σκόνη υποβλήθηκε σε εκχύλιση σταθερής κλίνης ημιδιαλείποντος έργου. Ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε νερό οξινισμένο κατά 0,75 % w/v με κιτρικό οξύ και η τελική αναλογία πρώτης ύλης - εκχυλίσματος προέκυψε ίση με 1:18 w/v. Η ανάκτηση πολυφαινολών από τον πυρήνα μελετήθηκε σε σχέση με το χρόνο εκχύλισης και τον όγκο του παραγόμενου εκχυλίσματος. Διαπιστώθηκε ότι περιγράφεται από δύο στάδια: στο αρχικό στάδιο η διαφορική ανάκτηση αυξάνει γραμμικά σε σχέση με τον όγκο του παραγόμενου εκχυλίσματος (στάδιο έκπλυσης) ενώ έπειτα μειώνεται, ακολουθώντας κινητική της μορφής $y = a \cdot x^{-b}$ ($0 < b < 1$), όπου y η διαφορική ανάκτηση (δηλαδή η συγκέντρωση στο στιγμιαία παραγόμενο εκχύλισμα) σε πολυφαινόλες (mg_{GAE}/L) και x ο όγκος ολικού παρεληφθέντος εκχυλίσματος (L). Σχέση ίδιας μορφής προκύπτει και για τη διαφορική ανάκτηση σε σχέση με το χρόνο εκχύλισης (min). Οι συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων προσδιορίσθηκαν στο ολικό εκχύλισμα και εκφράστηκαν σε ξηρή βάση πυρήνα: 13,2 mg_{GAE}/g πολυφαινόλες, 3,67 ± 0,14 mg_{CyE}/g ανθοκυάνες, 1,63 ± 0,08 mg_{ChAE}/g φαινολικά οξέα και 1,512 mg_{QRE}/g φλαβονόλες. Ο υπολογισμός της συνολικής ανάκτησης φαινολικών συστατικών (ανάκτηση μέσω χυμού + ανάκτηση μέσω πυρήνα) έδειξε πολύ μικρότερη παραλαβή από ότι η εκχύλιση κλασμάτων του καρπού με μεθανόλη, ως προς το ολικό φαινολικό περιεχόμενο και ιδιαίτερα ως προς τη συγκέντρωση σε ανθοκυάνες. Πραγματοποιήθηκε μερική διερεύνηση της αιτίας μέσω συμπληρωματικής εκχύλισης νωπού πυρήνα και αποδείχθηκε ότι ένας λόγος υποβάθμισης του υλικού ήταν η ξήρανση που προηγήθηκε.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε παραγωγή χρωστικής σκόνης με αντιοξειδωτικές ιδιότητες με ενθυλάκωση μέσω ξήρανσης με ψεκασμό. Για το σκοπό αυτό, το εκχύλισμα αναμίχθηκε με πολυμερή φορέα (αναλογία στερεού εκχυλίσματος – φορέα: 6,2 % w/w) και το παραγόμενο μίγμα συγκέντρωσης 30 % w/w σε ολικά στερεά ξηράνθηκε με ψεκασμό (θερμοκρασία εισόδου ξηραντήρα 140°C, θερμοκρασία

εξόδου 90-100°C και ογκομετρική παροχή 4 mL/min). Πραγματοποιήθηκαν δοκιμές με 2 διαφορετικούς φορείς (μαλτοδεξτρίνη 17-20 DE και μίγμα μαλτοδεξτρίνης – αραβικού κόμμεος 4:1), που παρουσίασαν εξίσου υψηλές αποδόσεις στην ενθυλάκωση ανθοκυανών και ολικών πολυφαινολών (> 88 %). Και στις δύο περιπτώσεις οι κόνεις διέθεταν χαμηλή υγρασία (< 2,5 %), εντός των ορίων διασφάλισης μικροβιακής σταθερότητας.

Λέξεις κλειδιά: αρώνια, εκχύλιση πολυφαινολών, εκχύλιση ανθοκυανών, υπόλειμμα χυμοποίησης αρώνιας, ενθυλάκωση ανθοκυανών, ξήρανση με ψεκασμό.

Διευκρινίσεις: [1]GAE = Gallic Acid Equivalents, [2]CyE = Cyanidin Equivalents, [3]ChAE = Chlorogenic Acid Equivalents, [4]QRE = Quercetin Rutinoside Equivalents

Abstract

Aronia (Aronia melanocarpa or black chokeberry) is a deciduous shrub formerly used as an ornamental plant. However, it is now known that its fruit is rich in phenolic components and for that reason has attracted the interest of many researchers. Phenolic components are an integral part of the human diet, act as natural antioxidants and have numerous health benefits (antibacterial, anti-inflammatory properties, anti-cancer prevention, etc.). In addition, they are used by the food industry as a natural response to preservative additives. Indicatively, aronia berries have a higher phenolic content than the fruits of related species considered as superfoods, such as plums, blueberries and cranberries.

The current thesis is divided into into two main parts. The first part aims at a better understanding of the aronia berry through the study of the individual fractions that compose it (skin and interior). The second part aims at the study of its holistic utilization. Aronia is usually marketed in the form of a dried product or natural juice. Therefore, the exploitation of the juicing residue (presscake) was investigated and the recovery of phenolic components from any unallocated dried fruit product was studied.

For the first part, a quantity of aronia berries was peeled and the resulting fractions (skin / flesh-stones) were subjected to 3 consecutive extractions with methanol acidified by 0.5% v/v, assisted by ultrasound. Methanol is generally avoided as an extraction solvent in industry because it is toxic but is suitable for analytical purposes as it provides high efficiencies in the recovery of phenolic components. The acidifier (trifluoroacetic acid) was added to protect the anthocyanins, unstable phenolic compounds which are the most valuable constituents of chokeberry. It was found that aronia berries consist of 86 % flesh and 14% skin (w/w on a fresh basis). The extracts were analyzed for their total phenolic content (Folin - Ciocalteu analysis) and their content in individual phenolic compounds (anthocyanins, phenolic acids, flavonols, by HPLC analysis). The skin showed a very high content of phenolic components (150 ± 5 $mg_{GAE}/g^{(1)}$) and the flesh about half comparatively (79 ± 3 mg_{GAE}/g) on a dry basis. Regarding the recovery of the individual phenolic compounds from the two fractions, it was found that 73% of the berry's anthocyanins are contained in the skin (63.19 ± 2.76 $mg_{CyE}/g_{skin}^{(2)}$ and 5.44 ± 0.19 mg_{CyE}/g_{flesh} on a dry basis), 78% of phenolic acids are contained in the flesh (3.70 ± 0.24 $mg_{ChAE}/g_{skin}^{(3)}$ and 3.121 ± 0.035 mg_{ChAE}/g_{flesh} on a dry basis) and flavonols are divided equally into two fractions (5.47 ± 0.13 $mg_{QRE}/g_{skin}^{(4)}$ and 1.53 ± 0.02 mg_{QRE}/g_{flesh} on a dry basis). In addition, the main anthocyanins and the main phenolic acids of the fruit were identified, with the former consisting of 4 glycosides of cyanidine (in order of decreasing concentration: cyanidin 3-*O*-galactoside, cyanidin 3-*O*-arabinoside, cyanidin 3-*O*-glucoside and cyanidin 3-*O*-xyloside) and the latter consisting of two isomerized esterified acids (in order of decreasing concentration: chlorogenic and neochlorogenic acid). From the computed reconstitution of the berry, the total concentrations of polyphenols were extracted: 94 ± 2 mg_{GAE}/g_{berry} polyphenols, 16.78 ± 0.42 mg_{CyE}/g_{berry} anthocyanins, 3.27 ± 0.05 mg_{ChAE}/g_{berry} phenolic acids and 2.32 ± 0.00 mg_{QRE}/g_{berry} flavonols (on a dry basis).

Additionally, dried aronia product (full mixing, solvent water, ratio 1:20 w/v, 90 min) was extracted and the extraction was studied in relation to time. The recovery achieved in phenolic components was 27.9 ± 0.8 mg_{GAE}/g_{berry} (on a dry basis) and it was found that at time t = 10 min the concentration had already exceeded 75% of its final value. The optimal description of the recovery of phenolic components in relation to the extraction time was provided by a curve of the form $c = c_{\infty}x - a \cdot e^{-kt}$.

For the second part, the industrial juicing process was laboratory simulated, from which was obtained natural juice (45.3 ± 1.9% v/w) and juicing presscake (51 ± 2% w/w). The natural juice was analyzed and found to have 5.30 ± 0.05% w/v reducing sugars, 6231 ± 159 mg_{GAE}/L polyphenols, 892 ± 11 mg_{CyE}/L anthocyanins, 1116 ± 45 mg_{ChAE}/L phenolic acids, 269 ± 12 mg_{QRE}/L flavonols and 2190 ± 109 mg_{GAE}/L tannins. Tannins are polymeric phenolic compounds in which chokeberry is particularly rich. However, it has not been possible to determine them in fruit fragment extracts and that's why they have not been mentioned before. In the fruit juice it was possible to determine them by precipitation with bovine protein (BSA).

The juicing presscake was initially dried with 40°C air and pulverized. The powder was subjected to a semi-intermittent fixed bed extraction with water. Solvent was acidified by adding 0.75% w/v citric acid and extract's final ratio between raw material and solvent was 1:18 w/v. The recovery of polyphenols from the presscake was studied in relation to the extraction time and the volume of the extract produced. It was found to be described by a branch function: in the first minutes the differential recovery increases linearly (wetting stage) while then decreases with kinetics of the form: $y = a \cdot x^{-b}$ ($0 < b < 1$). The point of intersection of the two curves indicates the position of the total maximum. Concentrations of phenolic compounds were determined in the total extract and expressed on a dry presscake basis: 13.2 mg_{GAE}/g polyphenols, 3.67 ± 0.14 mg_{CyE}/g anthocyanins, 1.63 ± 0.08 mg_{ChAE}/g phenolic acids and 1.512 mg_{QRE}/g flavonols. The computational reconstitution of the berry (recovery via juice + recovery via presscake), however, came into conflict with the findings of the first part (extraction of fractions with methanol). There was recorder a significant deficit of phenolic content and especially anthocyanins. The cause was partially investigated by a supplementary extraction of fresh presscake and it was proved that one reason for degradation of the material was the drying performed before.

Finally, a pigment powder with antioxidant properties was produced. For this purpose, the extract was enriched with carrier polymers (wall material) to a final concentration of 30% w/w in total solids (core:wall ratio: 6.2% w/w) and the resulting mixture was spray dried (inlet temperature 140°C, outlet temperature 90-100°C and volumetric flow 4 mL/min). Tests were performed with 2 different wall materials (maltodextrin 17-20 DE and maltodextrin-gum Arabic mixture 4:1), which showed equally high yields in the encapsulation of anthocyanins and total polyphenols (> 88%). In both cases the powders had low humidity (<2.5%), within the limits of ensuring microbial stability.

Keywords: black chokeberry, polyphenols extraction, anthocyanins extraction, chokeberry juicing residue, chokeberry presscake, anthocyanins encapsulation, spray drying

Clarifications: [1]GAE = Gallic Acid Equivalents, [2]CyE = Cyanidin Equivalents, [3]ChAE = Chlorogenic Acid Equivalents, [4]QRE = Quercetin Rutinoside Equivalents

Περιεχόμενα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ 10

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 11

2.1. Η αρώνια (Aronia melanocarpa) 11
Γενικά χαρακτηριστικά 11
Η σύσταση του καρπού 12
Τα προϊόντα της αρώνιας και οι τεχνικές παραγωγής τους 14
2.2. Οι φαινολικές ενώσεις 17
Οι φαινολικές ενώσεις ως βιοδραστικά συστατικά 17
Η χημεία των φαινολικών ενώσεων 17
Οι φαινολικές ενώσεις του καρπού της αρώνιας 23
2.3. Παραλαβή στερεών με εκχύλιση 26
Η εκχύλιση ως φυσικοχημικό φαινόμενο 26
Εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών από φυτικούς ιστούς 26
2.4 Φαινολικά συστατικά στα εκχυλίσματα και τα προϊόντα αρώνιας 31
2.5. Παραγωγή φυσικών χρωστικών με μικροεγκλεισμό 36
Τα χρωστικά πρόσθετα στα τρόφιμα 36
Οι ανθοκυάνες ως φυσικές χρωστικές 37
Ενθυλάκωση ανθοκυανών 38
Ενθυλάκωση με ξήρανση με ψεκασμό 40
Παραγωγή χρωστικών κόνεων από εκχυλίσματα ανθοκυανών 42

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 43

3.1. Σχεδιασμός και διαγραμματική απεικόνιση πειραματικής πορείας 43
3.2 Αντιδραστήρια, πρώτες ύλες, συσκευές και όργανα 46
3.3. Χυμοποίηση καρπού αρώνιας 50
3.4. Διαχωρισμός του καρπού στα μέρη του 50
3.5. Εκχυλίσεις φαινολικών συστατικών 51
Εκχύλιση φλοιών 51
Εκχύλιση αποφλοιωμένων καρπών 52
Εκχύλιση αποξηραμένου καρπού 53
Εκχύλιση πυρήνα αρώνιας (υπολείμματος χυμοποίησης) 53
3.6. Εγκλεισμός συστατικών του πυρήνα χυμοποίησης 55
Προσδιορισμός απόδοσης και αποτελεσματικότητας εγκλεισμού 58
3.7. Αναλυτικές μέθοδοι ταυτοποίησης και ποσοτικοποίησης συστατικών 60
Ξήρανση για τον προσδιορισμό της περιεχόμενης υγρασίας και των ολικών στερεών 60
Η μέθοδος Folin – Ciocalteu 60
Η μέθοδος DPPH 62

Καταβύθιση ταννινών με πρωτεΐνη BSA 64
Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) 65

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ 72

4.1. Εκχύλιση των κλασμάτων του καρπού και χαρακτηρισμός τους 72
Παραλαβή ολικών στερεών 72
Παραλαβή ολικού φαινολικού περιεχομένου 73
Προσδιορισμός αντιριζικής ικανότητας 74
Μελέτη επιμέρους φαινολικών ενώσεων 76
Υπολογισμός συγκεντρώσεων φαινολικών συστατικών στον πλήρη καρπό 87
Αποξηραμένος καρπός 88
4.2. Χυμοποίηση καρπού και χαρακτηρισμός χυμού 93
Διαλυτοποιημένα στερεά 93
Σάκχαρα 93
Ολικό φαινολικό περιεχόμενο και αντιριζική ικανότητα 93
Επιμέρους φαινολικά συστατικά 94
Συγκεντρωτικά χαρακτηριστικά 96
4.3. Εκχύλιση παραπροϊόντος (πυρήνα) χυμοποίησης 96
Ολικό φαινολικό περιεχόμενο και αντιριζική ικανότητα 97
Επιμέρους φαινολικά συστατικά 100
Συγκεντρωτικά χαρακτηριστικά 101
Υπολογισμοί αποδόσεων επί του φρέσκου καρπού 102
4.4. Ενθυλάκωση φαινολικών συστατικών πυρήνα σε κόνεις 105

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ 107

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 110

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ 117

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 118

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αρώνια είναι ένα θαμνώδες φυλλοβόλο φυτό, αυτοφυές της Βόρειας Αμερικής. Παραδοσιακά, οι ιθαγενείς χρησιμοποιούσαν τα φύλλα και τους καρπούς της στην Ιατρική, φτιάχνοντας τσάι για τη θεραπεία του κρυολογήματος. Τα μούρα της αρώνιας χρησιμοποιούνταν επίσης στην παρασκευή του Pemmican, μιας θρεπτικής τροφής μακράς διάρκειας που περιείχε ζωικό λίπος, αποξηραμένο κρέας σε σκόνη και φρούτα. Αργότερα, οι έποικοι της Αμερικής χρησιμοποίησαν το χυμό της ως στυπτικό μέσο στα διάφορα τρόφιμα.

Τον 20^{ο} αιώνα η αρώνια διαδόθηκε στη Σοβιετική Ένωση και τις χώρες της ανατολικής Ευρώπης. Αξιοποιήθηκε στην παραγωγή χυμών, μαρμελάδων και κρασιών, αλλά και ως πηγή φυσικών χρωστικών για τρόφιμα. Επιπρόσθετα, κέρδισε δημοτικότητα ως φυτικό φάρμακο κατά της υπέρτασης, της αθηροσκλήρωσης, της αβιταμίνωσης και των αιμορροΐδων.

Η αρώνια είναι πολύ πλούσια σε φαινολικά συστατικά (φυσικά αντιοξειδωτικά) και ως εκ τούτου παρουσιάζει μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον. Πιο συγκεκριμένα, οι καρποί της είναι, όπως τα περισσότερα μούρα, πλούσιοι σε αντιοξειδωτικά συστατικά και ιδιαίτερα σε ανθοκυανίνες και προκυανιδίνες οι οποίες αποτελούν και τα δραστικά συστατικά των μύρτιλων και του εκχυλίσματος σταφυλιού. Οι ανθοκυανίνες έχουν επιδείξει αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινική και κυτταροπροστατευτική δράση, βοηθώντας στην αντιμετώπιση της συστηματικής φλεγμονής που σχετίζεται με διάφορες χρόνιες παθήσεις όπως ο διαβήτης, οι καρδιοπάθειες και η παχυσαρκία. Εκτός από τις πολυφαινόλες, διαθέτει ακόμη πολυπληθή βιοδραστικά συστατικά όπως βιταμίνες, ιχνοστοιχεία και καροτενοειδή, τα οποία συνδράμουν σημαντικά στα οφέλη του καρπού για την ανθρώπινη υγεία.

Σήμερα, η αρώνια απαντάται κυρίως σε μορφή χυμού ή αποξηραμένου προϊόντος και ως συστατικό φαρμακευτικών σκευασμάτων. Σε διεθνές επίπεδο οι εκτάσεις που καλλιεργούνται δεν είναι μεγάλες, αν και η ζήτηση συνεχώς αυξάνεται. Στην Ελλάδα, η δημοτικότητά της είναι ακόμα αρκετά χαμηλά, για αυτό και οι παραγωγοί είναι διστακτικοί ως προς την καλλιέργειά της. Αθροιστικά οι εκτάσεις παραγωγής δεν ξεπερνούν τα 500 στρέμματα και το μεγαλύτερο μέρος τους (> 50 %) βρίσκεται στις Σέρρες.

Η παρούσα μελέτη στοχεύει στην καλύτερη κατανόηση του υλικού, μέσω διαχωρισμού του καρπού στα μέρη που τον συνθέτουν και προσδιορισμό του φαινολικού περιεχομένου κάθε κλάσματος. Επίσης, στα πλαίσια της συνολικής αξιοποίησής του, μελετάται η δυνατότητα εκμετάλλευσης του παραπροϊόντος χυμοποίησης (πυρήνας), ένα υλικό με υψηλή θρεπτική αξία που όμως απορρίπτεται. Πραγματοποιείται πειραματική ανάκτηση των βιοδραστικών συστατικών του πυρήνα μέσω εκχύλισης και δοκιμάζεται η χρήση του εκχυλίσματος για την παραγωγή σκόνης με χρωστικές αλλά και αντιοξειδωτικές ιδιότητες, που θα μπορούσε να λειτουργήσει ως βελτιωτικό πρόσθετο στη βιομηχανία τροφίμων.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. Η αρώνια (Aronia melanocarpa)

Γενικά χαρακτηριστικά

Η Αρώνια (Aronia melanocarpa ή black chokeberry) είναι ένας φυλλοβόλος, καρποφόρος θάμνος της οικογένειας των Ροδοειδών (Συνομοταξία: Αγγειόσπερμα [Magnoliophyta], Ομοταξία: Δικοτυλίδονα [Magnoliopsida], Τάξη: Ροδώδη [Rosales], Οικογένεια: Ροδοειδή [Rosaceae])

Αποτελεί ιθαγενές φυτό της Βόρειας Αμερικής, ωστόσο η καλλιέργειά της έχει πλέον διαδοθεί παγκοσμίως, καθώς δύναται να ευδοκιμήσει σε ένα αρκετά μεγάλο εύρος εδαφικών και κλιματικών συνθηκών. Ανθίζει αρχές καλοκαιριού και καρποφορεί στις αρχές του φθινοπώρου. Οι καρποί της έχουν μέγεθος μπιζελιού και χρώμα μελανό – ιώδες. Κρέμονται σε συστάδες έως και 12 μονάδων και συλλέγονται με το χέρι ή και μηχανικά, με έναν συλλέκτη βατόμουρων.

Η αρώνια διαθέτει ιδιαίτερα διακοσμητικά χαρακτηριστικά, για αυτό και στο παρελθόν χρησιμοποιούταν κυρίως ως καλλωπιστικό φυτό. Πλέον όμως είναι γνωστό ότι η βρώση της φέρει ένα πλήθος ωφελειών για την υγεία, καθώς η αντιοξειδωτική της δράση είναι ιδιαίτερα υψηλή σε σχέση με τα περισσότερα είδη φρούτων, συμπεριλαμβανομένων διαφόρων διαδεδομένων υπερτροφών όπως τα δαμάσκηνα, τα βατόμουρα και τα cranberries.

Εικόνα 2-1. Από αριστερά προς τα δεξιά: Το φυτό, το άνθος και ο καρπός της αρώνιας (Aronia Melanocarpa)

Οι καρποί της αρώνιας μπορούν να καταναλωθούν φρέσκοι ή αποξηραμένοι ή να χρησιμοποιηθούν σε αρτοσκευάσματα όπως πίτες, μπισκότα, muffins κ.α., στην παρασκευή τσαγιού, χυμού ή κρασιού

(μεμονωμένα ή σε συνδυασμό με άλλους καρπούς), καθώς και στην παρασκευή μαρμελάδων, ζελέ, σιροπιών κ.α. Τέλος, βρίσκει εφαρμογή και ως χρωστικό ή αρωματικό πρόσθετο στην παραγωγή γιαουρτιού, παγωτού, σορμπέ κ.α.

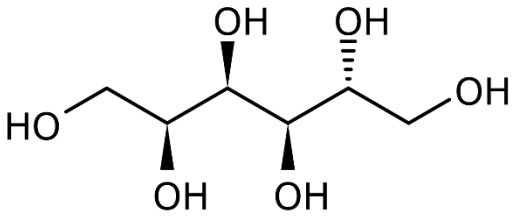
Η γεύση των καρπών της αρώνιας είναι ιδιαίτερη και ευχάριστη. Εξαιτίας των ταννινών που περιέχουν παρουσιάζουν επίσης μια στυπτικότητα αρκετά αισθητή. Έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα (όπως τα σταφύλια ή τα κεράσια) και σε οξέα, που όμως δεν είναι εύκολα αντιληπτά γευστικά (Everhart, 2009).

Η σύσταση του καρπού

Τα συστατικά και οι επιμέρους περιεκτικότητες αυτών σε κάθε καρπό μπορεί να ποικίλλουν ανάλογα με την ποικιλία, τις συνθήκες καλλιέργειας και την περίοδο συγκομιδής. Γενικά όμως, ο καρπός της αρώνιας συνίσταται κυρίως από τα παρακάτω:

- ***Σάκχαρα***

Τα σάκχαρα και οι φυτικές ίνες αποτελούν το σύνολο των υδατανθράκων που απαντώνται στην αρώνια. Η συνολική περιεκτικότητα σε αναγωγικά σάκχαρα στον καρπό της αρώνιας κυμαίνεται από 5,71 έως 19,36 g/100 g, συμπεριλαμβανομένης της φρουκτόζης 1,38 – 4,71 g/100 g και της γλυκόζης 1,09 – 5,70 g/100 g, ενώ σε σημαντικά χαμηλότερη περιεκτικότητα (0 – 1,53 g/100 g) έχει εντοπιστεί και η σακχαρόζη. Αξίζει να σημειωθεί, ωστόσο, ότι η κύρια γλυκαντική ουσία της αρώνιας δεν είναι κάποιο αναγωγικό σάκχαρο αλλά μια πολυόλη, η σορβιτόλη. Η σορβιτόλη είναι μια αλκοόλη-σάκχαρο με γλυκιά γεύση που μπορεί να ληφθεί με αναγωγή της γλυκόζης. Στη φύση μπορεί να βρεθεί σε μήλα, αχλάδια, ροδάκινα και δαμάσκηνα, αλλά και στην αρώνια όπου εντοπίζεται σε περιεκτικότητα 4,4 – 8,6 g/100 g επί νωπού βάρους (Ochmian et al., 2012, Mayer-Miebach et al., 2012, Skupien et al., 2007, Šnebergrová et al., 2014).



Εικόνα 2-1. Η σορβιτόλη είναι μια αλκοόλη – σάκχαρο, γνωστή και ως γλυκιτόλη. Έχει γλυκιά γεύση και το ανθρώπινο σώμα τη μεταβολίζει αργά. Αποτελεί ισομερές της μαννιτόλης

- ***Φυτικές ίνες***

Πάνω από το 60% των φυτικών ινών του καρπού της αρώνιας αποτελείται από αδιάλυτα συστατικά, όπως η λιγνίνη, η κυτταρίνη και η ημι-κυτταρίνη. Το υπόλειμμα (πυρήνας) της χυμοποίησης της αρώνιας, που αποτελείται από φλοιούς, κουκούτσια και αδιάλυτα στερεά των κυττάρων της σάρκας, είναι ένα υλικό ιδιαίτερα πλούσιο σε φυτικές ίνες αφού πάνω από το 70 % του ξηρού του βάρους αποδίδεται σε αυτές (Borycka et al., 2008, Nawirska et al., 2008).

- ***Οργανικά οξέα***

Το περιεχόμενο του καρπού σε ολικά οργανικά οξέα έχει προσδιορισθεί από τους Djuric et al. (2015) ίσο με 0,82 – 1,68 g/100 g σε νωπή βάση. Εκείνα που εντοπίζονται κατά κύριο λόγο είναι το κιτρικό σε περιεκτικότητα 0,07 – 0,25 g/100 g, το ισοκιτρικό σε περιεκτικότητα 0,17 – 0,37 g/100 g, το μηλικό σε περιεκτικότητα 0,45 – 1,63 g/100 g και το κινικό σε περιεκτικότητα 0,41 – 0,68 g/100 g (Šnebergrová et al., 2014). Άλλα οργανικά οξέα που έχουν μεμονωμένα εντοπισθεί σε χαμηλές περιεκτικότητες είναι το ταρταρικό, το ηλεκτρικό και το φουμαρικό οξύ Djuric et al. (2015).

- ***Φώσφορος και μέταλλα***

Ο φώσφορος απαντάται στον καρπό της αρώνιας σε περιεκτικότητα έως και 31,4 mg/100 g (Šnebergrová et al., 2014), ενώ τα κυρίως μέταλλα που εντοπίζονται είναι το κάλιο με συγκέντρωση 164 – 497 mg/100 g, το ασβέστιο με συγκέντρωση 22,8 – 116 mg/100 g, το μαγνήσιο με συγκέντρωση 15,5 – 57,8 mg/100 g και το νάτριο με συγκέντρωση 1,2 – 3,7 mg/100 g (Pavlovic et al., 2015).

- ***Βιταμίνες***

Η κύρια βιταμίνη της αρώνιας είναι η βιταμίνη C και βρίσκεται σε συγκέντρωση έως 31 mg/100 g στον καρπό της (Ochmian et al., 2009). Σε σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις (έως 1,35 mg/100 g) έχουν επίσης εντοπισθεί τοκοφερόλες, οι βιταμίνες B1, B2, B6,B9, η νιασίνη, το παντοθενικό οξύ, και η βιταμίνη A (Tanaka et al., 2001).

- ***Πρωτεΐνες***

Η περιεκτικότητα του καρπού σε πρωτεΐνες είναι σχετικά χαμηλή και προσδιορίσθηκε από την Cervenka L. (2011) ίση με 3,7 mg / 100 g σε ξηρή βάση. Μερικά από τα αμινοξέα που ανιχνεύθηκαν είναι η αργινίνη, η τυροσίνη, η ιστιδίνη, η λυσίνη, η κυστεΐνη, η ασπαραγίνη, η σερίνη, το γλουταμινικό οξύ και η θρεονίνη.

- ***Λιπίδια***

Η περιεκτικότητα του καρπού σε λιπίδια είναι επίσης χαμηλή και κυμαίνεται μεταξύ 0,09 και 0,017 g/100 g σε νωπή βάση, με τα περισσότερα εξ αυτών να εντοπίζονται στα κουκούτσια και τους φλοιούς (Lancrajan I., 2012)

- ***Χρωστικές***

Τα κύρια χρωστικά συστατικά της αρώνιας είναι οι ανθοκυάνες, που όμως θα αναλυθούν εκτενέστερα παρακάτω (βλ. Ανθοκυάνες, σελ. 19). Πέραν αυτών όμως, ο καρπός της αρώνιας περιέχει σε μικρότερες συγκεντρώσεις ένα πλήθος καροτενοειδών όπως το λυκοπένιο, τα α-, β- και ζ-καροτένιο, την β-κρυπτοξανθίνη, τη λουτεΐνη, τις trans και cis βιολαξανθίνες κ.α. (Razungles et al., 1989).

- ***Φαινολικά συστατικά***

Οι φαινολικές ενώσεις (πολυφαινόλες) της αρώνιας είναι τα πολυτιμότερα συστατικά του καρπού και σε αυτές οφείλεται η υψηλή βιοδραστικότητα που τον χαρακτηρίζει. Αποτελούν το επίκεντρο ενδιαφέροντος της παρούσας διπλωματικής και σε αυτές περιλαμβάνονται οι ανθοκυανίνες, οι φλαβονόλες, οι φλαβανόλες, οι προανθοκυανιδίνες και τα φαινολικά οξέα. Βιβλιογραφικά στοιχεία για τις ταυτότητες των επιμέρους ενώσεων και τις αντίστοιχες περιεκτικότητες παρουσιάζονται εκτενέστερα στη σχετική παράγραφο (βλ. Οι φαινολικές ενώσεις του καρπού της αρώνιας, σελ 23).

Τα προϊόντα της αρώνιας και οι τεχνικές παραγωγής τους

Η αρώνια μπορεί να καταναλωθεί απευθείας ως φρέσκος καρπός. Εξαιτίας όμως της περιορισμένης δημοτικότητάς της είναι σχετικά δυσεύρετη στην αγορά. Ως εκ τούτου, είναι περισσότερο διαδεδομένη ως εμπορικό προϊόν σε μορφή αποξηραμένου καρπού, ή σε μορφή φυσικού χυμού, λιγότερο συχνά και σε μορφή τσαγιού. Επίσης μπορεί να βρεθεί ως συστατικό συμπληρώματος διατροφής, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς της σε αντιοξειδωτικά, είτε σε κάψουλες ή σε σκόνη. Στη βιομηχανία τροφίμων αξιοποιείται κυρίως σε μορφή ξηρής σκόνης που παραλαμβάνεται από εκχύλιση του καρπού και του υπολείμματος χυμοποίησης ή από το φυσικό χυμό. Βρίσκει εφαρμογή ως αντιοξειδωτικό πρόσθετο, αλλά κυρίως ως φυσική εναλλακτική στη χρώση των τροφίμων, με παράλληλα οφέλη για την ανθρώπινη υγεία.

Παραγωγή φυσικού χυμού αρώνιας

Ο φυσικός χυμός της αρώνιας παράγεται με τον ίδιο τρόπο που παράγεται ο χυμός μούρων ή φράουλας.

Η διαδικασία ξεκινάει με την απόψυξη και το πλύσιμο των καρπών. Εν συνεχεία, οδηγούνται σε μία ταινία μεταφοράς, όπου απομακρύνονται και τα άγουρα ή σάπια κλάσματα. Οι καρποί καταλήγουν σε έναν σπαστήρα και παράγεται ο πολτός ο οποίος μεταφέρεται σε έναν προθερμαντήρα. Η θέρμανση βοηθά τους φυτικούς ιστούς να μαλακώσουν, ώστε να αυξηθεί η απόδοση της διεργασίας και επιπλέον αναστέλλει τη δράση των ενζύμων που μπορεί να καταλύσουν ανεπιθύμητες αντιδράσεις στον πολτό, όπως την αμαύρωση.

Στο στάδιο αυτό, είναι αρκετά συχνή η επιπλέον κατεργασία του πολτού με ένζυμα χυμοποίησης (Cellubrix, Pectinex Ultra SPL, Crystalzyme κ.α). Τα ένζυμα μπορούν να συμβάλλουν στην αύξηση της απόδοσης χυμοποίησης έως και 20% και στη διαύγαση των χυμών, ενώ έχει βρεθεί ότι δεν επηρεάζουν καθόλου την τιμή της ολικής περιεκτικότητας σε στερεά και της περιεκτικότητας σε σάκχαρα (Siddiq et al., 2018).

Για το διαχωρισμό του πολτού σε χυμό και πυρήνα (υπόλειμμα χυμοποίησης) εφαρμόζεται φυγοκέντρηση ή συμπίεση σε πρέσα με διηθητικά φίλτρα. Τέλος, ο χυμός αποστέλλεται για απαέρωση, παστερίωση και συσκευασία.

Τα τελευταία χρόνια, το ενδιαφέρον έχει στραφεί εξίσου και στο υπόλειμμα της χυμοποίησης (πυρήνας αρώνιας), παραπροϊόν της διεργασίας το οποίο συχνά απορρίπτεται. Ο πυρήνας της αρώνιας είναι ένα

Εικόνα 2-2. Ο φυσικός χυμός της αρώνιας (αριστερά) και το παραπροϊόν της χυμοποίησης έπειτα από ξήρανση και κονιοποίηση (δεξιά)

υλικό πολύ πλούσιο σε βιοδραστικά συστατικά, με σημαντικές προοπτικές ως προς την αξιοποίησή του. Από αυτό, δύναται να παραχθούν κόνεις εκχυλισμάτων πλούσιες σε πολυφαινόλες και κυρίως ανθοκυάνες, μέσω υποβολής του εκχυλίσματος σε κρυοαφυδάτωση (freeze drying) ή ξήρανση με ψεκασμό (spray drying) (Vagiri et al., 2017). Ιδιαίτερο ρόλο στην ποιότητα του τελικού εκχυλίσματος από τον πυρήνα παίζουν όχι μόνο οι συνθήκες εκχύλισης, αλλά και οι διεργασίες που έχουν προηγηθεί, κατά την παρασκευή του χυμού.

Ξήρανση

Η ξήρανση είναι μία μέθοδος συντήρησης τροφίμων που τις περισσότερες φορές προκαλεί σημαντική υποβάθμιση της ποιότητας του προϊόντος. Τα αποξηραμένα προϊόντα είναι γενικά φτωχότερα σε θρεπτικά συστατικά σε σχέση με τα φρέσκα από τα οποία προήλθαν, για αυτό και είναι επιτακτική ανάγκη η ανάπτυξη και καθιέρωση νέων μεθόδων που θα μπορούν να διατηρούν αποδοτικότερα τα οργανοληπτικά στοιχεία, αλλά και τα ωφέλημα συστατικά. Τα εμπορικά προϊόντα αποξηραμένου καρπού αρώνιας παράγονται γενικά με συμβατικές μεθόδους ξήρανσης τροφίμων (ξήρανση στον ήλιο ή με ρεύμα θερμού αέρα). Τα διαλύματα που παραλαμβάνονται από τη χυμοποίηση του καρπού, ή από τις εκχυλίσεις του καρπού και του πυρήνα αυτού, κονιοποιούνται συνήθως μέσω ξήρανσης με ψεκασμό (spray drying). Ακολούθως παρουσιάζονται οι συνηθέστερες μέθοδοι ξήρανσης που εφαρμόζονται στην παραγωγή αποξηραμένων καρπών ή/και κόνεων.

- ***Ξήρανση στον ήλιο***:
  Λαμβάνει χώρα κατά τους θερινούς μήνες, καθώς το προϊόν χρειάζεται να εκτεθεί για αρκετές μέρες στον ήλιο. Στην Ελλάδα λόγω κλίματος, η τεχνική αυτή είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη στην ξήρανση ενός πλήθους καρπών όπως τα σύκα και οι σταφίδες.

- ***Ξήρανση με ρεύμα θερμού αέρα***:
  Είναι η πιο συνήθης μέθοδος στη βιομηχανία τροφίμων για την ξήρανση φρέσκων καρπών. Οι καρποί τοποθετούνται σε σήραγγες, οι οποίες διαπερνώνται από ρεύμα αέρα θερμοκρασίας έως 75°C. Η διαδικασία μπορεί να διαρκέσει από 3 έως 8 ώρες, ανάλογα με τη φύση του προϊόντος. Οι Petkovic et al. (2019) διαπίστωσαν ότι η ξήρανση της αρώνιας στους 50°C παρείχε σημαντικά καλύτερη διατήρηση των φαινολικών συστατικών της (και ιδίως των ανθοκυανών), από ότι σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες (60 ή 70°C). Ωστόσο, οι ξηράνσεις σε χαμηλές θερμοκρασίες γενικά δεν προτιμώνται καθώς είναι πιο απαιτητικές σε ενέργεια και διάρκεια.

- ***Ξήρανση με κατάψυξη/Λυοφιλίωση (Freeze drying, FD)***:
  Επιτυγχάνεται με κατάψυξη στους -25°C μέχρι να επιτευχθεί η πλήρης στερεοποίηση του προϊόντος και εν συνεχεία εξάχνωση του περιεχόμενου νερού υπό συνθήκες υψηλού κενού. Ως αποτέλεσμα, παραλαμβάνονται υψηλής ποιότητας αφυδατωμένα προϊόντα, τα οποία διατηρούν πλήρως το σχήμα, τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αλλά και τα θρεπτικά συστατικά τους. Παρόλα αυτά, είναι μια διαδικασία ιδιαίτερα κοστοβόρα για αυτό και η χρήση της είναι περιορισμένη. Επιπλέον, τα προϊόντα διαθέτουν αρκετά μεγαλύτερο πορώδες σε σχέση με αυτά που έχουν ξηρανθεί με συμβατικές μεθόδους και είναι ιδιαίτερα επιρρεπή στην απορρόφηση υγρασίας εκ νέου (Harguindeguy & Fissore, 2019).

- ***Συμπύκνωση***:
  Εφαρμόζεται σε υγρά τρόφιμα (χυμοί φρούτων, γάλα κ.α) και στοχεύει στη μείωση του διαθέσιμου νερού του τροφίμου. Έτσι παράγονται προϊόντα μειωμένου όγκου και επιπλέον, με συνδυασμό κατάλληλης συσκευασίας, ελαττώνονται/αναστέλλονται οι φυσικοχημικές και βιολογικές δράσεις που προκαλούν την υποβάθμισή του. Συμβατική μέθοδος συμπύκνωσης είναι η θερμική μερική εξάτμιση, ωστόσο έχουν αναπτυχθεί βελτιστοποιημένες τεχνικές κατάλληλες για θερμοευαίσθητα συστατικά. Ενδεικτικά αναφέρονται η εξάτμιση υπό κενό, η υπερδιήθηση (Ultrafiltration, UF) και η αντίστροφη όσμωση (Reverse osmosis, RO) (Ashurst P., 2016).

- ***Ξήρανση με ψεκασμό (Spray drying)***:
  Χρησιμοποιείται στην παραγωγή κόνεων από υγρά τρόφιμα και είναι η πιο διαδεδομένη τεχνική ξήρανσης εκχυλισμάτων. Το υγρό τρόφιμο/εκχύλισμα μετατρέπεται σε νέφος μικρών σταγονιδίων μέσα σε θάλαμο, όπου ταυτόχρονα εισέρχεται αέρας υψηλής θερμοκρασίας (150°C και άνω). Η ξήρανση επιτυγχάνεται σε ελάχιστο χρόνο και παραλαμβάνονται κόκκοι σκόνης που προέρχονται από τα σταγονίδια του τροφίμου. Πολύ συχνά, η ξήρανση με ψεκασμό συνδυάζεται με εγκλεισμό των συστατικών του εκχυλίσματος σε αδρανή πολυμερή-φορείς. Ως αποτέλεσμα, τα ευαίσθητα βιοδραστικά συστατικά των εκχυλισμάτων προστατεύονται από την άμεση επαφή τους με το περιβάλλον, όντας στο εσωτερικό μεγαλύτερων δομών (μικροκάψουλες) και αυξάνεται η σταθερότητα της παραγόμενης σκόνης, άρα και η διάρκεια ζωής της (Vidović et al., 2019). Ο μικροεγκλεισμός συστατικών μέσω ξήρανσης με ψεκασμό θα αναλυθεί εκτενέστερα σε επόμενη ενότητα (βλ. Ενθυλάκωση ανθοκυανών, σελ. 38 & Ενθυλάκωση και ξήρανση με ψεκασμό, σελ. 40).

2.2. Οι φαινολικές ενώσεις

Οι φαινολικές ενώσεις ως βιοδραστικά συστατικά

Οι φαινολικές ενώσεις περιέχονται κατά βάση σε φυτικούς ιστούς και είναι ένα αναπόσπαστο κομμάτι της ανθρώπινης διατροφής. Παρουσιάζουν σημαντικό ενδιαφέρον λόγω των αντιοξειδωτικών τους ιδιοτήτων και χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων ως φυσικά συντηρητικά (Parr & Bolwell, 2000). Οι φαινολικές ενώσεις είναι μια πολύ μεγάλη υποκατηγορία των φυσικών αντιοξειδωτικών, τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στην υγεία του ανθρώπινου οργανισμού.

Ως αντιοξειδωτικά ορίζονται οι ουσίες που έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν ελεύθερες ρίζες (ασταθείς δραστικές ενώσεις που διαθέτουν ένα ελεύθερο ηλεκτρόνιο στην εξωτερική τους στοιβάδα). Οι ελεύθερες ρίζες συχνά προκαλούν βλάβες στα κύτταρα του οργανισμού, γνωστές ως «οξειδωτικό στρες», οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν σε ένα πλήθος χρόνιων παθήσεων όπως αθηροσκλήρωση, φλεγμονώδεις νόσους, καρκίνο και νευροεκφυλιστικές ασθένειες. Τα αντιοξειδωτικά είναι ικανά να δωρίσουν ρίζες υδρογόνου και, ως εκ τούτου, λειτουργούν ως «σαρωτές» και έπειτα «δεσμευτές» ελεύθερων ριζών (Jurikova et al., 2017).

Η χημεία των φαινολικών ενώσεων

Τα μονομερή των φαινολικών ενώσεων αποτελούνται από έναν αρωματικό δακτύλιο που φέρει μία ή περισσότερες ομάδες υδροξυλίου και οι δομές τους ποικίλλουν. Μπορεί να είναι από ένα απλό φαινολικό μόριο έως ένα πολύπλοκο πολυμερές υψηλού μοριακού βάρους, παρόλα αυτά συνηθίζεται να αναφέρονται συγκεντρωτικά ως «πολυφαινόλες».

Ανάλογα με τη δομή, οι φαινολικές ενώσεις χωρίζονται σε υποομάδες με κυριότερες εξ αυτών τα φαινολικά οξέα, τα φλαβονοειδή και τις ταννίνες (Balasundram et al., 2006).

Πίνακας 2-1. Οι κύριες κατηγορίες φαινολικών ενώσεων

Κατηγορία	Δομή
Απλές φαινόλες, βενζοκινόνες	C_6
Υδροξυβενζοϊκά οξέα	C_6–C_1
Ακετοφαινόνες, φαινυλακετικά οξέα	C_6–C_2
Υδροξυκινναμικά οξέα, φαινυλοπροπανοειδή (κουμαρίνες, ισοκουμαρίνες, χρωμόνες, χρωμίνες)	C_6–C_3
Ναφθοκινόνες	C_6–C_4
Ξανθόνες	C_6–C_1–C_6
Στιλβένια, ανθρακινόνες	C_6–C_2–C_6

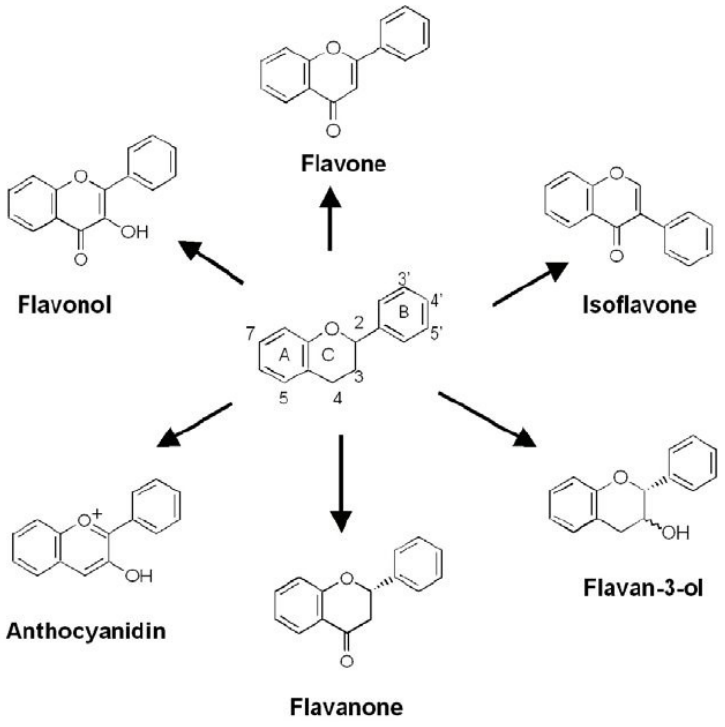
Φλαβονοειδή, ισοφλαβονοειδή	$C_6–C_3–C_6$
Λιγνάνες, νεολιγνάνες	$(C_6–C_3)_2$
Διφλαβονοειδή	$(C_6–C_3–C_6)_2$
Λιγνίνες	$(C_6–C_3)_n$
Συμπυκνωμένες ταννίνες (προανθοκυανιδίνες ή φλαβολάνες)	$(C_6–C_3–C_6)_n$

Φλαβονοειδή

Είναι φυτικές ενώσεις και πιο συγκεκριμένα, η μεγαλύτερη υποομάδα των φαινολικών ενώσεων. Έχουν αντιοξειδωτική, αντιβακτηριακή, αντιφλεγμονώδη, αντιθρομβωτική, αγγειοχαλαρωτική και αντιαλλεργική δράση. Δρουν ως δεσμευτές οξειδωτικών ομάδων, όπως ανιόντων υπεροξειδίων, υπεροξειδικών ριζών, υδροξυριζών και ελεύθερων ριζών οξυγόνου.

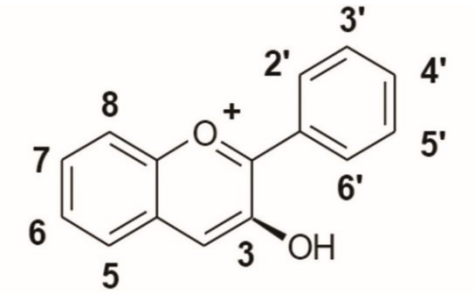
Βρίσκονται κυρίως στα φρούτα, τα λαχανικά, το κρασί, το τσάι και το κακάο. Ευθύνονται για τη γεύση και το χρώμα των τροφίμων αυτών.

Το διακριτικό χαρακτηριστικό τους είναι η αλληλουχία $C_6–C_3–C_6$ (Δύο αρωματικοί δακτύλιοι A,B συνδεδεμένοι με μια τρι-ανθρακική κυκλική δομή C). Ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του δακτυλίου C, τα φλαβονοειδή ταξινομούνται περαιτέρω ως εξής: φλαβονόλες, φλαβόνες, φλαβονόνες, φλαβανόλες (ή κατεχίνες), ισοφλαβόνες, φλαβανόνες και ανθοκυάνες. Μεταξύ αυτών, οι φλαβόνες και οι φλαβονόλες είναι οι ευρύτερα απαντώμενες (Panche et al., 2016).



Εικόνα 2-3. Ταξινόμηση φλαβονοειδών βάσει της δομής του δακτυλίου C

Ανθοκυάνες



Εικόνα 2-4. Γενική δομή ανθοκυανών

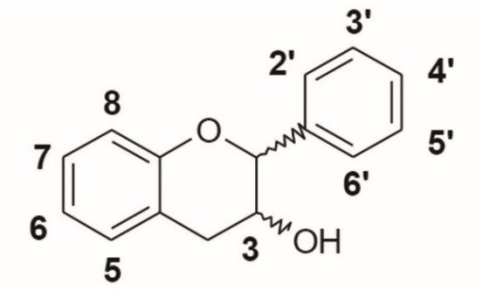
Έχουν κυανό ή κόκκινο ιώδες χρώμα και περιέχονται κυρίως σε άνθη, από όπου προκύπτει και η ονομασία τους. Χρησιμοποιούνται και ως φυσικές χρωστικές. Αύξηση των υποκατεστημένων υδροξυλομάδων ευνοεί την κυανή απόχρωση ενώ μεθυλίωση των ομάδων αυτών ευνοεί την κόκκινη. Αποτελούν ισχυρά αντιοξειδωτικά, για αυτό και είναι ιδιαίτερα ασταθείς.

Πέραν της χρήσης τους ως φυσικές χρωστικές, οι ανθοκυάνες μελετώνται και ως φαρμακευτικά συστατικά, αφού μπορούν να ωφελήσουν με πολλαπλούς τρόπους την ανθρώπινη υγεία. Μελέτες σε καλλιέργειες κυττάρων, δοκιμές σε ζώα αλλά και κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους έχουν δείξει ότι οι ανθοκυάνες διαθέτουν αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή δράση, ενισχύουν την οπτική και νευρολογική υγεία και μειώνουν τις πιθανότητες εμφάνισης αυτοάνοσων νοσημάτων.

Περιέχονται κυρίως σε μήλο, μαύρο μούρο, μαύρη σταφίδα, κεράσι, ροδάκινο, κούμαρο, κόκκινο κρασί κ.α.

Σημαντικότερες εξ αυτών είναι οι: κυανιδίνη, χλωρο-κυανιδίνη, δελφινιδίνη, πεονιδίνη, μαλβιδίνη, πελουνιδίνη κ.α. (Khoo et al., 2017).

Φλαβανόλες (κατεχίνες)



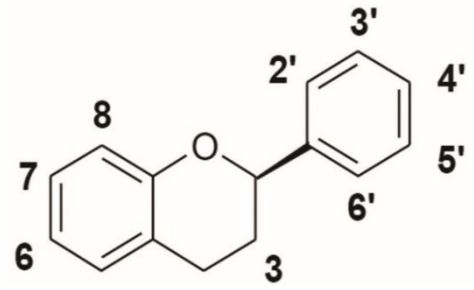
Εικόνα 2-5. Γενική δομή φλαβανολών (κατεχινών)

Είναι άχρωμες και επίσης ονομάζονται φλαβαν-3-όλες ή κατεχίνες.

Περιέχονται σε μήλο, βερύκοκκο, νεκταρίνι, ροδάκινο, αχλάδι, κόκκινο κρασί, τσάι, κακάο κ.α.

Σημαντικότερες εξ αυτών είναι οι: κατεχίνη, επικατεχίνη, επιγαλλοκατεχίνη κ.α. (Murcovic et al., 2016).

Φλαβάνες



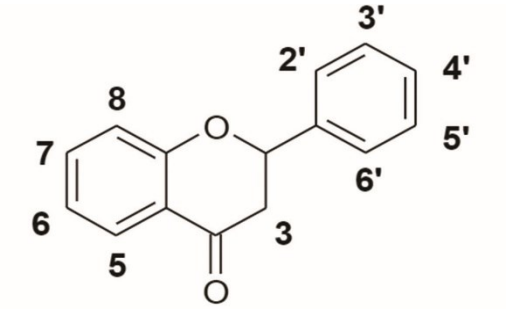
Εικόνα 2-6. Γενική δομή φλαβανών

Είναι άχρωμες και προσδίδουν τη στυφή γεύση σε ορισμένα φρούτα ή ποτά όπως το κρασί και η μπύρα.

Περιέχονται σε μήλο, μούρο, κούμαρο, βερύκοκκο, αμύγδαλο, φιστίκι, καλαμπόκι, κριθάρι, κακάο κ.α.

Σημαντικότερες εξ αυτών είναι οι: θεαφλαβίνη, λουτεοφορόλη, θεαρουμπιγίνες κ.α. (Balasundram et al., 2006).

Φλαβανόνες



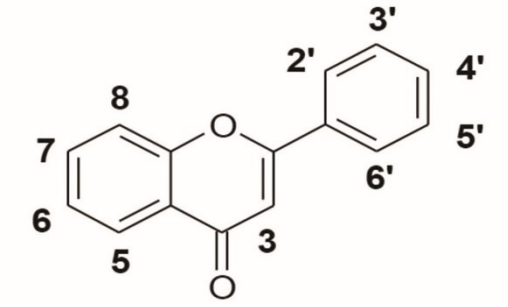
Εικόνα 2-7. Γενική δομή φλαβανονών

Είναι άχρωμες ή υποκίτρινες και ορισμένες εξ αυτών έχουν πικρή γεύση (πχ νεοεσπεριδίνη, ναρινγκίνη).

Περιέχονται σε λεμόνι, πορτοκάλι, τομάτα, μέλι, κύμινο, μέντα κ.α.

Σημαντικότερες εξ αυτών είναι οι: εσπεριτίνη, εσπεριδίνη, εριοδικτυόλη, ισοσακουρανετίνη, ναριγκίνη, νεοεσπεριδίνη κ.α. (Panche et al., 2016).

Φλαβόνες



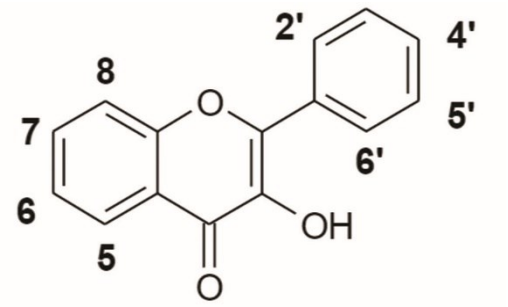
Εικόνα 2-8. Γενική δομή φλαβονών

Είναι απαλό κίτρινο χρώμα και προσδίδουν το χρώμα αυτό σε κάποια άνθη.

Περιέχονται σε λεμόνι, πορτοκάλι, καρότο, σέλινο, μαϊντανό, κόκκινο πιπέρι κ.α.

Σημαντικότερες εξ αυτών είναι οι: απιγκενίνη, λουτεολίνη, διοσμεντίνη, νομπιλετίνη, τανγκερετίνη, σινενσετίνη, τριχίνη κ.α. (Balasundram et al., 2006).

Φλαβονόλες



Εικόνα 2-9. Γενική δομή φλαβονολών

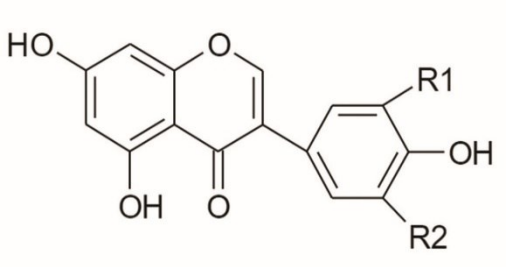
Έχουν απαλό κίτρινο χρώμα και λέγονται και ανθοξανθίνες. Απαντώνται ελεύθερες ή με τη μορφή γλυκοζιτών (συνήθως με γλυκόζη) και είναι τα πιο διαδεδομένα φλαβονοειδή στη φύση. Η σύνθεσή τους ευνοείται ιδιαίτερα από την ηλιακή ακτινοβολία, για αυτό και πολύ συχνά προσδιορίζονται διαφορετικές περιεκτικότητες σε φαινομενικά πανομοιότυπους φυτικούς ιστούς.

Οι φλαβονόλες είναι τα αρχαιότερα φλαβονοειδή και παραμένουν αυτούσια στη φύση έως σήμερα. Παρά το γεγονός ότι πλέον υπάρχουν πάνω από 10000 διαφορετικές δομές φλαβονοειδών, οι φλαβονόλες εξακολουθούν να παίζουν το βασικότερο ρόλο στην προστασία των φυτικών ιστών από στρεσσογόνους εξωγενείς παράγοντες.

Περιέχονται σε αχλάδι, μήλο, πορτοκάλι, σταφύλι, λεμόνι, δαμάσκηνο, μπρόκολο, κουνουπίδι, τομάτα, λάχανο, κρεμμύδι, κόκκινο κρασί, τσάι κ.α.

Σημαντικότερες εξ αυτών είναι οι: κερκετίνη, μυρισετίνη, καμπφερόλη, ρομπινετίνη κ.α. (Herrero et al., 2012)

Ισοφλαβόνες



Εικόνα 2-10. Γενική δομή ισοφλαβονών

Είναι άχρωμες.

Περιέχονται σε πράσινα φασόλια, όσπρια, σόγια κ.α.

Σημαντικότερες εξ αυτών είναι οι: δαϊδζεΐνη, γενιστεΐνη κ.α. (Khoo et al., 2017).

Φαινολικά Οξέα

Περιέχονται σε φρούτα και λαχανικά κυρίως με τη μορφή εστέρων ή αμιδίων τους. Διαθέτουν αντιοξειδωτική δράση, η οποία σχετίζεται με τη χημική τους δομή και μελετώνται συστηματικά για βιολογικές ιδιότητες όπως αντικαρκινική πρόληψη, αντιφλεγμονώδης και αντιβακτηριδιακή δράση.

Αποτελούνται από δύο υποκατηγορίες: τα υδροξυ-βενζοϊκά οξέα με διακριτικό χαρακτηριστικό τους την αλληλουχία C_6-C_1 και τα υδρο-κινναμικά οξέα με διακριτικό χαρακτηριστικό τους την αλληλουχία C_6-C_3. (Robbins et al., 2003).

Υδροξυ-βενζοϊκά οξέα

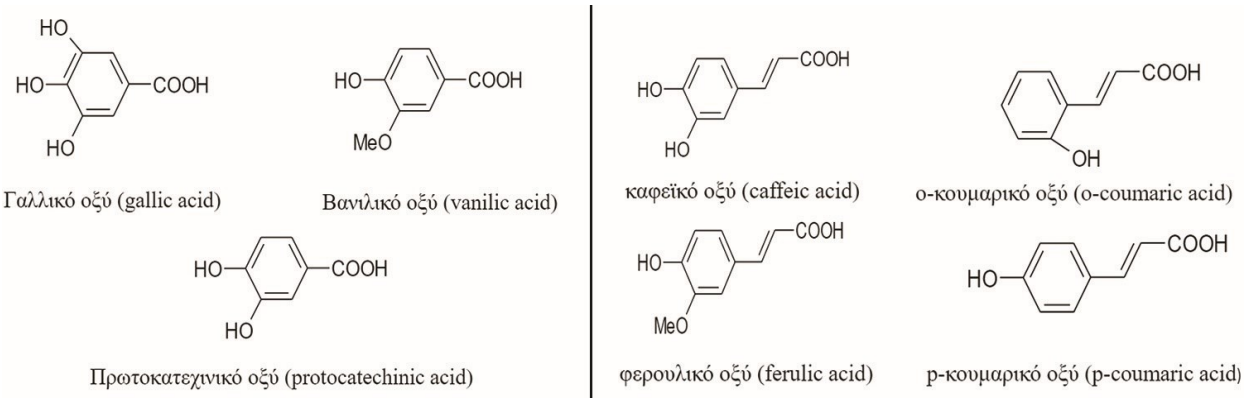
Περιέχονται σε σοκολάτα, κακάο, τσάι, κρασί κ.α

Σημαντικότερα εξ αυτών είναι τα: γαλλικό οξύ, βανιλικό οξύ, πρωτοκατεχινικό οξύ, p-υδροξυβενζοϊκό οξύ, συρινγκικό οξύ κ.α (Chandrasekara A., 2018).

Υδροξυ-κινναμικά οξέα

Περιέχονται σε μήλο, κίτρο, ελαιόλαδο, κράμβη, τομάτα κ.α

Σημαντικότερα εξ αυτών είναι τα: καφεϊκό οξύ, φερουλικό οξύ, p-κουμαρικό οξύ, σιναπικό οξύ, κ.α. (Chandrasekara A., 2018).



Εικόνα 2-11. Χαρακτηριστικά παραδείγματα Υδροξυ-βενζοϊκών (αριστερά) και Υδροξυ-κινναμικών οξέων (δεξιά), όπου διακρίνονται οι αλληλουχίες C6-C1 και C6-C3 αντίστοιχα

Ταννίνες

Είναι φυσικές πολυφαινολικές ενώσεις μεγαλύτερου μοριακού βάρους (μπορεί να κυμαίνεται από 500 έως 4000). Διαφέρουν ως προς το βαθμό πολυμερισμού τους και δεν παρουσιάζουν καμία ομοιομορφία στη χημική τους δομή. Ανάλογα με το βαθμό πολυμερισμού τους το χρώμα τους ποικίλλει από ασθενώς κίτρινο μέχρι κεραμέρυθρο.

Οι ταννίνες δεσμεύουν τις πρωτεΐνες και τα ένζυμα της πέψης υδατανθράκων και λιπών και καθυστερούν την απορρόφησή τους, μειώνοντας τα επίπεδα σακχάρου και χοληστερόλης.

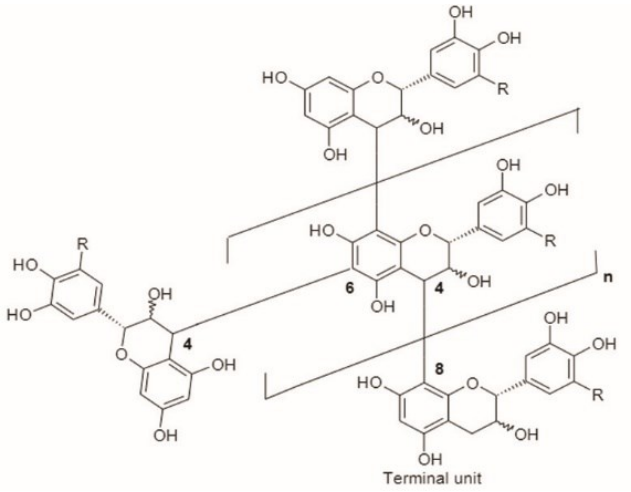
Περιέχονται στα καρύδια, το ελαιόλαδο , το κακάο, το κόκκινο κρασί κ.α.

Βάσει της ικανότητάς τους (ή μη) να υδρολύονται παρουσία θερμού νερού ή κατάλληλων ενζύμων (ταννάσες), οι ταννίνες διακρίνονται σε υδρολυόμενες και μη υδρολυόμενες/συμπυκνωμένες (ή προανθοκυανιδίνες). Μια τρίτη υποομάδα, οι φλωροταννίνες, απομονώθηκαν επίσης από κάποια είδη φυκών, όμως δεν έχουν εντοπισθεί σε άλλους οργανισμούς και συνεπώς δεν παίζουν ιδιαίτερο ρόλο στην ανθρώπινη διατροφή (Sieniawska & Baj, 2017).

Υδρολυόμενες ταννίνες

Διαθέτουν γλυκοζιτικό δεσμό με μόριο σακχάρου ή πολυσακχαρίτη, των οποίων πολλά υδροξύλια είναι εστεροποιημένα με φαινολικά οξέα και κυρίως με γαλλικό ή ελλαγικό οξύ (Sieniawska & Baj, 2017).

Συμπυκνωμένες ταννίνες (προανθοκυανιδίνες)



Εικόνα 2-12. Γενική δομή συμπυκνωμένων ταννινών

Είναι μια ομάδα από πολυυδροξυφλαβαν-3-όλες (ολιγομερής ή πολυμερής) όπου οι δομικές μονάδες των φλαβανολών ενώνονται με δεσμό άνθρακα-άνθρακα. Το όνομά τους (προανθοκυανιδίνες), σχετίζεται με την ικανότητά τους να αποπολυμερίζονται προς ανθοκυανιδίνες με υδρόλυση παρουσία ισχυρού οξέος.

Ολιγομερείς προανθοκυανιδίνες περιέχονται στο κακάο, τα κουκούτσια των σταφυλιών, τα μήλα και το χυμό της αρώνιας.

Πολυμερείς προανθοκυανιδίνες περιέχονται κυρίως στα cranberries, την αρώνια και διάφορα είδη ξηρών καρπών (φιστίκια, αμύγδαλα κ.α) (Murcovic et al., 2016).

Οι φαινολικές ενώσεις του καρπού της αρώνιας

Η προσοχή των ερευνητών έχει στραφεί τα τελευταία χρόνια προς την αρώνια λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς της σε φαινολικές ενώσεις και ιδιαίτερα ανθοκυάνες με τη μορφή παραγώγων κυανιδίνης (Jakobek et al., 2011).

Η αρώνια, αρχικά, διαθέτει υψηλό συνολικό πολυφαινολικό φορτίο (Total Polyphenols - TP). Οι Jakobek et al. (2011), Rop et al. (2010), Benvenuti et al. (2004) και οι Zheng et al. (2003) προσδιόρισαν το πολυφαινολικό φορτίο της αρώνιας και διαπίστωσαν ότι κυμαίνεται από 690 έως 2560 mg_{GAE} (GAE = Gallic Acid Equivalents - ισοδύναμα γαλλικού οξέος) ανά 100 g φρέσκου καρπού. Το εύρος τιμών αυτό είναι αρκετά υψηλότερο από το αντίστοιχο σε κάθε άλλο φυτό της οικογένειάς των Ροδοειδών στην οποία ανήκει, πολλά εκ των οποίων θεωρούνται μάλιστα υπερτροφές (βατόμουρα, σμέουρα, φράουλες, cranberries κ.α.).

Πίνακας 2-2. Ολικό περιεχόμενο σε ανθοκυάνες και πολυφαινόλες όπως προσδιορίστηκε από τους Jakobek et al. (2007) για 4 είδη συγγενών καρπών.

	Ολικές Ανθοκυάνες – TA (mg_{CGE}/kg)	Ολικές πολυφαινόλες – TP (mg_{GAE}/kg)
Κόκκινο βατόμουρο	242 ± 3	1256 ± 133
Μαύρο βατόμουρο	1108 ± 6	2484 ± 234
Φράουλα	232 ± 10	1005 ± 56
Αρώνια	4341 ± 22	10637 ± 571

CGE = Ισοδύναμα 3-O-γαλακτοζίτη της κυανιδίνης (Cyanidin-3-Galactoside Equivalents), GAE = Ισοδύναμα γαλλικού οξέος (Gallic Acid Equivalents)

Η περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες στον καρπό που διατίθεται προς κατανάλωση εξαρτάται από ένα πλήθος παραγόντων όπως τα γενετικά χαρακτηριστικά του φυτού (γενότυπος, ποικιλία), τις συνθήκες ανάπτυξης (τοποθεσία, συνθήκες καλλιέργειας, στάδιο ωρίμανσης, εποχή συγκομιδής), την επεξεργασία και τις συνθήκες αποθήκευσης (θερμοκρασία, χρονικό διάστημα κ.α) (Jurikova et al., 2017).

Τα σημαντικότερα είδη φαινολικών ενώσεων που εντοπίζονται στην αρώνια είναι τα φαινολικά οξέα και τα φλαβονοειδή. Παρακάτω παρουσιάζονται ονομαστικά οι επιμέρους ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν σε προηγούμενες έρευνες στο φρέσκο καρπό της αρώνιας.

Τα φαινολικά οξέα στον καρπό της αρώνιας

Γενικά, τα μούρα είναι μια πλούσια πηγή υδροξυκινναμικών οξέων (παράγωγα του κινναμικού οξέος). Το κύριο φαινολικό οξύ του καρπού της αρώνιας είναι το χλωρογενικό οξύ, το οποίο αποτελείται από ένα μόριο καφεϊκού οξέος και ένα μόριο κινικού οξέος συνδεδεμένα με εστερικό δεσμό. Μαζί με το νεοχλωρογενικό οξύ, θεωρούνται οι κυριότερες μη φλαβονοειδείς φαινολικές ενώσεις που περιέχονται στα μούρα της αρώνιας (Ochmian et al., 2009)

Τα φλαβονοειδή στον καρπό της αρώνιας

Οι κύριες υποομάδες φλαβονοειδών που ταυτοποιούνται στον καρπό της αρώνιας είναι οι ανθοκυανίνες, οι φλαβονόλες και οι φλαβανόλες (κατεχίνες). Ομοίως με την περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις, η περιεκτικότητα της αρώνιας σε φλαβονοειδή είναι υψηλότερη από την αντίστοιχη σε κάθε άλλο είδος της οικογένειάς της (Jakobek et al., 2007).

Ανθοκυάνες

Το μεγαλύτερο ενδιαφέρον γύρω από τη σύσταση της αρώνιας εστιάζεται στις ανθοκυάνες που περιέχει και που εντοπίζονται στον καρπό με τη μορφή ανθοκυανιδινών (γλυκοζυλιωμένα μόρια ανθοκυανών). Οι μελέτες των Oszmiański et al. (2005) έδειξαν ότι η περιεκτικότητα του καρπού σε ανθοκυανίνες ανέρχεται στο 25 % κ.β. επί της συνολικής περιεκτικότητας σε φαινολικές ενώσεις, ενώ λίγο αργότερα οι Jakobek et al. (2007) διαπίστωσαν ότι το αντίστοιχο ποσοστό μπορεί να φθάσει και το 41 %. Η κύρια ανθοκυανιδίνη της αρώνιας είναι ο 3-Ο-γαλακτοζίτης της κυανιδίνης, ακολουθούμενος από τον 3-Ο-αραβινοζίτη της κυανιδίνης και σε μικρότερες περιεκτικότητες οι 3-Ο-γλυκοζίτης και 3-Ο-ξυλοζίτης της κυανιδίνης (Wu et al., 2004).

Φλαβονόλες

Εντοπίζονται στον καρπό σε χαμηλότερες περιεκτικότητες από τις ανθοκυανιδίνες. Οι κυριότερες ενώσεις που τις εκπροσωπούν στον καρπό της αρώνιας βρίσκονται σε γλυκοζυλιωμένη μορφή και είναι οι: 3-γαλακτοζίτης της κερκετίνης (υπεροζίτης), 3-γλυκοζίτης της κερκετίνης (ισοκερκετίνη) και ο 3-ρουτινοζίτης της κερκετίνης (ρουτίνη). Σε πολύ χαμηλότερη περιεκτικότητα εντοπίζονται και άλλες ενώσεις όπως η καμπφερόλη. Οι φλαβονόλες έχει βρεθεί ότι καταλαμβάνουν περίπου το 10% της κατά βάρος συνολικής περιεκτικότητας του καρπού σε φαινολικά συστατικά (Jakobek et al., 2007).

Φλαβανόλες

Οι φλαβανόλες απαντώνται στην αρώνια κυρίως ως υπομονάδες πολυμερών προανθοκυανιδινών της φλαβαν-3-όλης (συμπυκνωμένες ταννίνες). Οι υπομονάδες συνδέονται κυρίως με C4-C6 και C4-C8 δεσμούς και ο βαθμός πολυμερισμού ποικίλλει από 2 έως 23 μονάδες. Φλαβανόλες υπάρχουν επίσης και σε ελεύθερη μορφή στον καρπό (κατεχίνες και επικατεχίνες), ωστόσο η συγκέντρωσή τους είναι σημαντικά χαμηλότερη (Bräunlich et al., 2013).

2.3. Παραλαβή στερεών με εκχύλιση

Η εκχύλιση ως φυσικοχημικό φαινόμενο

Εκχύλιση ονομάζεται η φυσική διεργασία κατά την οποία ένα ή περισσότερα συστατικά ενός στερεού δείγματος απομακρύνονται με χρήση κατάλληλου διαλύτη. Τα στάδια της εκχύλισης μπορούν να συνοψισθούν ως εξής:

1. Διείσδυση του διαλύτη στη μάζα του στερεού (διάχυση)
2. Διαλυτοποίηση στερεών ενώσεων που πρόκειται να απομακρυνθούν
3. Μετακίνηση των πλέον διαλυτοποιημένων ουσιών στην επιφάνεια του στερεού
4. Μετακίνηση των εκχυλισμένων ουσιών στον κύριο όγκο του υγρού

Κινητήρια δύναμη για τη μεταφορά μάζας που λαμβάνει χώρα είναι η διαφορά συγκέντρωσης και η σχετική αυτή κίνηση ξεκινά από την περιοχή υψηλής συγκέντρωσης (στερεό) προς την περιοχή χαμηλής συγκέντρωσης (υγρό).

Η διεργασία αυτή συνήθως περιγράφεται από τον 1ο Νόμο διάχυσης του Adolf Fick (1855), βάσει του οποίου η διάχυση των συστατικών σε κάθε t εξαρτάται από τη διαφορά συγκέντρωσης μεταξύ στερεής και υγρής φάσης. Όπως είναι λογικό, η διαφορά αυτή μεταβάλλεται με το χρόνο (συγκλίνει), οπότε ο ρυθμός της διεργασίας μειώνεται. Τελικά, δημιουργείται μια ισορροπία μεταξύ των δύο φάσεων, όπου η διαφορά συγκέντρωσης έχει πλέον ελαχιστοποιηθεί και η διάχυση είναι αμελητέα.

1ος Νόμος Διάχυσης του Fick: $$J = -D\frac{\partial c}{\partial x} \qquad (2.1)$$ όπου

J ο ρυθμός ροής μάζας ανά μονάδα επιφάνειας στη διεύθυνση x

D ο συντελεστής διάχυσης (σταθερά που εξαρτάται από τη θερμοκρασία, την πίεση και τη σύσταση του μίγματος)

$\frac{\partial c}{\partial x}$ βαθμίδα συγκέντρωσης στη διεύθυνση x

Το αρνητικό πρόσημο οφείλεται στην κατεύθυνση ροής της μάζας (από υψηλές προς χαμηλές συγκεντρώσεις)

Εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών από φυτικούς ιστούς

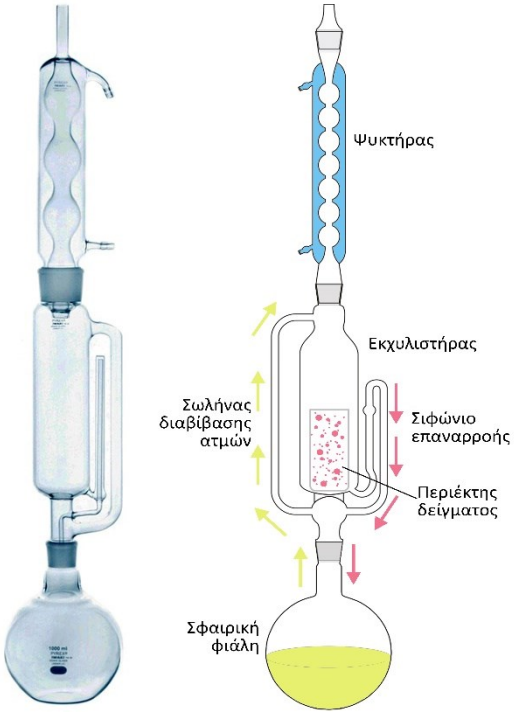
Για την απομάκρυνση βιοδραστικών ενώσεων από φυτικά υλικά, υπάρχουν ποικίλες τεχνικές εκχύλισης. Οι περισσότερες από αυτές τις τεχνικές βασίζονται στην εκχυλιστική ισχύ διαφορετικών

διαλυτών που χρησιμοποιούνται και την εφαρμογή θερμότητας ή/και ανάμειξης. Ταξινομούνται σε 2 βασικές κατηγορίες: τις συμβατικές και τις μη συμβατικές μεθόδους εκχύλισης.

Συμβατικές μέθοδοι εκχύλισης

Εκχύλιση Sohlet

Ο εκχυλιστήρας Soxhlet προτάθηκε για πρώτη φορά από το Franz Ritter von Soxhlet το 1879 για την εκχύλιση των λιπιδίων. Πλέον, βρίσκει ένα πλήθος εφαρμογών στην εκχύλιση συστατικών από διάφορες φυσικές πηγές. Η διάταξη περιλαμβάνει μια σφαιρική φιάλη η οποία περιέχει τον υγρό διαλύτη, συνδεδεμένη με τον εκχυλιστήρα και τον ψυκτήρα σε σειρά. Μέσα στον εκχυλιστήρα τοποθετείται μια κάψουλα από διηθητικό υλικό, η οποία περιέχει το προς εκχύλιση στερεό κονιοποιημένο. Ο διαλύτης θερμαίνεται και οι ατμοί του διαβιβάζονται στον ψυκτήρα. Εκεί συμπυκνώνονται και έπειτα επιστρέφουν στον εκχυλιστήρα όπου διαβρέχουν στερεό και εκχυλίζονται τα επιθυμητά συστατικά του. Όταν το εμπλουτισμένο με συστατικά υγρό φτάσει σε επίπεδο υπερχείλισης, επιστρέφει μέσω του σιφωνίου στη σφαιρική φιάλη. Η διαδικασία εκτελείται συνεχώς και τερματίζεται όταν ολοκληρωθεί η παραλαβή των επιθυμητών συστατικών από το στερεό (Zygler et al., 2012).



Εικόνα 2-13. Τυπική διάταξη εκχυλιστήρα Soxhlet. Σημειώνεται η πορεία των ατμών του καθαρού διαλύτη (κίτρινο) και το εμπλουτισμένου με εκχυλισμένα συστατικά υγρού (ροζ).

Εκχύλιση με διαβροχή

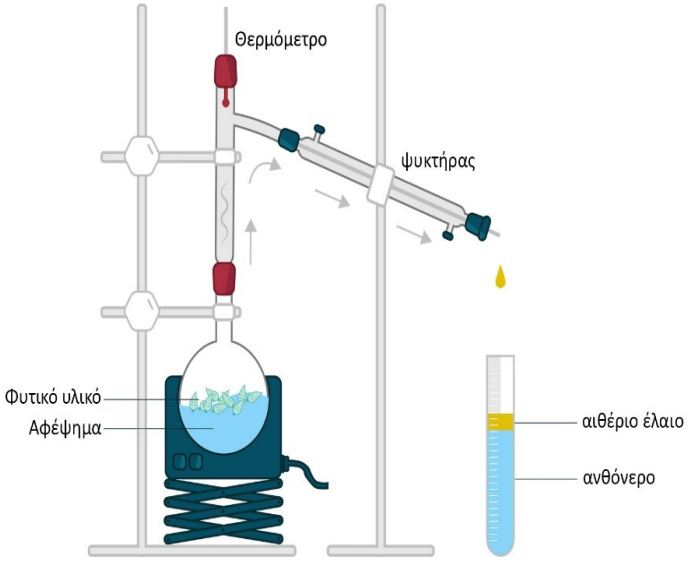
Η εκχύλιση με διαβροχή είναι ο ένας απλός και δημοφιλής τρόπος λήψης αιθέριων ελαίων και βιοδραστικών ενώσεων. Ποσότητα του προς εκχύλιση στερεού αναμιγνύεται σε δοχείο με κατάλληλο διαλύτη ώστε να παραληφθούν στον όγκο του διαλύτη τα επιθυμητά συστατικά. Συνήθως εφαρμόζεται ταυτόχρονη ανάδευση που προκαλεί α) ενίσχυση της διάχυση στους πόρους του στερεού και β) συνεχή αφαίρεση του εμπλουτισμένου με συστατικά διαλύματος από την επιφάνεια του στερεού ώστε να αντικαθίσταται με φρέσκο διαλύτη και να αυξάνεται η απόδοση. Το στερεό παραπροϊόν της διαδικασίας στραγγίζεται ώστε να παραληφθεί η μέγιστη δυνατή ποσότητα εκχυλίσματος και τέλος το εμπλουτισμένο υγρό διηθείται ώστε να απομακρυνθούν υπολειπόμενα στερεά σωματίδια. (Azmir et al., 2013).

Υδροαπόσταξη

Είναι μια μέθοδος που συνηθίζεται στην παραγωγή αιθερίων ελαίων. Χρησιμοποιούνται αποκλειστικά ανόργανοι διαλύτες (κυρίως νερό) και ενδείκνυται ως προεργασία για την ξήρανση ενός φυτικού υλικού. Υπάρχουν τρεις τύποι υδροαπόσταξης:

- απόσταξη νερού
- απόσταξη μίγματος νερού-ατμού και
- άμεση απόσταξη ατμού

Αρχικά, το φυτικό υλικό τοποθετείται σε ακίνητο φορέα μέσα σε στεγανό δοχείο στο οποίο προστίθεται νερό. Το νερό υποβάλλεται σε βρασμό και κινούμενο μέσω του φυτικού ιστού παρασύρει τα βιοδραστικά συστατικά. Το μίγμα ατμού-νερού-αιθερίου ελαίου συμπυκνώνεται σε ψυκτήρα και ρέει σε έναν διαχωριστή όπου απομακρύνεται το έλαιο. Η υδροαπόσταξη διέπεται από τρεις κύριες φυσικοχημικές διεργασίες: την υδροδιάχυση, την υδρόλυση και τη θερμική αποσύνθεση (Silva et al., 2005).



Εικόνα 2-14. Τυπική διάταξη υδροαπόσταξης (hydrodistillation)

Μη συμβατικές μέθοδοι εκχύλισης

Τα κύρια μειονεκτήματα των συμβατικών μεθόδων εκχύλισης είναι η χαμηλή ταχύτητα, η απαίτηση διαλυτών υψηλής καθαρότητας, η χαμηλή εκλεκτικότητα και σε περίπτωση θέρμανσης η πιθανή αποσύνθεση θερμοευαίσθητων συστατικών. Στοχεύοντας στην αντιμετώπιση αυτών των περιορισμών, αναπτύχθηκαν μεταγενέστερα εναλλακτικές, βελτιστοποιημένες μέθοδοι εκχύλισης οι βασικότερες εκ των οποίων παρουσιάζονται συνοπτικά παρακάτω.

Εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερήχους (UAE)

Οι υπέρηχοι είναι ένα είδος ηχητικών κυμάτων πέρα από την ανθρώπινη ακοή (20 kHz έως 100 MHz). Όπως κάθε κύμα, όταν διέρχονται από ένα μέσο εμφανίζουν συμπιέσεις και επεκτάσεις, προκαλώντας ένα φαινόμενο που ονομάζεται «σπηλαίωση». Η σπηλαίωση περιλαμβάνει την παραγωγή, ανάπτυξη και κατάρρευση φυσαλίδων, οι οποίες «δεσμεύουν» την κινητική ενέργεια των υπερήχων υπό μορφή θερμότητας και στη συνέχεια την απελευθερώνουν. Η υποβοήθηση από υπέρηχους στην εκχύλιση επιτρέπει ως εκ τούτου την επιταχυνόμενη διείσδυση του διαλύτη στους φυτικούς ιστούς και την αποτελεσματικότερη έκπλυση του περιεχομένου των ιστών λόγω καταστροφής των κυτταρικών τοιχωμάτων (Mason et al., 1996). Ορισμένα από τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι η μείωση του χρόνου εκχύλισης και της απαιτούμενης ενέργειας, η αποτελεσματικότερη ανάμιξη και η ταχύτερη μεταφορά ενέργειας.

Εκχύλιση σε παλμικό ηλεκτρικό πεδίο

Αρχή της μεθόδου είναι η καταστροφή της κυτταρικής μεμβράνης των ιστών για την αποτελεσματικότερη εκχύλιση των περιεχόμενων συστατικών. Η διπολική φύση των μορίων της μεμβράνης ευνοεί την ανάπτυξη ηλεκτρικού δυναμικού διαμέσω της, προκαλώντας το διαχωρισμό των μορίων που την απαρτίζουν και τελικά τη λύση της. Πολλές φορές εφαρμόζεται ως προεπεξεργασία σε φυτικά υλικά που υποβάλλονται σε συμβατική εκχύλιση, ώστε να μειωθεί η απαιτούμενη ενέργεια και να επιταχυνθεί η διαδικασία (Lopez et al., 2009).

Ενζυμικά υποβοηθούμενη εκχύλιση

Ορισμένες βιοδραστικές ουσίες μπορεί να είναι διασκορπισμένες στο κυτταρόπλασμα του φυτικού κυττάρου και να συγκρατούνται ισχυρά στο δίκτυο πολυσακχαριτών - λιγνίνης με δεσμούς υδρογόνου ή υδρόφοβους δεσμούς, μην μπορώντας να έλθουν σε επαφή με το διαλύτη ώστε να εκχυλιστούν. Η προεπεξεργασία με συγκεκριμένα ένζυμα όπως η κυτταρινάση, η α-αμυλάση και η πηκτινάση επιτρέπει τη λύση του κυττάρου και την υδρόλυση του δικτύου πολυσακχαριτών - λιπιδίων. Η μέθοδος αυτή βρίσκει εφαρμογή κυρίως στην εξαγωγή ελαίων από διάφορους σπόρους, διότι αποτελεί τη βέλτιστη εναλλακτική έναντι της εκχύλισης με οργανικούς διαλύτες (Puri et al.,2012).

Εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα (MAE)

Τα μικροκύματα είναι ταλαντευόμενα ηλεκτρομαγνητικά πεδία συχνοτήτων από 300 MHz έως 300 GHz, κάθετα μεταξύ τους όπως το ηλεκτρικό και το μαγνητικό πεδίο. Μέσω της έντονης αλληλεπίδρασής τους με τα πολικά μόρια, προκαλούν συγκρούσεις μεταξύ των μορίων των υλικών με ταυτόχρονη παραγωγή θερμότητας. Οι Cravattoa et al. (2008) έχουν καταγράψει ένα πλήθος πλεονεκτημάτων της εκχύλισης υποβοηθούμενης από υπέρηχους για την παραλαβή βιοδραστικών συστατικών, όπως την ταχύτερη θέρμανση του υλικού, τις μειωμένες απαιτήσεις σε εξοπλισμό και την αυξημένη απόδοση της διεργασίας. Θεωρείται μια «πράσινη» διεργασία, καθώς συμβάλλει στον περιορισμό της χρήσης οργανικών διαλυτών. Ενδεικτικά, οι Pan et al. (2003) εκχυλίζοντας φύλλα πράσινου τσαγιού για 4 λεπτά με υποβοήθηση υπερήχων κατέγραψαν υψηλότερη απόδοση σε βιοδραστικά συστατικά, από ότι είχε επιτευχθεί με οποιαδήποτε άλλη μέθοδο σε διάρκεια 20 ωρών (σε θερμοκρασία δωματίου).

Εκχύλιση με πεπιεσμένο υγρό (PLE)

Βασίζεται στη χρήση διαλύτη (συνήθως νερού) σε υψηλή πίεση, η οποία προκαλεί ισχυρές μεταβολές στις φυσικοχημικές ιδιότητές του, άρα και στις δυνατότητές του ως μέσο παραλαβής βιοδραστικών συστατικών. Για παράδειγμα, υπό συνθήκες υψηλής πίεσης το νερό δύναται να αποκτήσει διηλεκτρική σταθερά παραπλήσια της μεθανόλης, άρα να εκχυλίσει αποδοτικά λιγότερο πολικά συστατικά. Επιπλέον, η επιφανειακή τάση και το ιξώδες του μειώνονται αυξάνοντάς τη διαχυτότητά του. Η χρήση συνδυασμού υψηλής πίεσης και θερμοκρασίας μπορεί να εξασφαλίσει ταχύτατες εκχυλίσεις υψηλής εκλεκτικότητας ενός μεγάλου φάσματος ουσιών (Azmir et al., 2013).

Εκχύλιση με υπερκρίσιμο ρευστό (SFE)

Ως κρίσιμο σημείο μιας καθαρής ουσίας ορίζεται η υψηλότερη συνθήκη θερμοκρασίας και πίεσης στην οποία η ουσία μπορεί να βρεθεί σε ισορροπία υγρής – αέριας φάσης. Πέραν των συνθηκών αυτών εκτείνεται μια περιοχή στην οποία η ουσία έχει τη μορφή υπερκρίσιμου υγρού. Το υπερκρίσιμο υγρό είναι βαρύ σαν υγρό αλλά έχει τη διεισδυτικότητα ενός αερίου, με αποτέλεσμα να συμπεριφέρεται σαν εκλεκτικός και αποτελεσματικός διαλύτης. Ως υπερκρίσιμο ρευστό εκχύλισης χρησιμοποιείται συνήθως το CO_2 , παρέχοντας εκχυλίσματα υψηλής καθαρότητας, απηλλαγμένων από οργανικούς διαλύτες και ρυπαντές (Lang and Wai, 2001).

Διαλύτες εκχύλισης βιοδραστικών συστατικών

Η απόδοση της εκχύλισης (ειδικά όταν αναφερόμαστε σε κάποια συμβατική μέθοδο), εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την επιλογή του διαλύτη. Βασικό κριτήριο για την επιλογή του κατάλληλου διαλύτη, είναι η πολικότητα της ουσίας που στοχεύεται προς παραλαβή. Ο διαλύτης και η ουσία-στόχος θα πρέπει να διαθέτουν παραπλήσιες πολικότητες βάσει της αρχής «τα όμοια εκχυλίζουν τα όμοια». Πέραν τούτου όμως, υπάρχουν αρκετοί ακόμη παράγοντες που παίζουν ρόλο στην επιλογή του διαλύτη όπως είναι το οικονομικό και περιβαλλοντικό κόστος και η τοξικότητα για την ανθρώπινη υγεία (Azmir et al., 2013).

Οι Boeing et al. (2014) διαπίστωσαν υψηλότερες αποδόσεις στην εκχύλιση πολυφαινολών από είδη της οικογένειας των Ροδοειδών με χρήση μίγματος ακετόνης/νερού σε αναλογία 70:30, ενώ για την αποδοτικότερη εκχύλιση των ανθοκυανών κατέληξαν σε μίγμα μεθανόλης/νερού οξινισμένο με οξικό οξύ (αναλογία 70:29,5:0,5). Για την εκχύλιση φαινολικών συστατικών προτείνεται επίσης η αιθανόλη ως διαλύτης, είτε αυτούσια ή αναμεμιγμένη με νερό. Ο Πίνακας 2-3 παρουσιάζει τους βασικούς διαλύτες που χρησιμοποιούνται στην εκχύλιση φαινολικών συστατικών σε αντιστοίχιση με τις ομάδες πολυφαινολών για τις οποίες προτείνεται έκαστος.

Πίνακας 2-3. Συνήθεις διαλύτες που χρησιμοποιούνται στις εκχυλίσεις φαινολικών συστατικών και ομάδες πολυφαινολών για τις οποίες ενδείκνυται ο καθένας. Πηγή: Azmir et al., 2013

Νερό	Αιθανόλη	Μεθανόλη	Χλωροφόρμιο	Ακετόνη
Ανθοκυάνες Ταννίνες	Ταννίνες Ολικές φαινόλες Φλαβονόλες	Ανθοκυάνες Ταννίνες Φλαβόνες Ολικές φαινόλες	Φλαβονοειδή	Φλαβονοειδή

2.4 Φαινολικά συστατικά στα εκχυλίσματα και τα προϊόντα αρώνιας

Όπως έχει αναφερθεί και σε προηγούμενες ενότητες, τα μούρα της αρώνιας είναι μία από τις πλουσιότερες πηγές πολυφαινολών. Για το λόγο αυτό, έχει μελετηθεί από αρκετές ερευνητικές ομάδες η βελτιστοποίηση των συνθηκών εκχύλισης του καρπού για τη μεγιστοποίηση της απόδοσης σε ολικά φαινολικά συστατικά και κυρίως σε ανθοκυάνες, που είναι και τα πολυτιμότερα συστατικά της.

Οι Rop et al. (2010) πραγματοποίησαν εκχυλίσεις διαφορετικών ποικιλιών φρέσκου καρπού αρώνιας με σκοπό το χαρακτηρισμό τους ως προς τα φαινολικά συστατικά τους (3 διαδοχικές εκχυλίσεις με μεθανόλη, αναλογία 1:10 w/v, απλή ανάδευση). Παρέλαβαν 7,78 – 12,85 g_{GAE}/kg_{FW} ολικών πολυφαινολών, ενώ προσδιόρισαν την αντιριζική ικανότητα ίση με 8,89 – 15,96 g_{AAE}/kg_{FW}. Επιπλέον, προσδιόρισαν τη συγκέντρωση του 3-*O*-γαλακτοζίτη της κυανιδίνης ίση με 941,82 – 1553,29 mg/kg_{FW}, της (-) επικατεχίνης ίση με 467,35 – 862,50 mg/kg_{FW}, του χλωρογενικού οξέος ίση με 1131,15 mg/kg_{FW} και του νεοχλωρογενικού οξέος ίση με 845,04 mg/kg_{FW}.

Λίγο αργότερα, οι Kapci et al. (2013) πραγματοποίησαν εκχυλίσεις φρέσκου καρπού αρώνιας αλλά και διαφόρων παραγώγων της (αποξηραμένος καρπός, φυσικός χυμός, πυρήνας χυμοποίησης κ.α.). Για την παραλαβή της μέγιστης ποσότητας πολυφαινολών, τα δείγματα εκχυλίστηκαν 4 φορές διαδοχικά, με διάλυμα νερού/μεθανόλης (αναλογία 3:1) οξινισμένου κατά 0,1% v/v με μυρμηκικό οξύ και υποβοήθηση υπερήχων. Ο φρέσκος καρπός της αρώνιας διαπίστωσαν ότι περιείχε 13,3 g_{GAE}/kg_{FW} ολικών πολυφαινολών και αντιριζική ικανότητα ίση με 11 g_{TE}/kg_{FW}. Ακόμη, προσδιόρισαν την συγκέντρωση των ανθοκυανών ίση με 4,5 g_{CGE}/kg_{FW} και των ολικών φλαβονοειδών ίση με 5,3 g_{CE}/kg_{FW}. Για το φυσικό χυμό οι αντίστοιχες τιμές ήταν 6,6 g_{GAE}/kg_{FW}, 5,7 g_{TE}/kg_{FW}, 0,7 g_{CGE}/kg_{FW}, 2,7 g_{CE}/kg_{FW}, για τον αποξηραμένο καρπό 39,9 g_{GAE}/kg_{FW}, 36,3 g_{TE}/kg_{FW}, 3,1 g_{CGE}/kg_{FW}, 19,9 g_{CE}/kg_{FW}.και για τον πυρήνα χυμοποίησης 63,1 g_{GAE}/kg_{FW}, 25,2 g_{TE}/kg_{FW}, 10 g_{CGE}/kg_{FW}, 9,3 g_{CE}/kg_{FW}.

Οι Jakobek et al. (2007) παρασκεύασαν εργαστηριακά φυσικό χυμό αρώνιας από φρέσκο καρπό και αφού αναλύθηκε με κατάλληλες μεθόδους βρέθηκε ότι περιείχε 9154 mg_{GAE}/L ολικών πολυφαινολών, αντιριζική ικανότητα ίση με 72,44 $mmol_{TE}/L$ και 3042 mg_{CGE}/L ολικές ανθοκυάνες. Συμπληρωματικά, προσδιορίσθηκαν οι συγκεντρώσεις των επιμέρους ανθοκυανών: 1816 mg_{CGE}/L 3-*O*-γαλακτοζίτη της κυανιδίνης, 74,3 mg_{CGE}/L 3-*O*-γλυκοζίτη της κυανιδίνης, 647 mg_{CGE}/L 3-*O*-αραβινοζίτη της κυανιδίνης και 99,8 mg_{CGE}/L 3-*O*-ξυλοζίτη της κυανιδίνης.

Οι Samoticha et al. (2015) μελέτησαν πειραματικά την ξήρανση των καρπών και συνέκριναν το περιεχόμενο μεταξύ αποξηραμένων – με διαφορετική μέθοδο – καρπών, σε πολυφαινόλες και ανθοκυάνες. Για την παραλαβή των πολυφαινολών, εκχύλισαν με απλή ανάδευση τα δείγματα σε διάλυμα νερού-αιθανόλης (αναλογία 80:20) οξινισμένο κατά 1% με HCL. Σε αντίθεση με το φρέσκο καρπό που διέθετε 8008 $mg_{GAE}/100g_{DW}$ ολικές πολυφαινόλες και 3917 $mg/100g_{DW}$ ανθοκυάνες, ο αποξηραμένος με θερμό αέρα (60°C) καρπός περιείχε 5223 $mg_{GAE}/100g_{DW}$ και 781 $mg/100g_{DW}$, ενώ ο αποξηραμένος με κατάψυξη καρπός περιέιχε 7265 $mg_{GAE}/100g_{DW}$ και 2227 $mg/100g_{DW}$ αντίστοιχα.

Όπως παρατηρούμε από τα αποτελέσματά τους, η ξήρανση με συμβατική θέρμανση υποβάθμισε αρκετά το αρχικό προϊόν, ενώ η ξήρανση με κατάψυξη διατήρησε τις ολικές πολυφαινόλες σε υψηλό βαθμό και τις ανθοκυάνες σχεδόν κατά το ήμισυ.

Τέλος, οι Wangensteen et al. (2014) προσδιόρισαν το περιεχόμενο τεσσάρων ποικιλιών αρώνιας σε ανθοκυάνες, προανθοκυανιδίνες και ολικές πολυφαινόλες, εκχυλίζοντας με απλή ανάδευση ποσότητα τεμαχισμένων καρπών που είχαν προηγουμένως υποβάλει σε ξήρανση με κατάψυξη. Ως διαλύτη χρησιμοποίησαν μεθανόλη οξινισμένη κατά 0,5 % με TFA (Trifluoroacetic acid) και κάθε δείγμα εκχυλίστηκε 4 διαδοχικές φορές. Από τις αναλύσεις τους, προέκυψε ότι οι καρποί περιείχαν 1079 – 2996 $mg_{GAE}/100g_{FW}$ πολυφαινόλες, 2,46 – 4,79 $g_{PCB2}/100g_{FW}$ προανθοκυανιδίνες και 252 – 737 $mg_{CGalE}/100g_{FW}$ ανθοκυάνες. Πιο αναλυτικά, ανιχνεύθηκαν 168 – 497 $mg_{GAE}/100g_{FW}$ 3-*O*-γαλακτοζίτη της κυανιδίνης, TR – 4,7 $mg_{GAE}/100g_{FW}$ 3-*O*-γλυκοζίτη της κυανιδίνης, 83 – 236 $mg_{GAE}/100g_{FW}$ 3-*O*-αραβινοζίτη της κυανιδίνης και TR – 12 $mg_{GAE}/100g_{FW}$ 3-*O*-ξυλοζίτη της κυανιδίνης.

Στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 2-4) παρουσιάζονται ευρήματα πειραματικών αναλύσεων διαφόρων ερευνητικών ομάδων όσον αφορά την περιεκτικότητα της αρώνιας και τριών προϊόντων της (αποξηραμένος καρπός, φυσικός χυμός, πυρήνας χυμοποίησης) σε ολικές πολυφαινόλες, αντιριζική ικανότητα και επιμέρους φαινολικές ομάδες

Πίνακας 2-4. Περιεχόμενο φρέσκου καρπού και προϊόντων αρώνιας όπως έχει προσδιορισθεί από άλλες ερευνητικές ομάδες. Παρατίθενται παραπομπές (μπλε υποδείξεις εντός αγκυλών) που υποδεικνύουν την βιβλιογραφική πηγή από την οποία αντλήθηκε κάθε τιμή.

	Φρέσκος καρπός	Αποξηραμένος καρπός	Φυσικός χυμός	Πυρήνας χυμοποίησης
Total Polyphenols (TPC) $mg_{GAE}/100g_{FW}$ *GAE = Gallic Acid Equivalents* *FW = fresh weight*	778 - 1285 [79] 1330 [39] 8008[1] [80] 1079 - 2996 [105] 1845 - 2340 [59] 778 - 1285 [79]	3990 [39] 5223[1] [80] 4954 - 7265[1] [80] 1954 - 2466[1] [98]	660 [39] 915[2] [35] 675 - 755[2] [29] 273 - 1035[2] [88]	6310 [39] 3100 - 6300[3] [51]
Total Antiradical Capacity (TAC) $mg_{TE}/100g_{FW}$ *TE = Trolox Equivalents*	889 - 1596[4] [79] 1100 [39]	3630 [39]	570 [39]	2520 [39]
Total anthocyanins $mg_{CGalE}/100g_{FW}$ *CGalE = Cyanidin-Galactoside Equivalents*	450[5] [39] 252 - 737 [105] 620 - 670[5] [51] 357[5] [23] 249 - 447 [105]	310[5] [39] 7816 [39]	70[5] [39] 304[7] [35] 63,9 - 98,7[8] [100] 2,8 - 45,2[9] [29] 37,3[10] [70]	1000[5] [39] 738 - 1221[8] [100] 114 - 186[8] [100] 119 - 195 [51]
Cyanidin-3-*O*-galactoside	889 - 1596[4] [79] 168 - 497[11] [105] 417 - 636[8] [59] 101 - 120[8] [79] 292 [39] 410 - 440 [51] 989 [109]	47,5 - 92,8 mg [39]	181[7] [35] 28,6 - 44,1 [39] 40,1 - 60,3[8] [100] 702-1451[6] [62] 107,6[8] [80]	437,2 - 754[8] [100] 68 - 114[8] [100] 76 - 125 [51] 460 [39]
Cyanidin-3-*O*-glucoside	TR - 4,7[11] [105] 7,8 - 27,2[8] [59] 12,7[8] [39]	1,93 - 6,0[8] [39] 6,1-49,1[12] [96]	7,43[7] [35] 1,52 - 1,99[8] [39] 2,9 - 4,8[8] [100]	23,7[8] [39] 33,9 - 52[8] [100] 5,1 - 7,9[8] [100]

	8 - 9[8] [51] 7,66[8] [23] 20[8] [102]		0,3 - 2,0[9] [29] 0,72[9] [40] 0,44[9] [89]	24 - 44[8] [51]
Cyanidin-3-O-arabinoside	83 - 236[11] [105] 128 - 299[8] [59] 94,1 - 155,3[8] [79] 135,9 [39] 190 - 210 [51] 581[12] [63]	18,6-47,7[12] [39]	64,7[7] [35] 11,7 - 17,2 [39] 16,9 - 27,7[8] [100] 248 - 554[6] [62] 2,88 - 4,85[10] [12] 10,1[10] [99]	165,1 [39] 217,5 - 366,7[8] [100] 36 - 55,8[8] [100]
Cyanidin-3-O-xyloside	TR - 12[11] [105] 29,2 - 38,2[8] [59] 16,5[5] [39] 13 - 14 [51] 52,71[12] [63]	2,18-6,25 [39]	9,98[5] [35] 1,47 - 1,93 [39] 0,37 - 0,58[8] [51] 8 - 38[9] [104] 0,59[10] [106]	22,3 [39] 36,7 - 63,3 [100] 105[12] [63]
Pelargonidin-3-arabinoside	2,3 [109] 5,04[13] [102]			
Eriodictyol-glucuronide	22,11 - 26,43[8] [85]		19,24 - 28,97[6] [62]	
Total proanthocyanidins mg$_{CE}$/100g$_{FW}$ *CE = Catechin Equivalents*	2460 - 4790[14] [105] 800 - 1780 [51] 845,2 [107] 925 - 1350[15] [92]		60 - 72[16] [29] 352,9[17] [61] 24[17] [99] 312[10] [89]	524,2 [107]
Flavan-3-ols oligomers	326,55[6] [95]			
Flavan-3-ols polymers	3816[6] [95]			
(-) epicatechin	46,7 - 86,2[8] [79] 15,76 - 32,18[8] [85] 0,12[8] [23] 15,04[6] [63]		12,71[6] [63] 213,6 - 235,3[6] [62] 1,48[10] [42]	11,41[6] [63]
(-) catechin			87,7 - 107,2[6] [62]	
Total phenolic acids mg$_{ChAE}$/100g$_{FW}$ *ChAE = Chlorogenic acid Equivalents*	121,9 [60] 63,9 [23] 669,03[6] [95]		45 - 59 [51] 48,9 - 77,9 [107]	72 - 82 [51]
Chlorogenic acid	113,1 [79] 72 - 96 [59] 69 - 74 [51] 65,42 [60]	360 - 460[6] [95]	20 - 30 [51] 470 - 642[6] [62]	42 - 50 [51]
Neochlorogenic acid	84,5 [79] 59,3 - 79,1 [59] 56,51 [60] 216 - 654[6] [92] 123 [86]	182[6] [78]	21 - 29 [51] 65 - 80[10] [29] 32,3 - 44,2[10] [88]	169,2[6] [63]
Caffeic acid	0,13 [23] 3,96[6] [90]		0,12 - 0,18[10] [71]	
Protocatechuic acid	0,77[8] [23] 8,3 - 13,0[8] [50]		2,49 - 5,74[10] [88] 1,43[10] [69]	

Cryptochlorogenic acid	2,22[18] [23]	17 [99]	3,45 - 8,65[19] [88]	
Gallic acid		3,45[6] [53]	4[10] [108]	
Vanillic acid	0,37[8] [90]	7 - 9[6] [96]		
p-Coumaric acid	0,02[8] [23]	7,33[6] [53]		
Cinnamic acid	ND - 0,90[8] [50]			
Dicaffeoylquinic acid	3,74[8] [97]			
Ferulic acid	0,01[8] [23] 1,9 - 2,8[8] [50]		1,99[10] [101]	
Salicylic acid	15,6[6] [92]			
Syringic acid	4,16[6] [90]			
Ellagic acid	1,57[8] [23]			
Total Flavonols $mg_{QRE}/100g_{FW}$ *QRE = Quercetin-rutinoside Equivalents*	19,2 - 40,8[8] [33] 21,2[8] [60] 273[6] [95] 71 [86] 76,4[8] [35]		16,5 - 21,3[8] [107]	16,7[8] [107]
Quercetin-3-*O*-galactoside (Hyperoside)	6,6 - 9,9[8] [59] 8,31[8] [60] 9,91 - 14,75 [85] 36,98[20] [63] 32,0 - 55,8[6] [92] 28,3[21] [94]	31[21] [78]	6,77 - 16,46[6] [62] 4,1 - 5,7 [107] 9,7[10] [99] 2,83[22] [42]	47,44[20] [63]
Quercetin-3-*O*-glucoside (Isoquercitrin)	4,4 - 11,3[8] [59] 4,03[8] [60] 7,7 - 8,87 [85] 21,64[22] [63] 4,38[21] [52]	22[8] [78]	7,08 - 13,54[6] [62] 31,24[20] [63] 2,14[10] [19] 5,3[10] [99]	26,5[20] [63] 3,6 [107]
Quercetin-3-*O*-rutinoside (Rutin)	5,50 - 6,27[8] [59] 5,51[8] [60] 15,1[6] [63] 4,24[21] [52] 15,8 - 18,9[6] [92]	8-10[6] [96]	4,29 - 8,98[8] [62] 27,53[6] [63] 7,09[10] [19] 19,4[10] [99]	13,55[6] [63] 1,7[8] [107]
Quercetin-3-*O*-robinobioside	1,1 - 11,3[8] [59] 1,03[8] [60] 5,42 - 5,76 [85] 2,96[21] [52]		4,94 - 10,75[6] [62] 1,6 - 2,1 [107] 1,17[22] [42]	1,4 [107]
Quercetin-dihexoside	3,33[21] [52] 5,67[8] [97] 4,4 [107]		2,89 - 6,36[6] [62] 2,3 - 3,3 [107]	2,3 [107]
Quercetin-3-*O*-glucuronide (Miquelianin)	0,56[21] [52]			
Quercetin-3-*O*-vicianoside (Peltatoside)	2,6 - 4,3[8] [59] 2,36[8] [60] 3,84 - 5,41 [85]		1,95 - 5,50[6] [62] 2,5 - 3,1 [107] 1,15[22] [42]	1,9 [107]
Quercetin-3-*O*-xyloside	0,40[23] [23] 1,5[21] [52]			
Quercetin-arabinoglucoside	6,63[8] [97]			
Quercetin	0,21[8] [23]	42,28[6] [53]	0,19 - 0,40[8] [107]	0,66[8] [107]

	7,11[8] [35] 0,03 - 1,74 [33]		0,17 - 2,27[10] [88] 0,027[22] [70]	
Quercetin-3-*O*-glucoside	1,52[8] [97]			
Quercetin-diglucoside	9,21[23] [23]			
Kaempferol-3-O-galactoside	0,054[24] [52]			
Isorhamnetin-3-O-galactoside	0,12[25] [52]			
Isorhamnetin pentoside hexoside	1,16[8] [97]			
Isorhamnetin 3-O-rutinoside	0,83[8] [97]			
Myricetin-3-O-galactoside	0,055[26] [52]			
Myricetin-3-O-glucoside	0,020[26] [52]			
Quercetin-3-O-arabinopyranoside	0,5[21] [52]			
	3,1[8] [97]			
Kaempferol	0,53[8] [35]	1,12[6] [53]		
Kaempferol-3-O-glucoside (Astragalin)	0,38[8] [97]			
Kaempferol-galactoside	0,40[24] [23]			

[1]$mg_{GAE}/100g_{DW}$, [2]$mg_{GAE}/100mL$, [3]$mg_{CE}/100g_{FW}$ (CE = Catechin Equivalents), [4]$mg_{AAE}/100g_{FW}$ (AAE = Ascorbic Acid Equivalents), [5]$mg_{CGE}/100g_{FW}$ (CGE = Cyanidin-galactoside Equivalents), [6]$mg/100g_{DW}$, [7]$mg_{CGE}/100mL$,[8]$mg/100g_{FW}$, [9]$mg_{CGalE}/100mL$, [10]$mg/100mL$, [11]$mg_{GAE}/100g_{FW}$, [12]$mg_{CGalE}/100g_{DW}$,[13]$mg_{PE}/100g_{FW}$ (PE = Pelargodin Equivalents), [14]$mg_{PCB2E}/100g_{FW}$ (PCB2E = Procyanidin B2 Equivalents), [15]$mg_{CE}/100g_{DW}$, [16]$mg_{CyE}/100mL$ (CyE = Cyanidin Equivalents), [17]$mg_{CE}/100mL$, [18]$mg_{NChAE}/100g_{FW}$, [19]$mg_{NChAE}/100mL$, [20]$mg_{QRE}/100g_{DW}$, [21]$mg_{QGalE}/100g_{FW}$ (QGalE = Quercetin-galactoside Equivalents), [22]$mg_{QRE}/100mL$ (QRE = Quercetin Rutinoside Equivalents), [23]$mg_{QE}/100g_{FW}$ (QE = Quercetin Equivalents), [24]$mg_{KE}/100g_{FW}$ (KE = Kaempferol Equivalents), [25]$mg_{IE}/100g_{FW}$ (IE = Isorhamnetin Equivalents), [26]$mg_{ME}/100g_{FW}$ (ME =Myricetin Equivalents). FW = Fresh weight, DW = Dry weight, TR = Traces, ND = Not detected

2.5. Παραγωγή φυσικών χρωστικών με μικροεγκλεισμό

Τα χρωστικά πρόσθετα στα τρόφιμα

Οι χρωστικές είναι ουσίες με έντονο χρώμα που μπορούν να ανακτηθούν από φυσικές πηγές ή να συντεθούν χημικά. Αξιοποιούνται ιδιαίτερα στη βιομηχανία τροφίμων (αλλά και σε άλλους τομείς), καθώς μπορούν να βελτιστοποιήσουν την οπτική αξία του προϊόντος, άρα και την τιμή του στην αγορά.

Ως φυσική χρωστική ορίζεται μία ουσία που συντίθεται και αναπτύσσεται σε κύτταρα φυτών, ασπόνδυλων, μυκήτων ή μικροοργανισμών. Οι περισσότερες φυσικές χρωστικές παραλαμβάνονται με εκχύλιση από φυτικούς ιστούς και πιο συγκεκριμένα από τα άνθη, τους καρπούς ή τις ρίζες. Η σταθερότητα, η διαλυτότητα και η ένταση του χρώματος των φυσικών χρωστικών μπορεί να τροποποιηθεί με κατάλληλες μεθόδους επεξεργασίας (Houghton and Hendry, 2012).

Η χρήση των φυσικών χρωστικών ωστόσο, συνοδεύεται από αρκετούς περιορισμούς όπως την αυξομειούμενη διαθεσιμότητα των πρώτων υλών, τη χαμηλή απόδοση χρώσης, τον πεπερασμένο αριθμό χρωμάτων που μπορούν να παρέχουν, τις υψηλές απαιτήσεις σε χρόνο και κόστος παραγωγής αλλά και την ευαισθησία τους στην υποβάθμιση. Για το λόγο αυτό, ήδη από το 18^{ο} αιώνα αναπτύχθηκαν τεχνολογίες παραγωγής συνθετικών χρωστικών, οι οποίες πολύ γρήγορα αντικατέστησαν τα φυσικά παρασκευάσματα, καθώς ήταν φθηνότερες, παρείχαν εντονότερα χρώματα που δεν ξεθώριαζαν και παρουσίαζαν πολύ καλύτερη αναπαραγωγισιμότητα στις αποχρώσεις τους.

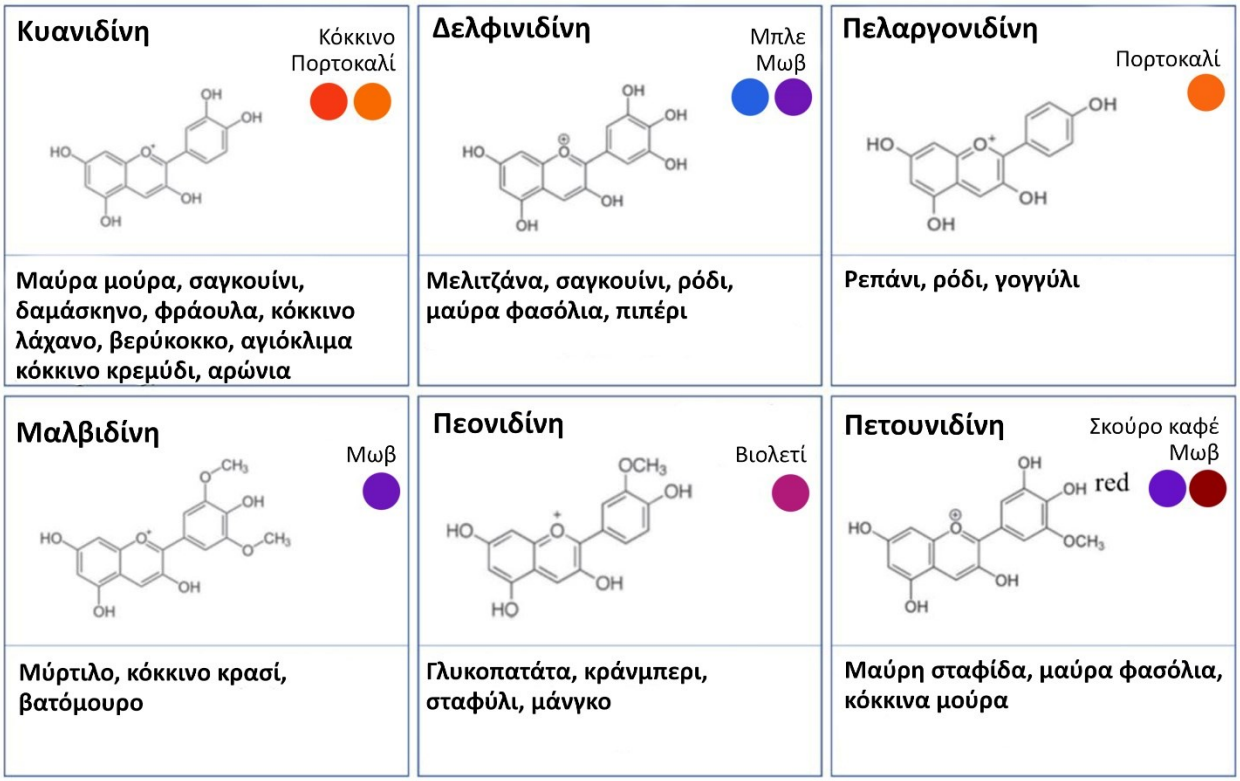
Πολύ γρήγορα όμως το ενδιαφέρον στράφηκε και πάλι στις φυσικές χρωστικές καθώς αρκετά συνθετικά προϊόντα διαπιστώθηκαν τοξικά για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον. Έτσι, αναπτύχθηκαν νέες τεχνολογίες παραγωγής φυσικών χρωστικών στη βιομηχανία τροφίμων, καθώς πέρα από τη δεδομένη περιβαλλοντική βιωσιμότητα και την ασφάλεια κατά την κατανάλωσή τους, μπορούν να παρέχουν επιπλέον οφέλη. Ενδεικτικά, πολλά πρόσθετα τροφίμων που χρησιμοποιούνται για τη χρώση τους δρουν επίσης ως αντιοξειδωτικά αλλά και ως συντηρητικά (Martins et al., 2016).

Οι ενώσεις που χρησιμοποιούνται σήμερα στη βιομηχανία τροφίμων ως φυσικές χρωστικές είναι οι ανθοκυάνες, οι βεταλαΐνες, οι χλωροφύλλες, τα καροτενοειδή, οι κινόνες κ.α.

Εικόνα 2-15. Φυσικές χρωστικές μπορούν να απομονωθούν από ένα πλήθος διαφορετικών φυτικών ιστών. Για παράδειγμα τα καροτενοειδή μπορούν να παραληφθούν από καρότα, γκρέιπφρουτ, πορτοκάλια,

Οι ανθοκυάνες ως φυσικές χρωστικές

Η μελέτη των ανθοκυανών και η αξιοποίησή τους ως χρωστικά πρόσθετα στα τρόφιμα, τα τελευταία χρόνια έχει κερδίσει ιδιαίτερα το ενδιαφέρον, καθώς μπορούν να συμβάλλουν όχι μόνο στην αισθητική ποιότητα του τροφίμου αλλά και στη θρεπτική του αξία, λόγω των ισχυρών αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων που διαθέτουν. Τα προϊόντα χρώσης που παράγονται από εκχυλίσματα ανθοκυανών μπορούν να βρεθούν με τη μορφή υγρών συμπυκνωμάτων ή σκόνης. Περισσότερο διαδεδομένα ωστόσο, είναι τα προϊόντα σκόνης καθώς περιέχουν ενθυλακωμένες τις ανθοκυάνες σε πολυμερή-φορείς, πράγμα που σημαίνει ότι παραμένουν σε σταθερές, προστατευμένες δομές που ευνοούν τη διατήρησή τους.



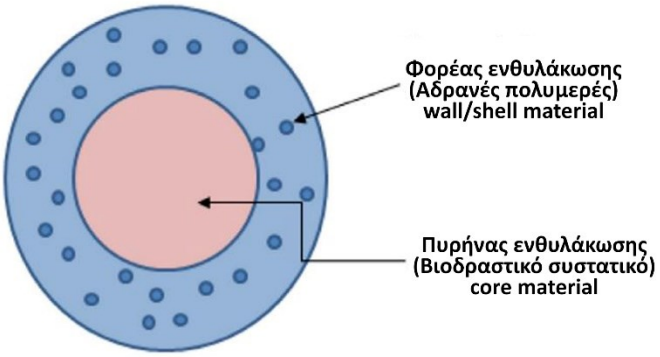
Εικόνα 2-16. Οι κύριες ανθοκυάνες, τα χρώματα που αποδίδουν και οι βασικές πηγές ανάκτησής τους.

Ενθυλάκωση ανθοκυανών

Η έννοια της ενθυλάκωσης

Η ενθυλάκωση συστατικών αναπτύχθηκε αρχικά στη φαρμακοβιομηχανία, ως τρόπος ελέγχου ή/και τροποποίησης της απελευθέρωσης της δραστικής ουσίας. Αργότερα επεκτάθηκε και στη βιομηχανία τροφίμων ως τρόπος ελέγχου της απελευθέρωσης των αρτυμάτων σε ένα τρόφιμο αλλά και ως τρόπος προσθήκης ενεργών συστατικών στα τρόφιμα (πχ προβιοτικά, βιοδραστικές ουσίες) (Kuang et al., 2010). Σήμερα, οι τεχνικές ενθυλάκωσης στη βιομηχανία τροφίμων εφαρμόζονται κυρίως στην παραγωγή αρωματικών προσθέτων, μπαχαρικών και χρωστικών.

Ως ενθυλάκωση ορίζεται η διεργασία κατά την οποία ένα συστατικό επικαλύπτεται με έναν φορέα ενθυλάκωσης (συνήθως αδρανές, πολυμερές υλικό) σε μορφή μικρο-/νανοσωματιδίων. Τα παραγόμενα σωματίδια (κάψουλες) έχουν την ικανότητα να διατηρούν προστατευμένο από το περιβάλλον το συστατικό στο εσωτερικό τους (πυρήνας – core material), το οποίο δύναται να είναι στερεό, υγρό ή αέριο. Οι κάψουλες μπορούν να απελευθερώσουν το περιεχόμενό τους παρουσία συγκεκριμένων συνθηκών ή ενεργοποιητών. Η επεξεργασία αυτή εφαρμόζεται για να επιβραδύνει το ρυθμό υποβάθμισης ενός προϊόντος λόγω έκθεσής του στο περιβάλλον ή/και να καταστίσει δυνατή την ελεγχόμενη απελευθέρωσή του. Αξιοποιείται εκτεταμένα στη σταθεροποίηση και συντήρηση βιοενεργών συστατικών, παρατείνοντας το χρόνο ζωής τους και διατηρώντας τη δραστικότητά τους. Βασικό ρόλο στην απόδοση της διεργασίας και τη σταθερότητα του προϊόντος της παίζει η επιλογή του φορέα ενθυλάκωσης, ο οποίος λειτουργεί παρεμποδιστικά ως προς την επαφή του πυρήνα με το περιβάλλον και τον προφυλάσσει από το οξυγόνο, την υγρασία, το φως αλλά και την αλληλεπίδρασή



Εικόνα 2-17. Μορφολογία μικροκάψουλας

του με άλλες ουσίες.

Φορείς ενθυλάκωσης

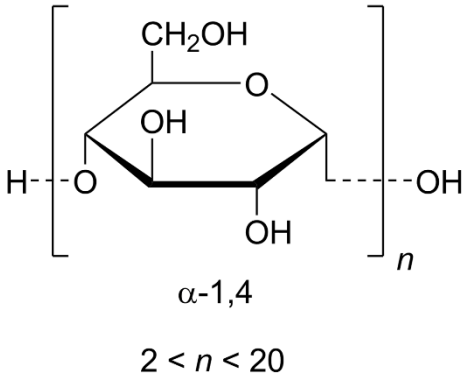
Η επιλογή του κατάλληλου φορέα ενθυλάκωσης είναι ζωτικής σημασίας για την ποιότητα του παραγόμενου προϊόντος, όπως προαναφέρθηκε. Εν προκειμένω, για την παραγωγή χρωστικής, θα πρέπει να ληφθεί επιπλέον υπόψιν η ικανότητα του υλικού να διατηρήσει το χρώμα του συστατικού κατά την ολοκλήρωση της διεργασίας. Σύμφωνα με τους Desai & Jin Park (2005), κάθε υλικό υποψήφιο να χρησιμοποιηθεί ως φορέας θα πρέπει να διαθέτει τα εξής χαρακτηριστικά:

1. Χαμηλό ιξώδες ακόμη και σε υψηλές συγκεντρώσεις
2. Χημική αδράνεια με το συστατικό του πυρήνα
3. Διατήρηση του πυρήνα στο εσωτερικό του πλέγματός του κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης
4. Δυνατότητα πλήρους απελευθέρωσης του διαλύτη ή άλλων υλικών (πέραν του πυρήνα) που μπορεί να έχουν χρησιμοποιηθεί κατά την ενθυλάκωση
5. Μέγιστη προστασία του πυρήνα από την επαφή του με το περιβάλλον
6. Χαμηλή τιμή
7. Έγκριση από το νόμο σχετικά με την καταλληλότητά του για κατανάλωση
8. Παροχή σε επαρκείς ποσότητες και σταθερή ποιότητα στην αγορά

Για το μικροεγκλεισμό υδατοδιαλυτών βιοδραστικών συστατικών μέσω ξήρανσης με ψεκασμό χρησιμοποιούνται ως φορείς (wall materials), υλικά που μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις βασικές κατηγορίες: Υδατάνθρακες, πρωτεΐνες γάλακτος και συνθετικά βιοπολυμερή (Jafari et al., 2008, Ge et al., 2009). Εν προκειμένω, για την ενθυλάκωση των ανθοκυανών προτείνεται μια πληθώρα φορέων με βασικότερους τους: μαλτοδεξτρίνη, αραβικό κόμμι, ινουλίνη, άμυλο ταπιόκας, φυτικές ίνες εσπεριδοειδών, σιρόπι γλυκόζης, πρωτεΐνη σόγιας και πρωτεΐνες ορού γάλακτος (Mahdavi et al., 2014).

Μαλτοδεξτρίνη

Η μαλτοδεξτρίνη είναι μερικώς υδρολυμένο παράγωγο του αμύλου με περιεκτικότητα σε αναγωγικά σάκχαρα κάτω από 20 DE (Dextrose Equivalents – Ισοδύναμα δεξτρόζης). Η τιμή DE της μαλτοδεξτρίνης συσχετίζεται με την προστατευτική της ισχύ. Τα πλέγματα με μεγαλύτερες τιμές DE παρουσιάζουν υψηλότερη απόδοση ενθυλάκωσης και είναι λιγότερο επηρρεπή στο οξυγόνο. Η μαλτοδεξτρίνη είναι ένα υλικό σχετικά φθηνό, ήπιο σε γεύση, εξαιρετικά υδατοδιαλυτό, εύπεπτο και άχρωμο. Οι Vidovic et al. (2019) μελέτησαν την ενθυλάκωση φαινολικών συστατικών από εκχυλίσματα αρώνιας με διάφορους φορείς (και συνδυασμούς) και διαπίστωσαν ότι η μαλτοδεξτρίνη με DE = 19,7 παρείχε το προϊόν με τα βέλτιστα χαρακτηριστικά.



Εικόνα 2-18. Μαλτοδεξτρίνη

Αραβικό κόμμι

Το αραβικό κόμμι είναι ένα πολύπλοκο μίγμα πολυσακχαριτών και γλυκοπρωτεϊνών. Αποτελεί ένα φυσικό κόμμι που προέρχεται από τα αποξηραμένα εκκρίματα των μίσχων και των κλαδιών του φυτού Ακακία. Χρησιμοποιείται εκτεταμένα στην ενθυλάκωση αρωμάτων και χρωστικών και προτιμάται για την ενθυλάκωση λιπόφιλων ενώσεων, λόγω της εξαιρετικής γαλακτωματοποιητικής του ικανότητας. Είναι άοσμο, άχρωμο, άγευστο και διαθέτει υψηλή διαλυτότητα στο νερό. Επιπλέον έχει βρεθεί ότι δρα κατασταλτικά ως προς τη συσσωμάτωση των σακχάρων (καραμελοποίηση) που μπορεί να περιέχονται στον πυρήνα και ευνοεί την παραγωγή μη κολλωδών κόνεων, ευκολότερων στο χειρισμό (Mosquera et al., 2012). Στον αντίποδα, αποτελεί ένα φυσικό υλικό για αυτό μπορεί να εμφανίζει μεταβολές στις ιδιότητές του και επιπλέον η τιμή του είναι υψηλότερη από αυτήν της μαλτοδεξτρίνης.

Ινουλίνη

Είναι ένας πολυσακχαρίτης αποτελούμενος από μονομερή φρουκτόζης. Έχει εντοπισθεί σε πάνω από 30,000 είδη φυτών, ωστόσο η κύρια πηγή ανάκτησής του στη βιομηχανία είναι τα ραδίκια. Το πλεονέκτημά της είναι η πολύ χαμηλή θερμιδική της αξία (Dobre et al., 2008).

Πολυδεξτρόζη

Είναι ένας μη εύπεπτος πολυσακχαρίτης, γνωστός και ως πολύ-d-γλυκόζη, που χρησιμοποιείται ως εναλλακτικός φορέας ενθυλάκωσης. Είναι ένα συνθετικό, υδατοδιαλυτό πολυμερές με χαμηλή θερμιδική αξία και βαθμό πολυμερισμού περίπου 10 μονάδες γλυκόζης. Λαμβάνεται μέσω θερμικού πολυμερισμού της d-γλυκόζης παρουσία σορβιτόλης και φωσφορικού οξέος (Rigon & Zapata Norena, 2015).

Κόμμι Μεσκίτ

Είναι ένα φυσικό έκκριμα που λαμβάνεται από τα φυτά Μεσκίτ (μικρά οσπριοφόρα δέντρα του γένους Prosopis) και αποτελεί ουδέτερο άλας ενός πολύπλοκου, διακλαδισμένου όξινου πολυσακχαρίτη. Περιέχει επίσης μικρή ποσότητα πρωτεϊνών (0,7 – 5,8 %) (Jimenez-Aguilar el al., 2011)

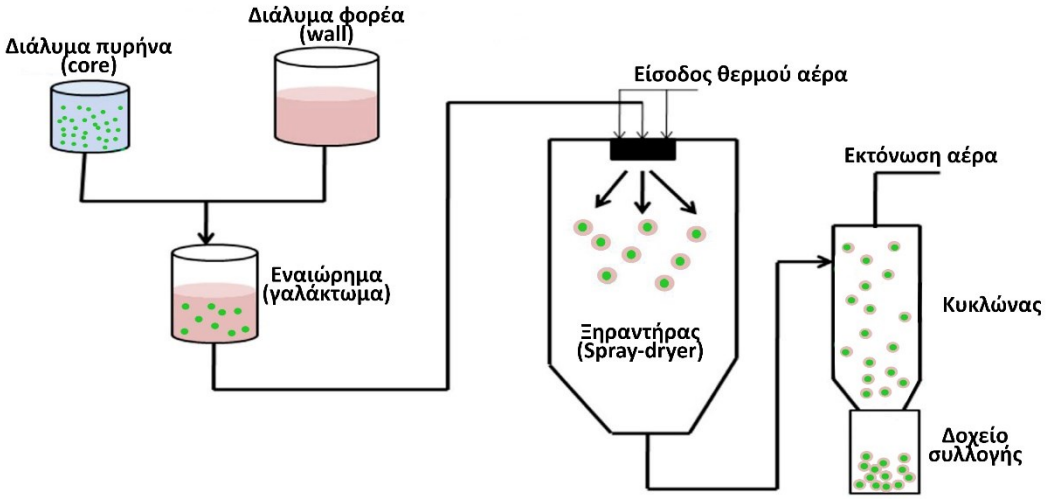
Ενθυλάκωση με ξήρανση με ψεκασμό

Για την ενθυλάκωση των ανθοκυανών και την παραγωγή του τελικού προϊόντος (χρωστική σε μορφή σκόνης), συνήθως επιλέγεται η ξήρανση με ψεκασμό, ενώ λιγότερο συχνά μπορεί εφαρμοστεί ξήρανση με κατάψυξη ή ξήρανση με μικροκύματα. Η ξηρή σκόνη που παραλαμβάνεται είναι εύκολη στο χειρισμό και την αποθήκευση, χαρακτηρίζεται από υψηλότερη σταθερότητα και διαλύεται εύκολα στο νερό απελευθερώνοντας τα εγκλεισμένα συστατικά της.

Η πορεία της διεργασίας μπορεί να συνοψισθεί στα παρακάτω στάδια:

1. Διαλυτοποίηση του φορέα σε νερό
2. Προσθήκη του πυρήνα (core material) στο υδατικό διάλυμα φορέα και ομογενοποίηση μίγματος. Η αναλογία πυρήνα/φορέα συνήθως είναι 1:4 αλλά μπορεί και να μεταβάλλεται, ανάλογα με τις εκάστοτε συνθήκες και προδιαγραφές Mihdavi et al., 2014)
3. Τροφοδοσία του μίγματος στον ξηραντήρα και ατομοποίησή του μέσω ψεκασμού με ακροφύσιο ή περιστρεφόμενο τροχό
4. Εξάτμιση του νερού από ρεύμα θερμού αέρα και παραγωγή στερεών σωματιδίων (κάψουλες). Για θερμοευαίσθητες ουσίες επιλέγονται σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες αέρα (100-160°C).

5. Ανάκτηση του στερεού προϊόντος (κόνις) μέσω κυκλώνα που προκαλεί το διαχωρισμό του από τον αέρα. Λιγότερο συχνά, μπορεί ο διαχωρισμός να επιτυγχάνεται με σακκόφιλτρα (Cocero et al., 2009).



Εικόνα 2-19. Διαγραμματική απεικόνιση της ενθυλάκωσης μέσω ξήρανσης με ψεκασμό

Η ξήρανση με ψεκασμό είναι ευρέως χρησιμοποιούμενη στην παραγωγή κόνεων από εναιωρήματα θερμοευαίσθητων συστατικών, όπως είναι η πλειοψηφία των φαινολικών ενώσεων και οι ανθοκυάνες. Σημειώνεται ότι περίπου το 80 – 90 % των κόνεων ανθοκυανών που διατίθενται στο εμπόριο έχουν παρασκευασθεί με την εν λόγω τεχνική (Mahdavi et al., 2014).

Οι παράμετροι από τις οποίες εξαρτάται η απόδοση της διεργασίας, αλλά και τα χαρακτηριστικά της παραγόμενης κόνεως είναι (δεδομένων των συστατικών πυρήνα και περιβλήματος):

1. οι θερμοκρασίες εισόδου και εξόδου του αέρα,
2. το ιξώδες, η επιφανειακή τάση, η περιεκτικότητα σε στερεά και η θερμοκρασία του διαλύματος τροφοδοσίας,
3. η ογκομετρική παροχή του διαλύματος τροφοδοσίας
4. η πτητικότητα του διαλύτη και
5. οι συνθήκες του ακροφυσίου (Mihdavi et al., 2014)

Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι το χαμηλό κόστος, η παραγωγή κόνεων χαμηλής κοκκομετρίας και η δυνατότητα συνεχούς λειτουργίας. Στον αντίποδα, οι κόνεις ενδέχεται να παρουσιάζουν ανομοιογένεια ως προς το μέγεθος των κόκκων, ενώ η μέθοδος συνδυάζεται με περιορισμένο αριθμό φορέων ενθυλάκωσης. Επίσης είναι αδύνατη η ποσοτική ανάκτηση της σκόνης καθώς σημαντικές ποσότητες παραμένουν προσκολλημένες στα τοιχώματα του ξηραντήρα (Bicubo et el., 2015).

Παραγωγή χρωστικών κόνεων από εκχυλίσματα ανθοκυανών

Για την ενθυλάκωση ανθοκυανών με ψεκασμό, πειραματικές μελέτες έχουν αποδείξει ότι ο καταλληλότερος φορέας είναι οι μαλτοδεξτρίνες, αυτούσιες ή αναμεμιγμένες με αραβικό κόμμι (Robert et al., 2010).

Μίγμα μαλτοδεξτρίνης και αραβικού κόμμεος (αναλογία 3:2) χρησιμοποιήθηκε από τους Zhang et al. (2007) για την ενθυλάκωση προκυανιδινών από σπόρους σταφυλιού. Δεν παρατηρήθηκε αλλαγή στη χημική δομή των προκυανιδινών κατά το κρίσιμο στάδιο της ξήρανσης, η απόδοση της διεργασίας ήταν 85% και ως προϊόν ελήφθη σκόνη ικανοποιητικής σταθερότητας.

Οι Murugesan & Orsat (2011) μελέτησαν 4 διαφορετικούς φορείς ενθυλάκωσης (σκόνη γάλακτος σόγιας, σκόνη πρωτεΐνης σόγιας, αραβικό κόμμι και μαλτοδεξτρίνη) για την ενθυλάκωση εκχυλίσματος σαμπούκου (Sambukus nigra L., Elderberry). Διαπίστωσαν ότι το αραβικό κόμμι και η μαλτοδεξτρίνη παρείχαν τα καλύτερα αποτελέσματα.

Οι Robert et al. (2010) μελέτησαν την ενθυλάκωση με ψεκασμό εκχυλίσματος ροδιού, ορίζοντας τη θερμοκρασία εισόδου του αέρα στους 140°C και την ογκομετρική παροχή διαλύματος στα 10 mL/min. Ως αποτέλεσμα, η απόδοση της διεργασίας με μαλτοδεξτρίνη ως φορέα παρείχε 89,4 % απόδοση έναντι της αντίστοιχης με πρωτεΐνη σόγιας που ήταν μόλις 35,8 %.

Την ίδια περίοπου περίοδο, οι Ying-chang et al. (2010) κατέγραψαν τα καλύτερα αποτελέσματα στην ενθυλάκωση ανθοκυανών από εκχύλισμα βατόμουρου (απόδοση 92,4 %), για θερμοκρασία εισόδου αέρα 120°C, θερμοκρασία εξόδου 80°C και φορέα μίγμα μαλτοδεξτρίνης-πρωτεΐνης σόγιας.

Λίγο αργότερα, οι Tolun et al. (2016) κατέληξαν σε μίγμα μαλτοδεξτρίνης - αραβικού κόμμεος (αναλογία 4:1) και θερμοκρασία εισόδου του αέρα 140°C για τη βελτιστοποίηση εγκλεισμού πολυφαινολών από εκχύλισμα παραπροϊόντος οινοποίησης.

Χρησιμοποιώντας την ίδια πρώτη ύλη με την παρούσα διπλωματική (πυρήνας χυμοποίησης αρώνιας), οι Vidovic et al. (2019) πραγματοποίησαν δοκιμές ενθυλάκωσης ανθοκυανών μέσω ξήρανσης με ψεκασμό. Οι παράμετροι που μελέτησαν ήταν η θερμοκρασία εισόδου του αέρα, η περιεκτικότητα του εναιωρήματος σε ολικά στερεά καθώς και ο φορέας ενθυλάκωσης. Συμπέραναν ότι η κόνις με τα βέλτιστα χαρακτηριστικά ήταν εκείνη που παρήχθη με αέρα εισόδου 140°C, συγκέντρωση 40 % w/w ολικών στερεών στο εναιώρημα και φορέα μαλτοδεξτρίνη 19,7 DE (DE = Dextrose Equivalents – Ισοδύναμα δεξτρόζης – χαρακτηριστικό που υποδεικνύει το βαθμό πολυμερισμού).

Τέλος, οι Bednarska & Turak (2020) μέλετησαν την ενθυλάκωση ανθοκυανών από χυμό αρώνιας επιλέγοντας ως φορείς μαλτοδεξτρίνη, αραβικό κόμμι και μίγμα των δύο και θερμοκρασίες εισόδου του αέρα 160 και 200°C. Διαπίστωσαν ότι το μίγμα φορέων παρείχε καλύτερες αποδόσεις εγκλεισμού των ανθοκυανών. Επίσης, η υψηλότερη θερμοκρασία εισόδου (200°C) παρήγαγε κόνεις με υψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά, όμως δεν ευνόησε τον εγκλεισμό των ανθοκυανών, σε σχέση με τη χαμηλότερη θερμοκρασία (160°C). Πιθανότατα αυτό συνέβη λόγω καταστροφής μέρους των ανθοκυανών κατά τη διεργασία, καθώς αποτελούν ιδιαίτερα θερμοευαίσθητα συστατικά.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1. Σχεδιασμός και διαγραμματική απεικόνιση πειραματικής πορείας

Η παρούσα μελέτη αποτελείται από 2 βασικές σειρές πειραμάτων που αφορούν τον χαρακτηρισμό των μερών του καρπού της αρώνιας ως προς τα φαινολικά συστατικά και την ολιστική προσέγγιση της αξιοποίησής του. Παράλληλα, πραγματοποιήθηκε και μια μικρότερη σειρά πειραμάτων που διέθετε τον αποξηραμένο καρπό ως πρώτη ύλη, ώστε να εξετασθεί η δυνατότητα αξιοποίησής του αν παραμείνει αδιάθετος.

Χαρακτηρισμός των μερών του καρπού

Ανατρέχοντας στη βιβλιογραφία, διαπιστώθηκε ότι υπάρχουν ελάχιστες πληροφορίες γύρω από τα επιμέρους κλάσματα που συνθέτουν τον καρπό της αρώνιας (φλοιοί, σάρκα, κουκούτσια) και τη συμβολή του καθενός στη συνολική αντιοξειδωτική δράση του καρπού. Για το λόγο αυτό, σχεδιάστηκε μια σειρά πειραμάτων που περιελάμβανε το διαχωρισμό του καρπού στα μέρη του (φλοιοί και σάρκα-κουκούτσια τα οποία είναι πολύ δύσκολο να διαχωρισθούν μεταξύ τους), την εκχύλιση με κατάλληλο διαλύτη έπειτα από προεπεξεργασία (πολτοποίηση) και την ανάλυση των εκχυλισμάτων ως προς το φαινολικό περιεχόμενό τους. Οι εκχυλίσεις που πραγματοποιήθηκαν στη σειρά αυτή ήταν πολλαπλές και εξαντλητικές, καθώς τα αποτελέσματα τους προορίζονταν για αναλυτικούς σκοπούς και τον τελικό χαρακτηρισμό των κλασμάτων του καρπού. Ήταν απαραίτητη λοιπόν, η ανάκτηση όσο το δυνατόν μεγαλύτερου μέρους των πολυφαινολών των υλικών.

Η επιλογή του διαλύτη στηρίχθηκε στην πολικότητα των ομάδων των ουσιών που στοχεύθηκαν προς ανάκτηση. Ένα εχυλιστικό μέσο παρόμοιας πολικότητας με της ουσίας - στόχου διασφαλίζει μέγιστη διαλυτοποίηση και ευνοεί τη μεταφορά μάζας από το εσωτερικό του φυτικού υλικού προς τον κύριο όγκο του διαλύτη. Αξίζει να σημειωθεί ωστόσο, ότι σε εκχυλίσεις μεγάλης κλίμακας προστίθεται ένα πλήθος ακόμη κριτηρίων όπως η τιμή κάθε υποψήφιου διαλύτη, η ασφάλεια για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον, η διαθεσιμότητα, η ευκολία στο χειρισμό κ.α.

Πολλαπλές έρευνες έχουν δείξει στο παρελθόν ότι οι αλκοόλες, καθώς και τα μίγματα αλκοόλης/νερού αποτελούν βέλτιστα μέσα εκχύλισης αρκετών πολυφαινολών και ιδιαιτέρως των ανθοκυανών, που είναι και οι πολυτιμότερες φαινολικές ενώσεις της αρώνιας (Roda-Serrat et al., 2020). Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι οι ανθοκυάνες παραμένουν σταθερότερες σε ελαφρώς όξινα περιβάλλοντα, για αυτό και πολύ συχνά προστίθεται στο διαλύτη ένα μέσο οξίνισης, όπως το υδροχλωρικό, το τριφθοροξικό ή το μυρμηκικό οξύ (Ekici et al., 2014). Λαμβάνοντας υπόψιν τα παραπάνω και δεδομένου ότι η διερεύνηση των πολυφαινολών του καρπού αποτέλεσε μια διεργασία με αμιγώς αναλυτικούς σκοπούς επιλέχθηκε ως διαλύτης η μεθανόλη, οξινισμένη κατά 0,5 % v/v με τριφθοροξικό οξύ (TFA).

Ολιστική προσέγγιση της αξιοποίησης του καρπού

Η χυμοποίηση της αρώνιας είναι μια διεργασία που παράγει ένα φυσικό χυμό ιδιαίτερα πλούσιο σε φαινολικά συστατικά, ενώ ταυτόχρονα παρέχει ως παραπροϊόν ένα εξαιρετικά ενδιαφέρον υλικό (πυρήνας αρώνιας). Για μελέτη των προϊόντων της χυμοποίησης και τη διερεύνηση της περεταίρω αξιοποίησής του πυρήνα, καταστρώθηκε μια δεύτερη σειρά πειραμάτων. Αυτή περιελάμβανε αρχικά μια εργαστηριακή προσομοίωση βιομηχανικής χυμοποίησης, η οποία αποτελούταν από σύνθλιψη των καρπών και φυγοκέντρηση για την παραλαβή των προϊόντων. Ο χυμός αναλύθηκε ως προς το φαινολικό περιεχόμενό του και συγκρίθηκε με εμφιαλωμένο χυμό του εμπορίου. Ο πυρήνας υποβλήθηκε σε ήπια ξήρανση και αφού κονιοποιήθηκε εκχυλίσθηκε για την παραλαβή και την ανάλυση του φαινολικού περιεχομένου του. Όλες οι δοκιμές πραγματοποιήθηκαν ποσοτικά, ώστε οι ιδιότητες των παρασκευάσματων να είναι συγκρίσιμες με αυτές του φρέσκου καρπού από τον οποίο προήλθαν.

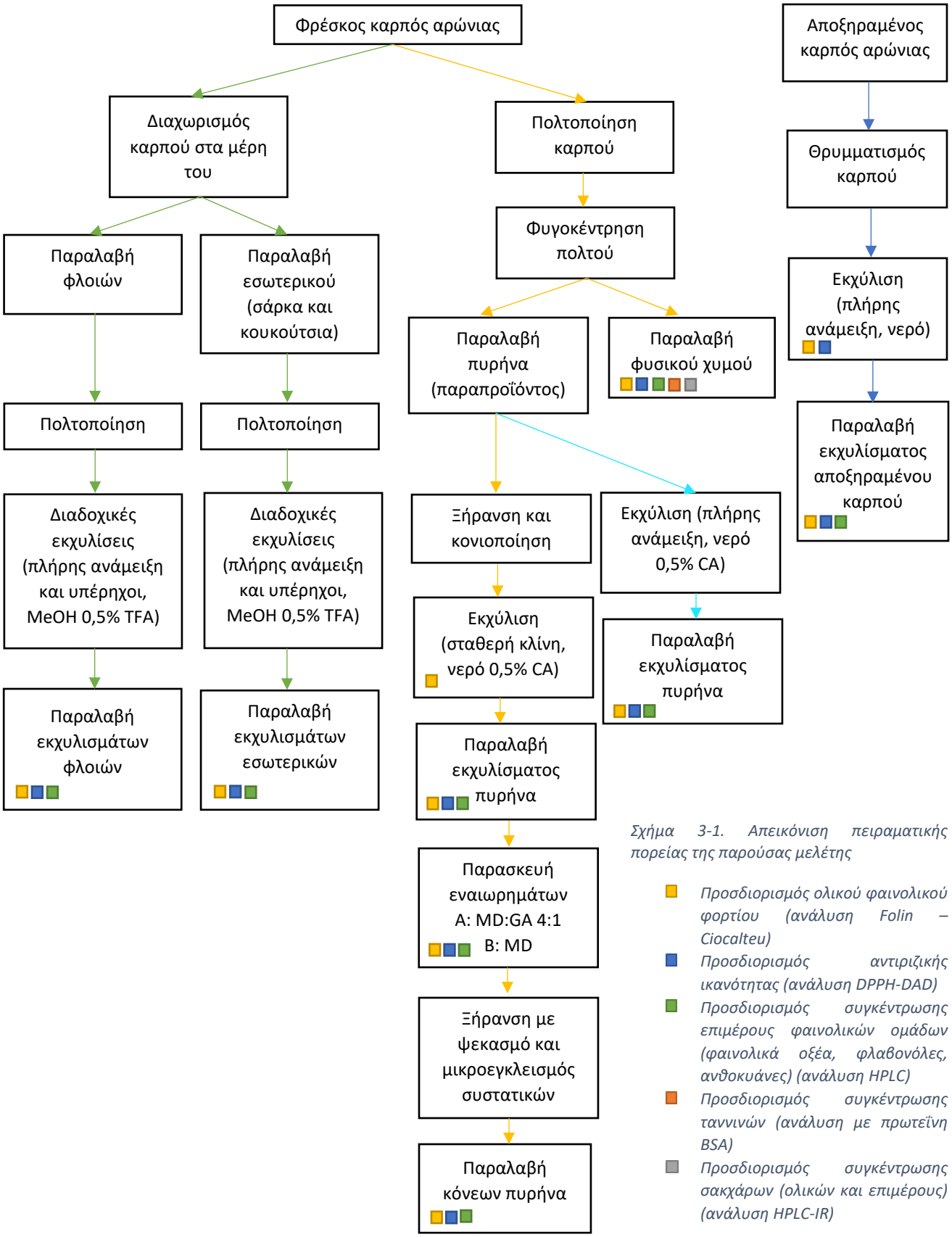
Για την εκχύλιση του πυρήνα χυμοποίησης επιλέχθηκε ως διαλύτης το νερό. Το νερό ίσως υστερεί των αλκοολών ως προς την ικανότητα παραλαβής ανθοκυανών, όμως παραμένει η πιο διαθέσιμη, ασφαλής, φθηνή και περιβαλλοντικά φιλική επιλογή. Σε αντίθεση με την πρώτη σειρά πειραμάτων (χαρακτηρισμός μερών του καρπού), εδώ κρίθηκε απαραίτητη η ανάπτυξη προτάσεων που θα μπορούσαν να μεταφερθούν και σε μεγαλύτερη κλίμακα. Ως μέσο οξίνισης χρησιμοποιήθηκε το κιτρικό οξύ, ένα άχρωμο, άοσμο, ασφαλές και υδατοδιαλυτό οξύ που πολύ συχνά περιλαμβάνεται σε τρόφιμα, ποτά και φαρμακευτικά προϊόντα (Cirimina et al., 2017). Οι Roda-Serrat et al. (2020) διαπίστωσαν ότι η παραλαβή ανθοκυανών από εκχύλισμα αρώνιας με οξινισμένο νερό, παρουσίασε μέγιστη απόδοση για συγκέντρωση κιτρικού οξέος στο διαλύτη ίση με 1,5 % w/v. Για την παρούσα μελέτη ορίστηκε μικρότερη συγκέντρωση (0,75 % w/v) καθώς το προϊόν της εκχύλισης προοριζόταν για ξήρανση με ψεκασμό και ήταν επιθυμητή η κατά το δυνατόν χαμηλότερη συγκέντρωση προσμίξεων στην ξηρή μάζα του.

Τέλος, εκχύλισμα πυρήνα αρώνιας υποβλήθηκε σε ενθυλάκωση των συστατικών του μέσω ξήρανσης με ψεκασμό. Προηγούμενες μελέτες αναφέρουν ότι η ενθυλάκωση των πολυφαινολών (και ειδικότερα των ανθοκυανών) ευνοείται σε σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες εισόδου με φορείς εγκλεισμού τη μαλτοδεξτρίνη ή/και το αραβικό κόμμι [Bednarska & Turak (2020), Vidovic et al. (2019), Tolun et al. (2016)]. Για το λόγο αυτό στην παρούσα μελέτη επιλέχθηκε θερμοκρασία εισόδου στον ξηραντήρα 140°C και φορέας εγκλεισμού (wall material) μαλτοδεξτρίνη και μίγμα μαλτοδεξτρίνης – αραβικού κόμμεος 4:1.

Αξιοποίηση αποξηραμένου καρπού

Συμπληρωματικά με τις παραπάνω πειραματικές δοκιμές, διερευνήθηκε η δυνατότητα ανάκτησης φαινολικών συστατικών από τυχόν αδιάθετο προϊόν αποξηραμένου καρπού. Για το σκοπό αυτό, ποσότητα αποξηραμένου προϊόντος εκχυλίστηκε με νερό (πλήρης ανάμιξη) και αναλύθηκε το φαινολικό περιεχόμενο του εκχυλίσματος. Η εκχύλιση επιλέχθηκε να είναι όσο το δυνατόν απλούστερη (συμβατική μέθοδος, διαλύτης νερό) ώστε να είναι εύκολη και οικονομικά βιώσιμη. Έτσι, θα μπορούσε να αποτελέσει μια ρελιστική πρόταση για διεργασία μεγάλης κλίμακας.

Στο σχήμα 3-1 απεικονίζεται διαγραμματικά η πορεία των πειραματικών δοκιμών.



Σχήμα 3-1. Απεικόνιση πειραματικής πορείας της παρούσας μελέτης

- *Προσδιορισμός ολικού φαινολικού φορτίου (ανάλυση Folin – Ciocalteu)*
- *Προσδιορισμός αντιριζικής ικανότητας (ανάλυση DPPH-DAD)*
- *Προσδιορισμός συγκέντρωσης επιμέρους φαινολικών ομάδων (φαινολικά οξέα, φλαβονόλες, ανθοκυάνες) (ανάλυση HPLC)*
- *Προσδιορισμός συγκέντρωσης ταννινών (ανάλυση με πρωτεΐνη BSA)*
- *Προσδιορισμός συγκέντρωσης σακχάρων (ολικών και επιμέρους) (ανάλυση HPLC-IR)*

3.2 Αντιδραστήρια, πρώτες ύλες, συσκευές και όργανα

Πρώτες ύλες

Για τις πειραματικές ανάγκες της παρούσας διπλωματικής χρησιμοποιήθηκε φρέσκος καρπός αρώνιας, αποξηραμένος καρπός και εμπορικό προϊόν φυσικού χυμού:

- Φρέσκος καρπός βιολογικής καλλιέργειας | PEGASUS, Θεσσαλονίκη (συγκομιδή: Σεπτέμβριος 2021)
- Αποξηραμένος καρπός | DIOSCURIDES herbs & medical plants, Πτολεμαΐδα
- Εμπορικός φυσικός βιολογικός χυμός 100% αρώνια | KERKINIS GI, Σέρρες

Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτέλεση των πειραμάτων ήταν συγκεντρωτικά τα παρακάτω:

- 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), ALDRICH CHEMISTRY
- Acetic acid glacial, CARLO ERBA REAGENTS, Spain
- Acetonitrile HPLC gradient grade, FISHER SCIENTIFIC, U.K.
- Albumin, bovine (fraction V) powder, FISHER SCIENTIFIC, U.K.
- Arabic gum powder, NEXIRA, France
- Citric acid monohydrate (C6H8O7.H2O) Mr = 210,14, PENTA CHEMICALS, Czech Republic
- Cyanidin chloride powder, EXTRASYNTHESE, France
- Folin-Ciocalteu’s reagent, CARLO ERBA REAGENTS, Spain
- Maltodextrine 18-20 DE, ASTRON CHEMICALS, Greece
- Methanol HPLC gradient grade, FISHER SCIENTIFIC, U.K.
- Sodium acetate 3-hydrate (CH3COONa.3H2O) Mr = 136,08, PANREAC QUIMICA SA, Spain
- Sodium carbonate (Na2CO3) anhydrous Mr = 105,99, PENTA CHEMICALS, Czech Republic
- Sodium hydroxide (NaOH) Mr = 40,00, PANREAC QUIMICA SA, Spain
- Water HPLC gradient grade, FISHER SCIENTIFIC, U.K.

Συσκευές

Εκχύλιση

Οι εκχυλίσεις των μερών της αρώνιας (φλοιοί και σάρκα), του αποξηραμένου καρπού και του πυρήνα χυμοποίησης πραγματοποιήθηκαν με απλή ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα, με υποβοήθηση υπερήχων σε λουτρό ή σε σταθερή κλίνη ημιδιαλείποντος έργου.

Εικόνα 3-1. Μαγνητικός αναδευτήρας (stirrer) με πλατώ θέρμανσης για την εκχύλιση με απλή ανάδευση. Are2, Velp Scientifica, Italy.

Εικόνα 20. Περισταλτική αντλία για τη διαβίβαση του διαλύτη εκχύλισης στη σταθερή κλίνη. Pump XX 80 002 30, Millipore, USA

Εικόνα 21. Λουτρό υποβοήθησης υπερήχων στο οποίο εμβαπτίζεται το μίγμα προς εκχύλιση. Elmasonic S30, Elma, Germany.

Χυμοποίηση

Η εργαστηριακή χυμοποίηση του καρπού αρώνιας περιελάμβανε τη φυγοκέντρηση των πολτοποιημένων μούρων προς διαχωρισμό του χυμού από το στερεό υπόλειμμα (πυρήνας).

Εικόνα 22. Φυγόκεντρος για το διαχωρισμό του φυσικού χυμού από τον πυρήνα χυμοποίησης. Heraeus Megafuge, 16/16R, Thermo Scientific, USA.

Ξήρανση

Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκαν ήπιες ξηράνσεις με ρεύμα αέρα (για αφυδάτωση των υλικών), αλλά και πιο ισχυρές θερμικές διεργασίες για τις σταθμικές αναλύσεις που απαιτήθηκαν.

Εικόνα 23. Ξηραντήρας ρεύματος αέρα για ήπια ξήρανση καρπών και προϊόντων. Deluxe B12, Biosec, Italy.

Εικόνα 24. Φούρνος για ξήρανση δειγμάτων προς σταθμικές αναλύσεις. WTB E28, Binder, Germany

Ξήρανση με ψεκασμό

Για την παραγωγή κόνεων με ενθυλακωμένα βιοδραστικά συστατικά πραγματοποιήθηκε ξήρανση με ψεκασμό σε εργαστηριακή συσκευή.

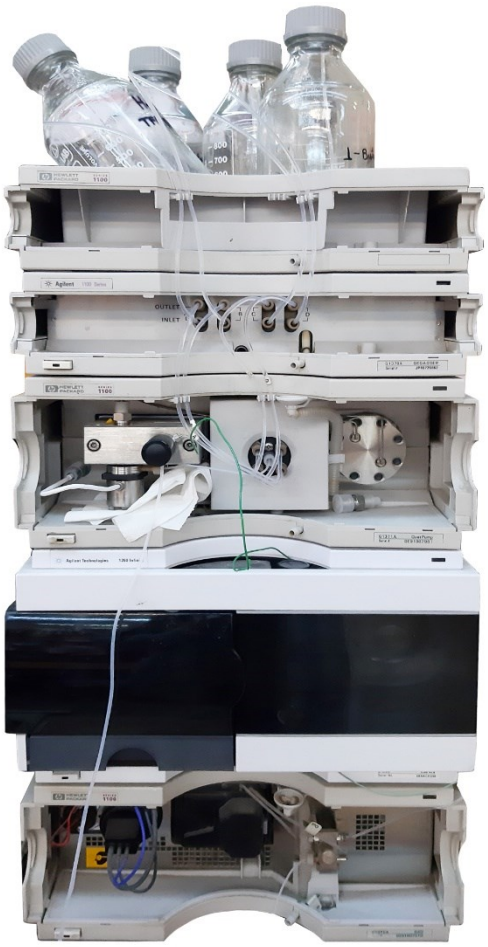
Εικόνα 25. Ξηραντήρας ψεκασμού για την παραγωγή των κόνεων. Mini spray dryer B-191, Buchi, Switzerland.

Όργανα

Τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτέλεση των πειραμάτων και την παραλαβή των μετρήσεων ήταν δύο αναλυτικοί ζυγοί (2 και 4 δεκαδικών ψηφίων), ένα φωτόμετρο καθώς και δύο διατάξεις ανάλυσης HPLC (high performance liquid chromatography), της οποίας η αρχή λειτουργίας θα παρουσιασθεί εκτενώς στην αντίστοιχη ενότητα (Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης, σελ. 65).

Εικόνα 28. Μικροζυγός 4 δεκαδικών ψηφίων. XT-220A, Precisa, Switzerland.

Εικόνα 27. Αναλυτικός ζυγός 2 δεκαδικών ψηφίων. 620C, Precisa,



Εικόνα 26. Spectrophotometer U-2900, Hitachi, Japan.

Εικόνα 3-11. Διατάξεις HPLC, Agilent Technologies/Hewlett Packard, Germany.
Μονάδες των διατάξεων (1) και (2):
Απαερωτής (1) 1100 G1379A και (2) 1200 G1379B
Περισταλτικές αντλίες (1) και (2) 1100 G1311A
Σύστημα έγχυσης (1) 1260 Infinity Auto Injector (2) χειροκίνητη ένεση
Ανιχνευτής (1) G1315A Diode Array Detector - DAD και (2) 1047A Refraction Index - RI
Στήλη (1) Zorbax Eclipse XDB-C18 250x4.6mm 5u και (2) Microsorb-MV 100 NH2

3.3. Χυμοποίηση καρπού αρώνιας

Για την παραλαβή 100% φυσικού χυμού αρώνιας υπάρχουν διάφορες διεργασίες μεγάλης κλίμακας. Οι πιο διαδεδομένες εξ αυτών είναι η πολτοποίηση των καρπών και έπειτα ο διαχωρισμός υγρής και στερεής φάσης με φυγοκέντρηση, ή με συμπίεση σε πιεστήριο.

Για την εργαστηριακή προσομοίωση της χυμοποίησης μεγάλης κλίμακας ακολουθήθηκε εις διπλούν η εξής διαδικασία:

1. Πολτοποίηση μούρων αρώνιας

Φρέσκα μούρα αρώνιας πολτοποιήθηκαν χειροκίνητα σε γουδί πορσελάνης με γυάλινο ιγδίο. Η αρχική μάζα του φρέσκου καρπού ήταν 87,8 g για την πρώτη δοκιμή και 72,7 g για τη δεύτερη.

2. Φυγοκέντρηση πολτού

Ο πολτός μεταφέρθηκε ποσοτικά σε πλαστικούς σωλήνες φυγοκέντρησης και υποβλήθηκε σε φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στις 8000 rpm (Thermo Scientific, USA).

3. Παραλαβή χυμού

Ο φυσικός χυμός παρελήφθη από τους σωλήνες φυγοκέντρησης ποσοτικά και αφού ογκομετρήθηκε, αποθηκεύτηκε σε γυάλινο δοχείο. Το παραπροϊόν της χυμοποίησης παρελήφθη επίσης ποσοτικά και αποθηκεύτηκε υπό κατάψυξη για περαιτέρω επεξεργασία.

3.4. Διαχωρισμός του καρπού στα μέρη του

Η αποφλοίωση των καρπών της αρώνιας πραγματοποιήθηκε χειροκίνητα με εργαστηριακή λαβίδα. Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε εις διπλούν και όσο το δυνατόν ποσοτικά, ώστε να εξαχθεί η αναλογία φλοιού/εσωτερικού για το μούρο της αρώνιας. Ο διαχωρισμός της σάρκας από τα κουκούτσια ήταν αδύνατος με τα διαθέσιμα μέσα, επομένως αναλύθηκαν ως ένα κλάσμα. Με τον όρο «σάρκα» εις το εξής θα αναφέρεται το κλάσμα των αποφλοιωμένων καρπών (που περιέχει σάρκα και κουκούτσια). Τα κλάσματα των καρπών αποθηκεύτηκαν στην κατάψυξη σε πλαστικά δοχεία για περαιτέρω επεξεργασία και αναλύσεις.

Εικόνα 29. Τα αποφλοιωμένα μούρα αρώνιας (αριστερά) και ο φλοιός που απομονώθηκε (δεξιά)

3.5. Εκχυλίσεις φαινολικών συστατικών

Για την παραλαβή των βιοδραστικών συστατικών των κλασμάτων φρέσκου καρπού (φλοιός και σάρκα-κουκούτσια), του πυρήνα της αρώνιας (υπόλειμμα χυμοποίησης) και του αποξηραμένου καρπού σχεδιάστηκαν και πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσεις με κατάλληλα επιλεγμένους διαλύτες και μεθόδους.

Εκχύλιση φλοιών

Οι φλοιοί του καρπού αφού αποψύχθηκαν, λειοτριβήθηκαν σε γουδί με γυάλινο ιγδίο (4 g φλοιών για κάθε δοκιμή). Έπειτα εκχυλίσθηκαν για 40 min σε λουτρό υπερήχων (Elma, Germany) και 100 mL διαλύτη μεθανόλη οξινισμένη κατά 0,5% με TFA (αναλογία 1:25 w/v). Το μίγμα που προέκυψε αφέθηκε σε ηρεμία και ακολούθως διαχωρίσθηκε με απόχυση σε εκχύλισμα και στερεό υπόλειμμα.

Το στερεό υπόλειμμα υποβλήθηκε σε 2 επιπλέον διαδοχικές εκχυλίσεις διάρκειας 20 min έκαστη (με τον ίδιο διαλύτη, στην ίδια αναλογία). Οι συμπληρωματικές εκχυλίσεις πραγματοποιήθηκαν επίσης σε λουτρό υπερήχων (Elma, Germany), ώστε να επιτευχθεί μέγιστη διάσπαση των φυτικών ινών και άρα αποδοτικότερη εκχύλιση των συστατικών τους.

Οι σειρά διαδοχικών εκχυλίσεων πραγματοποιήθηκε εις διπλούν και τα εκχυλίσματα που προέκυψαν, εις το εξής θα διακρίνονται με τις παρακάτω ονομασίες:

Πίνακας 3-1. Κωδικοποίηση εκχυλισμάτων φλοιών.

Διακριτική ονομασία εκχυλίσματος	Σειρά πειραμάτων	Διαδοχική εκχύλιση
ΦΑ1	Α	1
ΦΑ2	Α	2
ΦΑ3	Α	3
ΦΒ1	Β	1
ΦΒ2	Β	2
ΦΒ3	Β	3

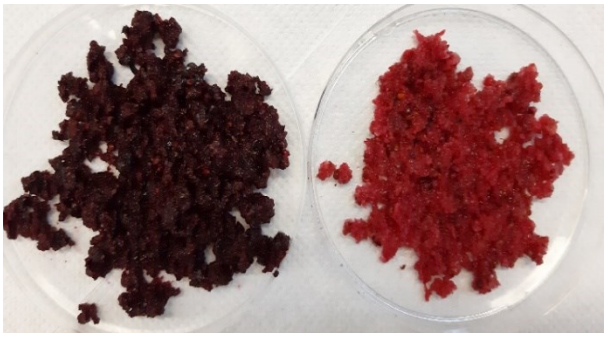
Εικόνα 30. Φλοιοί του φρέσκου καρπού πριν και μετά τις σειρές εκχυλίσεων. Ο αποχρωματισμός οφείλεται στην εκχύλιση των ανθοκυανινών, βιοδραστικών χρωστικών στις οποίες είναι πλούσια η αρώνια.

Εκχύλιση αποφλοιωμένων καρπών

Ομοίως, οι αποφλοιωμένοι καρποί αποψύχθηκαν και λειοτριβήθηκαν σε γουδί με γυάλινο ιγδίο (10 g αποφλοιωμένων καρπών για κάθε δοκιμή). Εκχυλίσθηκαν σε λουτρό υπερήχων (Elma, Germany) με 200 mL διαλύτη μεθανόλη οξινισμένη κατά 0,5 % με TFA (αναλογία 1:20 w/v) για 40 min. Το μίγμα που προέκυψε αφέθηκε σε ηρεμία και ακολούθως διαχωρίσθηκε με απόχυση σε εκχύλισμα και στερεό υπόλειμμα.

Κατά τον ίδιο τρόπο με την εκχύλιση των φλοιών, το στερεό υπόλειμμα υποβλήθηκε σε 2 επιπλέον διαδοχικές εκχυλίσεις (με τον ίδιο διαλύτη, σε αναλογία 1:20 w/v). Κάθε εκχύλιση διήρκεσε 20 min και ήταν υποβοηθούμενη από υπέρηχους.

Εικόνα 32. Εκχύλιση λειοτριβημένων αποφλοιωμένων καρπών στο λουτρό υπερήχων. Η δράση των υπερήχων προκαλεί αύξηση της θερμοκρασίας, γεγονός που ενδεχομένως να επηρέαζε την επαναληψιμότητα των δοκιμών. Με τη χρήση παγοκύστης, επετεύχθη η διατήρηση της θερμοκρασίας περιβάλλοντος στο λουτρό.

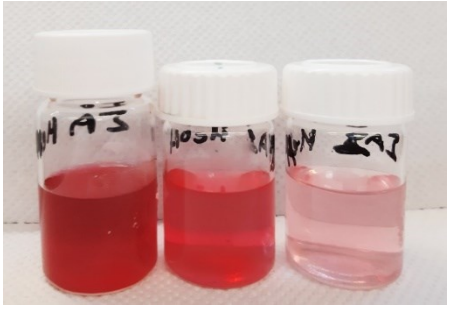


Εικόνα 31. Μίγμα σάρκας και κουκουτσιών του φρέσκου καρπού πριν και μετά τις σειρές εκχυλίσεων.

Τα εκχυλίσματα που προέκυψαν από την παραπάνω διαδικασία, κατ’ ανάλογο τρόπο, θα διακρίνονται με τις παρακάτω ονομασίες:

Πίνακας 3-2. Κωδικοποίηση εκχυλισμάτων αποφλοιωμένων καρπών. Εδώ η 3η διαδοχική εκχύλιση θεωρήθηκε οριακά πλεονάζουσα, οπότε πραγματοποιήθηκε μόνο στη σειρά Α (για αυτό και απουσιάζει το εκχύλισμα ΣΒ3).

Διακριτική ονομασία εκχυλίσματος	Σειρά εκχυλίσεων	Διαδοχική εκχύλιση
ΣΑ1	Α	1
ΣΑ2	Α	2
ΣΑ3	Α	3
ΣΒ1	Β	1
ΣΒ2	Β	2



Εικόνα 33. Διαδοχικά εκχυλίσματα ΣΑ1, ΣΑ2 και ΣΑ3 (από αριστερά προς τα δεξιά). Ο σταδιακός αποχρωματισμός υποδεικνύει τη διαφορά της συγκέντρωσης σε ανθοκυάνες.

Εκχύλιση αποξηραμένου καρπού

Ο αποξηραμένος καρπός (εμπορικό προϊόν) θρυμματίστηκε σε οικιακό μπλέντερ για περίπου 1 min. 10 g θρυμματισμένου υλικού εκχυλίσθηκαν εις διπλούν σε ποτήρια ζέσεως με 200 mL απιονισμένου νερού (αναλογία 1:20 w/v) σε μαγνητικό αναδευτήρα (400 rpm, 90 min). Για την μελέτη του ρυθμού της εκχύλισης των πολυφαινολών, ελήφθησαν δείγματα εκχυλίσματος όγκου 1 mL σε χρόνους t = 1, 3, 5, 10, 15, 25, 40, 60, 90 min από την έναρξη της διεργασίας και διαβιβάσθηκαν σε φιαλίδια eppendorf για περαιτέρω ανάλυση. Το μίγμα που παρελήφθει με την ολοκλήρωση του πειράματος διαχωρίστηκε με απόχυση σε εκχύλισμα και στερεό υπόλειμμα, τα οποία αποθηκεύτηκαν στην κατάψυξη σε πλαστικά δοχεία.

Εικόνα 34. Εκχυλίσεις αποξηραμένου καρπού με απιονισμένο νερό σε μαγνητικό αναδευτήρα. Ταυτόχρονη παραλαβή δειγμάτων από το συνολικό όγκο του εκχυλίσματος σε προκαθορισμένους χρόνους.

Εκχύλιση πυρήνα αρώνιας (υπολείμματος χυμοποίησης)

Ο πυρήνας της αρώνιας αφού διαχωρίσθηκε από το χυμό υποβλήθηκε σε ήπια ξήρανση για 24 h (ξήρανση με θερμό ρεύμα αέρα, 40°C) και έπειτα κονιοποιήθηκε σε οικιακό μπλέντερ (κατεργασία για περίπου 1 λεπτό). Σε ανοξείδωτο εκχυλιστήρα σταθερής κλίνης μεταφέρθηκαν 25 g ξηρής σκόνης και ο κενός όγκος πληρώθηκε με αδρανές υλικό (βαμβάκι). Ο εκχυλιστήρας πωματίστηκε με βιδωτό καπάκι και τοποθετήθηκε σε κατακόρυφη θέση. Στην έξοδο (άνω μέρος) συνδέθηκε λάστιχο σιλικόνης το οποίο κατέληγε σε ογκομετρικό κύλινδρο για την παραλαβή του εκχυλίσματος. Η είσοδος (κάτω μέρος)

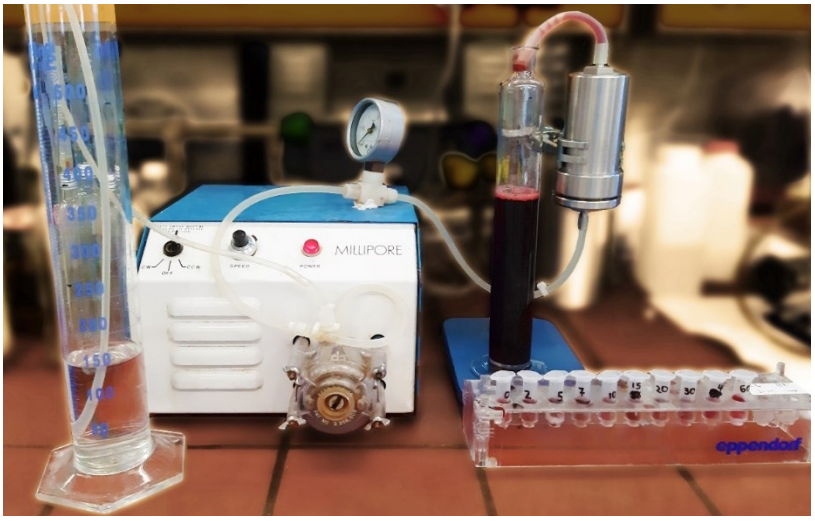
συνδέθηκε μέσω λάστιχου σιλικόνης σε σειρά με την αντλία τροφοδοσίας (Millipore, USA) και τον περιέκτη του διαλύτη.

Ως διαλύτης της εκχύλισης χρησιμοποιήθηκε οξινισμένο απιονισμένο νερό. Το νερό είναι ο φιλικότερος προς το περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία διαλύτης και επιπλέον είναι κατάλληλος για την παραλαβή αρκετών φαινολικών συστατικών (υδατοδιαλυτές ενώσεις). Οι Roda-Serrat et al. (2020) διαπίστωσαν ότι η προσθήκη μέσου οξίνισης και συγκεκριμένα κιτρικού οξέος στο νερό, ευνοεί την εκχύλιση των ανθοκυανών που είναι και οι πιο πολύτιμες φαινολικές ενώσεις της αρώνιας. Βάσει των ευρημάτων της εν λόγω μελέτης, παρασκευάσθηκε για τις ανάγκες της εκχύλισης υδατικό διάλυμα κιτρικού οξέος 0,75% w/v. Πιο αναλυτικά, μεταφέρθηκαν σε ογκομετρική φιάλη των 500 mL 4,11 g σκόνης μονοένυδρου κιτρικού οξέος και η φιάλη πληρώθηκε με απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραγή. Το δοχείο ανακινήθηκε μέχρι την πλήρη διαλυτοποίηση του στερεού και το περιεχόμενό του διαβιβάστηκε στον περιέκτη της διάταξης.

Η αντλία τροφοδοσίας της διάταξης τέθηκε σε λειτουργία και ξεκίνησε η διαδικασία. Η ογκομετρική παροχή διαλύτη στην κλίνη ρυθμίστηκε σε χαμηλό επίπεδο (περίπου 3 mL/min). Ως χρόνος έναρξης (t_0) ορίσθηκε η στιγμή στην οποία η πρώτη σταγόνα εκχυλίσματος εξήλθε από τον εκχυλιστήρα.

Για τη μελέτη του ρυθμού εκχύλισης, ελήφθησαν από την έξοδο του εκχυλιστήρα δείγματα όγκου 1 mL σε χρόνους t = 0, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 60, 80, 100, 135 και 180 min (διαφορικά δείγματα). Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε φιαλίδια eppendorf για την περαιτέρω ανάλυσή τους και το εκχύλισμα αποθηκεύτηκε στην κατάψυξη σε πλαστικό περιέκτη. Σε καθέναν από τους παραπάνω χρόνους δειγματοληψίας καταγράφηκε και η στάθμη του ολικού εκχυλίσματος στον ογκομετρικό κύλινδρο.

Η ανωτέρω διαδικασία έλαβε χώρα εις διπλούν.



Εικόνα 35. Διάταξη εκχύλισης πυρήνα. Αποτελείται από τις εξής μονάδες συνδεδεμένες σε σειρά: Περιέκτης διαλύτη, αντλία τροφοδοσίας, ανοξείδωτος εκχυλιστήρας (περιέχει τη σταθερή κλίνη ξηρής σκόνης πυρήνα), ογκομετρικός κύλινδρος σύλλεξης εκχυλίσματος. Τα διαφορικά δείγματα λαμβάνονται απευθείας από την έξοδο του εκχυλιστήρα.

Προκειμένου να εκτιμηθεί η επίδραση της ξήρανσης στην ποιότητα της πρώτης ύλης, πραγματοποιήθηκε μια συμπληρωματική εκχύλιση με τον ίδιο διαλύτη (νερό 0,75% CA), σε αναλογία 1:20 w/v και συνθήκες πλήρους ανάμειξης (ανάδευση σε stirrer) για 70 min. Στην περίπτωση αυτή ο πολτός πυρήνα που παρελήφθη από τη χυμοποίηση υποβλήθηκε αυτούσιος σε εκχύλιση, χωρίς να προηγηθεί ξήρανση και κονιοποίησή του. Το ολικό εκχύλισμα αναλύθηκε ως προς το ολικό φαινολικό του φορτίο και τη συγκέντρωσή του σε ανθοκυάνες και φλαβονόλες.

3.6. Εγκλεισμός συστατικών του πυρήνα χυμοποίησης

Ο πυρήνας χυμοποίησης αφού ξηράνθηκε σε ρεύμα αέρα 40°C (Biosec, Italy) κονιοποιήθηκε σε οικιακό μπλέντερ και υποβλήθηκε σε εκχύλιση ημιδιαλείποντος έργου σε σταθερή κλίνη. Προκειμένου να παραληφθεί επαρκής ποσότητα εκχυλίσματος για τις μετέπειτα διαδικασίες, πραγματοποιήθηκαν περισσότερες από μία εκχυλίσεις και εν συνεχεία τα διάφορα εκχυλίσματα πυρήνα αναμίχθηκαν. Παρακάτω παρουσιάζονται αναλυτικά οι διαδικασίες που ακολουθήθηκαν για την ανάμιξη του ολικού εκχυλίσματος με τους φορείς ενθυλάκωσης (μαλτοδεξτρίνη, αραβικό κόμμι) και η ξήρανση των μιγμάτων με ψεκασμό για την παραγωγή των τελικών προϊόντων, τις κόνεις δηλαδή με ενθυλακωμένα συστατικά.

Κυρίαρχο ρόλο στην ποιότητα του τελικού προϊόντος παίζει η επιλογή του κατάλληλου φορέα, αλλά και οι θερμοκρασίες λειτουργίας του ξηραντήρα (θερμοκρασία εισόδου και εξόδου του αέρα).

Βάσει των βιβλιογραφικών αναφορών και της εμπειρίας στο εργαστήριο, επιλέχθηκε για τις δοκιμές ενθυλάκωσης με ψεκασμό παραγωγή εναιωρήματος από το εκχύλισμα με τελική περιεκτικότητα σε στερεά 30 % και θερμοκρασία εισόδου του αέρα στον ξηραντήρα 140°C. Το εκχύλισμα χρησιμοποιήθηκε αυτούσιο, χωρίς να προηγηθεί κάποια συμπύκνωση ή αραίωση. Η % περιεκτικότητα του ξηρού μίγματος σε συστατικά πυρήνα (core materials) προέκυψε ίση με 5,8 %, ή αλλιώς η αναλογία core:wall ήταν ίση με 0,062 (wall = φορέας). Στην πρώτη δοκιμή χρησιμοποιήθηκε ως φορέας μαλτοδεξτρίνη 18-20 DE και στη δεύτερη μίγμα μαλτοδεξτρίνης - αραβικού κόμμεος αναλογίας 4:1.

Παραγωγή εναιωρημάτων

Για την παραγωγή των μιγμάτων, προσδιορίσθηκαν αρχικά οι περιεχόμενες υγρασίες στις κόνεις φορέων και η περιεκτικότητα του εκχυλίσματος σε ολικά στερεά. Έπειτα υπολογίσθηκαν οι ποσότητες φορέων και εκχυλίσματος που έπρεπε να αναμιχθούν ώστε να παρασκευασθούν τα μίγματα των επιθυμητών χαρακτηριστικών.

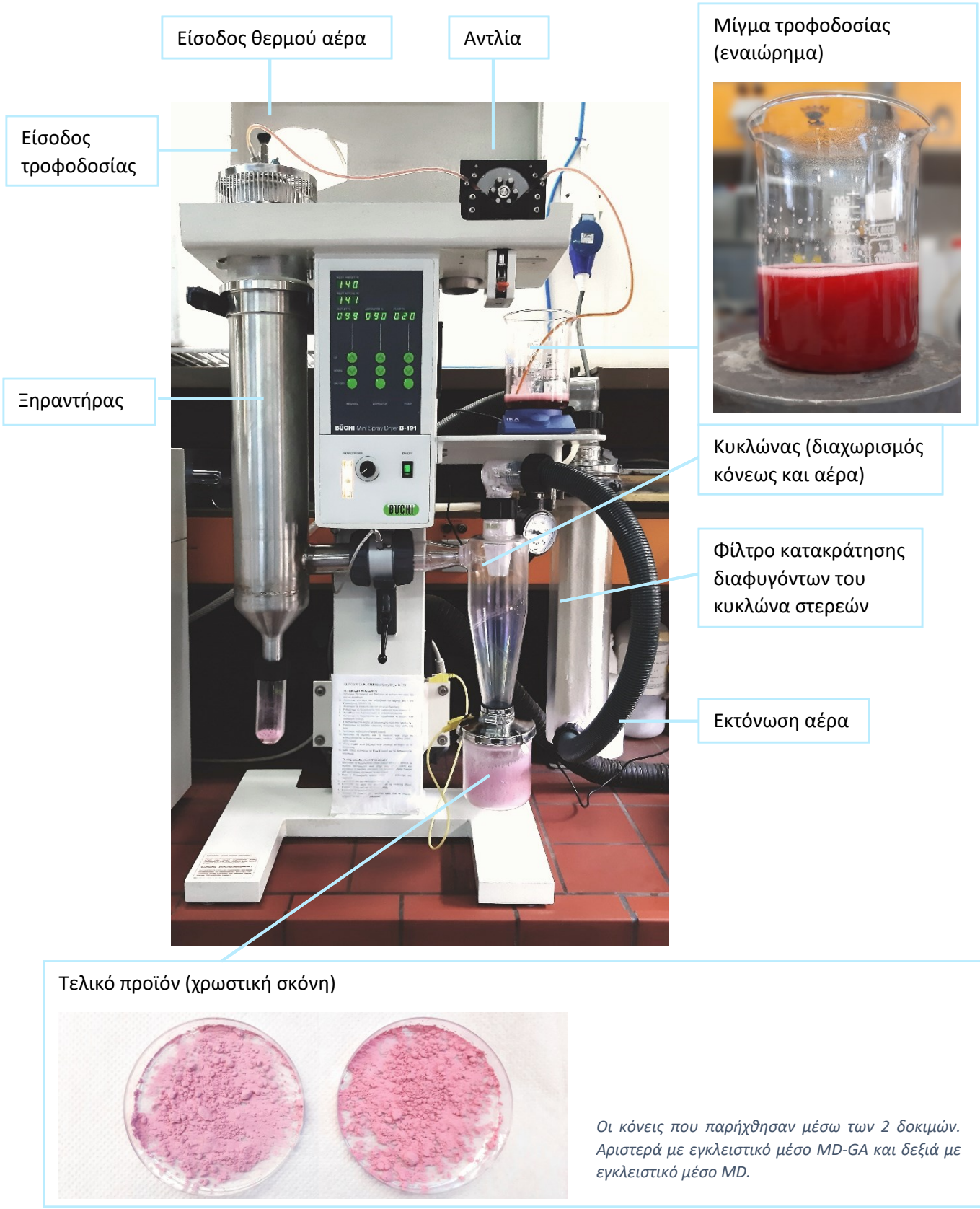
Έπειτα, οι προβλεπόμενες ποσότητες φορέων ενσωματώθηκαν σε κατάλληλο όγκο εκχυλίσματος. Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε αργά, υπό συνεχή ανάδευση σε stirrer (Velp Scientifica, Italy) και ταυτόχρονη ήπια θέρμανση (30°C) προς αποφυγή δημιουργίας συσσωματωμάτων.

Ως αποτέλεσμα παρελήφθησαν 2 μίγματα ίσης περιεκτικότητας σε ολικά στερεά (30 % w/w) και ίδιας αναλογίας πυρήνα/φορέα (core/wall) ίση με 6,2 % (τιμές δεδομένες επί ξηρού βάρους). Η διαφορά μεταξύ των δύο εντοπιζόταν στη σύσταση του φορέα. Το ένα διέθετε ως φορέα αποκλειστικά μαλτοδεξτρίνη (MD) ενώ το άλλο διέθετε ως φορέα μίγμα μαλτοδεξτρίνης – αραβικού κόμμεος (MD/GA σε αναλογία 4:1). Τα εναιωρήματα αφού παρασκευάσθηκαν αφέθηκαν για λίγη ώρα σε ηρεμία ώστε να επιβεβαιωθεί ότι όλα τα στερεά είχαν διαλυτοποιηθεί και δεν υπήρχαν καθιζήσεις.

Παραγωγή κόνεως – ξήρανση με ψεκασμό

Τα υγρά μίγματα που παρασκευάσθηκαν οδηγήθηκαν στον ξηραντήρα ψεκασμού (Buchi, Switzerland) προς παραγωγή του τελικού προϊόντος (χρωστική σκόνη). Ο ξηραντήρας τέθηκε σε λειτουργία ακολουθώντας την προβλεπόμενη διαδικασία (ρύθμιση συνθηκών με συγκεκριμένη σειρά και αναμονή για σταθεροποίηση θερμοκρασίας εισόδου και εξόδου). Η θερμοκρασία εισόδου ορίσθηκε στους 140°C, η πίεση εκνέφωσης στα 5 bar και η παροχή τροφοδοσίας στα 4 mL/min. Το μίγμα τροφοδοσίας καθ΄ όλη τη διάρκεια της ξήρανσης βρισκόταν υπό ήπια ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα.

Η θερμοκρασία εξόδου είναι εξαρτημένη μεταβλητή για τη συγκεκριμένη διεργασία, δεν αποτελεί δηλαδή παράμετρο δυνατή να ρυθμιστεί. Στο πείραμα με μαλτοδεξτρίνη – αραβικό κόμμι η θερμοκρασία εξόδου παρέμεινε σχεδόν καθ’ όλη τη διάρκεια σταθερή στους 100°C, ενώ στο πείραμα με μαλτοδεξτρίνη η θερμοκρασία εξόδου ήταν πιο ασταθής και κυμαινόταν μεταξύ 90 και 100°C. Οι παραγόμενες κόνεις τοποθετήθηκαν σε γυάλινους περιέκτες, πωματίσθηκαν στεγανά και αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος έως την επόμενη μέρα που υποβλήθηκαν σε περαιτέρω αναλύσεις.



Σχήμα 3-2. Εργαστηριακή διάταξη και παραγόμενα προϊόντα από πυρήνα αρώνιας μέσω ξήρανσης με ψεκασμό.

Προσδιορισμός απόδοσης και αποτελεσματικότητας μικροεγκλεισμού

Οι κόνεις που παρασκευάσθηκαν μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό μελετήθηκαν ως προς την απόδοση και την αποτελεσματικότητα του μικροεγκλεισμού σε πολυφαινόλες και ανθοκυάνες (έστω συστατικά x).

Απόδοση μικροεγκλεισμού

Ως απόδοση μικροεγκλεισμού ορίζεται η % ανάκτηση του συστατικού x του εναιωρήματος μέσω της παραγόμενης σκόνης. Για τον προσδιορισμό της ακολουθήθηκαν τα εξής βήματα:

1. Προσθήκη 2 g σκόνης σε 7 mL διαλύτη (νερό)
2. Ανάδευση του μίγματος σε Vortex μέχρι να ομογενοποιηθεί πλήρως και να διαυγάσει
3. Προσδιορισμός της ολικής περιεκτικότητας του διαλύματος (άρα και της σκόνης) στα συστατικά x με κατάλληλες αναλυτικές μεθόδους (Folin Ciocalteu για τις πολυφαινόλες και HPLC για τις ανθοκυάνες).
4. Υπολογισμός της απόδοσης του μικροεγκλεισμού για το συστατικό που μελετάται (έστω x) βάσει της παρακάτω σχέσης:

$$\%\ \textit{Απόδοση μικροεγκλεισμού} = \frac{\textit{Πειραματική ανάκτηση } x\ (\frac{mg_x}{g_{\textit{σκόνης}}})}{\textit{Θεωρητική ανάκτηση } x\ (\frac{mg_x}{g_{\textit{σκόνης}}})} \times 100\% \qquad (3.1)$$

Για τον υπολογισμό της θεωρητικής ανάκτησης του συστατικού x γίνεται η παραδοχή ότι η μάζα της συνολικής σκόνης που παραλαμβάνεται ταυτίζεται με τη μάζα ολικών στερεών του εναιωρήματος από το οποίο προήλθε. Βάσει αυτού, 100 % απόδοση προκύπτει όταν ολόκληρη η ποσότητα του συστατικού x που περιεχόταν στο εκχύλισμα διαβιβαστεί στο τελικό προϊόν (σκόνη).

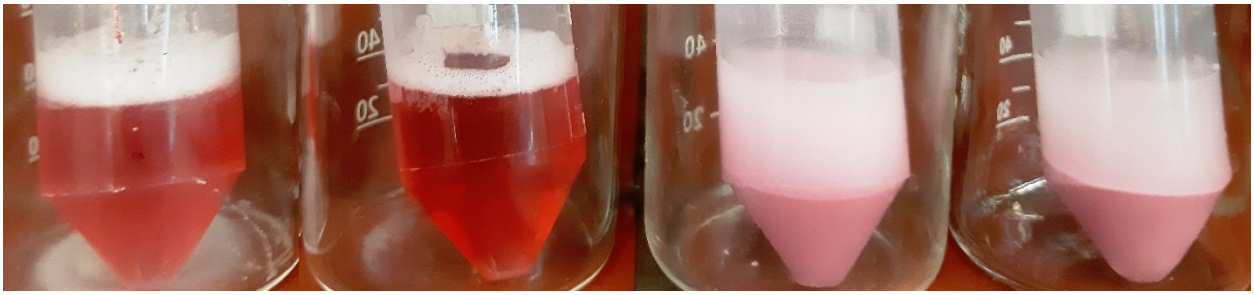
Αποτελεσματικότητα μικροεγκλεισμού

Ως αποτελεσματικότητα μικροεγκλεισμού ορίζεται το % ποσοστό του συστατικού x της σκόνης που βρίσκεται εγκλεισμένο στο εσωτερικό των μικροκάψουλων. Για την εξαγωγή του ποσοστού αυτού προσδιορίζεται αρχικά η ποσότητα του συστατικού x που βρίσκεται προσκολλημένη στις μικροκάψουλες επιφανειακά και ακολούθως αφαιρείται από την ολική ανάκτησή του (πειραματική). Η διαδικασία είναι η εξής:

1. Προσθήκη 2 g σκόνης σε 7 mL αιθανόλης για καταβύθιση των μικροκάψουλων.
2. Ανάδευση του μίγματος σε Vortex ώστε να επιτευχθεί πλήρης έκπλυση της σκόνης και παραλαβή των επιφανειακών συστατικών της στον όγκο του υγρου.
3. Φυγοκέντρηση του μίγματος για 10 min με συχνότητα 8000 rpm για διαχωρισμό των φάσεων.

4. Απόχυση του υπερκείμενου διαλύματος και προσδιορισμός της περιεκτικότητάς του (άρα και της επιφάνειας της σκόνης) στα συστατικά x με κατάλληλες αναλυτικές μεθόδους (Folin Ciocalteu για τις πολυφαινόλες και HPLC για τις ανθοκυάνες).
5. Υπολογισμός της αποτελεσματικότητας του μικροεγκλεισμού για το συστατικό που μελετάται (έστω x) βάσει της παρακάτω σχέσης:

$$\%\ Αποτελεσματικότητα = \frac{Πειραματική\ ανάκτηση\ x\left(\frac{mg_x}{g_{σκόνης}}\right) - Επιφανειακή\ ανάκτηση\ x\left(\frac{mg_{x\ (επιφάνειας)}}{g_{σκόνης}}\right)}{Πειραματική\ ανάκτηση\ x\left(\frac{mg_x}{g_{σκόνης}}\right)} \times 100\% \qquad (3.2)$$



Εικόνα 3-19. Από αριστερά προς τα δεξιά: υδατικό διάλυμα σκόνης με φορέα MD-GA, υδατικό διάλυμα σκόνης με φορέα MD, μίγμα αιθανόλης / σκόνης με φορέα MD-GA, μίγμα αιθανόλης / σκόνης με φορέα MD. Είναι εμφανές ότι οι μικροκάψουλες δεν διαλύθηκαν αλλά καθίζαναν στην αιθανόλη, ενώ διαλύθηκαν πλήρως στο νερό, απελευθερώνοντας τα εγκλεισμένα συστατικά τους και προκαλώντας χρώση του διαλύτη.

3.7. Αναλυτικές μέθοδοι ταυτοποίησης και ποσοτικοποίησης συστατικών

Ξήρανση για τον προσδιορισμό της περιεχόμενης υγρασίας και των ολικών στερεών

Για τον προσδιορισμό της περιεχόμενης υγρασίας στις πρώτες ύλες των σειρών πειραμάτων (φλοιοί και σάρκες καρπού, αποξηραμένος καρπός, πυρήνας χυμοποίησης, κόνεις), προζυγισμένη ποσότητα κάθε υλικού τοποθετήθηκε σε πυρίμαχο, προζυγισμένο περιέκτη και εισήχθη σε κλίβανο (Binder, Germany). Η θερμική ξήρανση διήρκεσε περίπου 24 ώρες στους 100°C και έπειτα το ξηρό υπόλειμμα αποθηκεύτηκε σε ξηραντήρα μέχρι να αποκτήσει θερμοκρασία περιβάλλοντος. Το μικτό βάρος του δείγματος καταγράφηκε εκ νέου και το ποσοστό της υγρασίας υπολογίσθηκε ως εξής:

$$\%\,\upsilon\gamma\rho\alpha\sigma\acute{\iota}\alpha = \frac{GW_{\nu\omega\pi\acute{o}}\,(g) - GW_{\xi\eta\rho\acute{o}}\,(g)}{NW_{\nu\omega\pi\acute{o}}\,(g)} \times 100\,\%\,, \qquad (3.3)$$ όπου

GW το μικτό βάρος (gross weight) του δείγματος και

NW το καθαρό βάρος (net weight)

Αντίστοιχη διαδικασία ακολουθήθηκε και για τον προσδιορισμό της ξηρής μάζας των χυμών και των εκχυλισμάτων. Ορισμένος όγκος κάθε προς ανάλυση υγρού μεταφέρθηκε με σιφώνιο πλήρωσης σε πυρίμαχο, προζυγισμένο δοχείο και υποβλήθηκε σε θερμική ξήρανση (κλίβανος Binder, 24 h, 100°C). Μετά την ολοκλήρωση της ξήρανσης αφέθηκε σε ξηραντήρα και τέλος ζυγίσθηκε στον αναλυτικό ζυγό. Η κατ' όγκο περιεκτικότητα του υγρού σε ολικά στερεά υπολογίσθηκε ως εξής:

$$\mathit{Ολικά\ εκχυλισμένα\ στερεά}\ (\frac{g}{mL}) = \frac{GW_{\xi\eta\rho\acute{o}}\,(g) - T\,(g)}{V_s(mL)}\,, \qquad (3.4)$$ όπου

GW το μικτό βάρος (gross weight)

T το απόβαρο και

V_s ο όγκος του δείγματος

Η μέθοδος Folin – Ciocalteu

Η αναλυτική μέθοδος Folin-Ciocalteu (F-C) προτάθηκε το 1927 από τους Otto Folin, Vintilă Ciocâlteu και Willey Glover Denis και χρησιμοποιήθηκε αρχικά για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης της τυροσίνης. Αργότερα όμως διαπιστώθηκε ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ακρίβεια για ένα πλήθος ακόμα ενώσεων και πλέον χρησιμοποιείται κατά κανόνα για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης φαινολικών ενώσεων στα διάφορα διαλύματα. Το εν λόγω αντιδραστήριο είναι ένα διάλυμα σύνθετων πολυμερών ιόντων που προέρχονται από φωσφο-μολυβδαινικά και φωσφο-βολφραμικά οξέα. Σε αλκαλικό περιβάλλον τα οξέα αυτά ανάγονται, ενώ ταυτόχρονα οι φαινολικές ενώσεις οξειδώνονται. Ως αποτέλεσμα, παράγονται οξείδια του βολφραμίου και του μολυβδαινίου τα οποία προσδίδουν στο

διάλυμα κυανό χρώμα. Το χρώμα αυτό παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση στα 765 nm και η ένταση του είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του διαλύματος σε φαινολικές ενώσεις (Everette et al., 2010).

Ο μηχανισμός των αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα δεν έχει διαπιστωθεί με σαφήνεια, ωστόσο η μέθοδος είναι ευρέως διαδεδομένη διότι παρέχει αναπαραγωγίσιμα αποτελέσματα ικανοποιητικής ακρίβειας.

Εικόνα 3-20. Διαλύματα πριν (αριστερά) και μετά (δεξιά) την οξείδωση των φαινολικών ενώσεων με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu.

Πρωτόκολλο της Μεθόδου

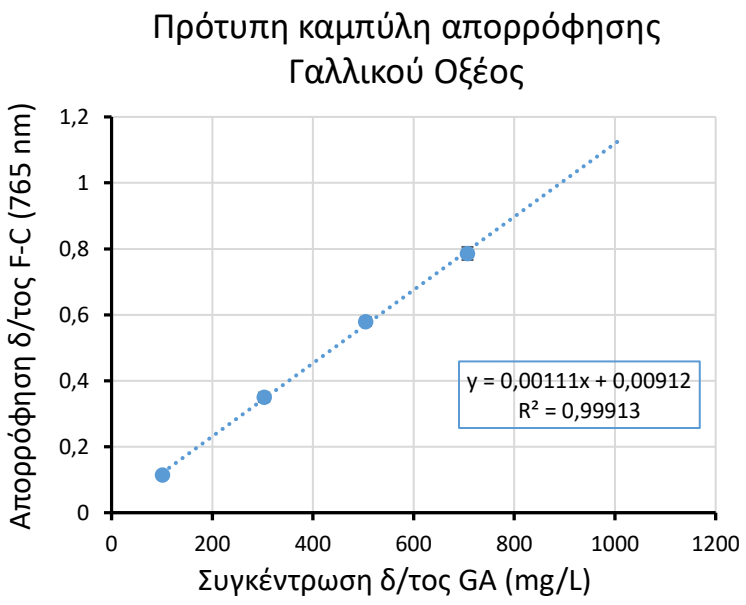
Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης φαινολικών ενώσεων με το αντιδραστήριο F-C ακολουθήθηκαν τα βήματα που προβλέπει το πρωτόκολλο της μεθόδου:

1. Παρασκευάσθηκε το παρακάτω διάλυμα με τη σειρά που υποδεικνύεται:
   i. Αραίωση 100 μL προς ανάλυση δείγματος με 7,9 mL νερό
   ii. Προσθήκη 500 μL αντιδραστηρίου F-C
   iii. Προσθήκη 1,5 mL υδατικού κορεσμένου διαλύματος ανθρακικού νατρίου Na_2CO_3
   iv. Ανάδευση
2. Το διάλυμα επωάσθηκε για 2,5 h. Το αντιδραστήριο F-C οξειδώνεται αυθόρμητα στο φως και αυτό μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένα αποτελέσματα, για αυτό επιλέχθηκε ένα σκιερό μέρος για την επώαση.
3. Το διάλυμα φωτομετρήθηκε στα 765 nm (Hitachi, Japan), αφού πρώτα η ένδειξη του οργάνου διορθώθηκε με χρήση τυφλού διαλύματος.
4. Υπολογίσθηκε η συγκέντρωση σε πολυφαινόλες βάσει της τιμής απορρόφησης και της καμπύλης αναφοράς Γαλλικού Οξέος.

Χάραξη καμπύλης αναφοράς Folin Ciocalteu

Απαιτήθηκε αρχικά η κατασκευή καμπύλης αναφοράς ώστε οι απορροφήσεις των δειγμάτων να εκφραστούν σε μονάδες συγκέντρωσης. Για το σκοπό αυτό, πρότυπο γαλλικό οξύ (Gallic Acid – GA) υπέστη διαδοχικές αραιώσεις με διάλυμα νερού-αιθανόλης σε αναλογία 10:1 και προέκυψαν δείγματα

συγκεντρώσεων 101, 303, 505, 707 και 1010 mg_{GAE}/L. Εν συνεχεία, παρασκευάσθηκαν διαλύματα Folin-Ciocalteu βάσει του πρωτοκόλλου της μεθόδου και αφού ολοκληρώθηκε η επώασή τους φωτομετρήθηκαν στα 765 nm (Hitachi, Japan). Από τις μετρήσεις που ελήφθησαν κατασκευάστηκε η ακόλουθη καμπύλη αναφοράς, βάσει της οποίας εκφράστηκαν οι συγκεντρώσεις όλων των δειγμάτων σε ολικό φαινολικό περιεχόμενο (Total Polyphenols – TP). Η μονάδα μέτρησης είναι mg_{GAE}/L (GAE = Gallic Acid Equivalents = Ισοδύναμα Γαλλικού Οξέος).

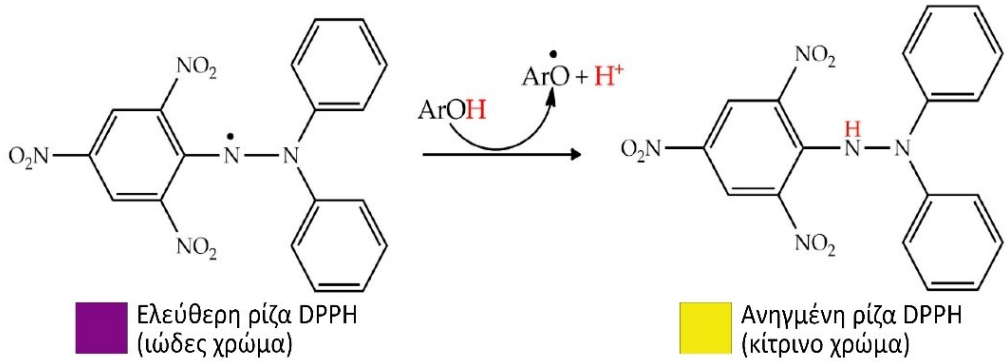


Διάγραμμα 3-1. Καμπύλη αναφοράς Γαλλικού Οξέος (GA).

Η μέθοδος DPPH

Σε συνέχεια της μελέτης των φαινολικών ενώσεων, είναι σημαντικό να προσδιοριστεί μεταξύ αυτών η ποσότητα των φαινολών με αντιριζική ικανότητα, εκείνων δηλαδή που μπορούν να δωρίσουν πρωτόνια και να λειτουργήσουν ως «δεσμευτές» ελεύθερων ριζών.

Η μέθοδος προσδιορισμού με DPPH αναπτύχθηκε αρχικά από τον Marsden Blois το 1958, όμως στη συνέχεια προτάθηκαν πολλές βελτιστοποιημένες παραλλαγές της (Kedare & Singh, 2011). Η βασική αρχή ωστόσο παραμένει η ίδια και στηρίζεται σε ένα κύριο αντιδραστήριο, την ελεύθερη ρίζα του αζώτου α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl (DPPH), η οποία είναι μία από τις ελάχιστες εμπορικά διαθέσιμες ελεύθερες ρίζες. Η ένωση αυτή διαθέτει χαρακτηριστικό ιώδες χρώμα που παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση στα 515 nm, ενώ όταν αναχθεί αποχρωματίζεται. Διαλύοντας ποσότητα αντιοξειδωτικών σε διάλυμα DPPH, μέρος των ελεύθερων ριζών δεσμεύεται από τα αντιοξειδωτικά, οπότε παρατηρείται εξασθένηση του ιώδους χρώματος. Η μεταβολή της απορρόφησης του χρώματος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης αντιοξειδωτικών.



Εικόνα 3-21. Η αντίδραση αναγωγής του DPPH. Ως ArOH ορίζεται η ένωση που λειτουργεί ως δεσμευτής της ελέυθερης ρίζας, εδώ είναι τα φαινολικά συστατικά

Πρωτόκολλο της Μεθόδου

Η μέθοδος προσδιορισμού της συγκέντρωσης φαινολικών ενώσεων με αντιοξειδωτική ικανότητα με το αντιδραστήριο DPPH προβλέπει τα βήματα που ακολουθήθηκαν στην παρούσα μελέτη:

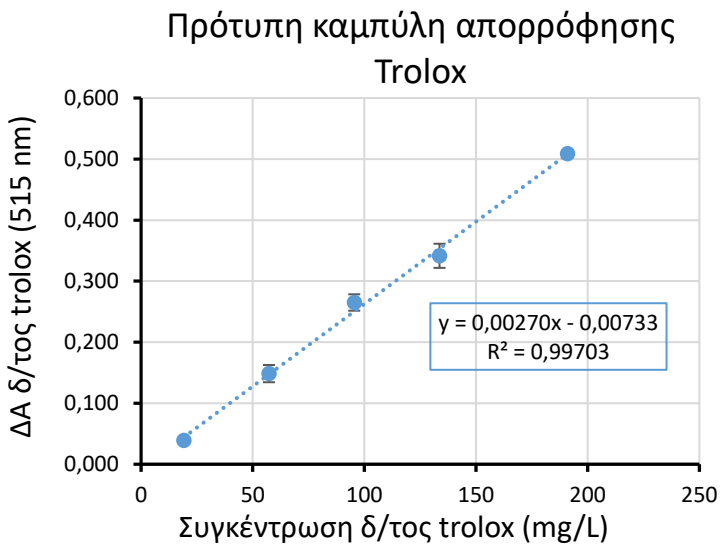
1. Παρασκευή διαλύματος DPPH 25 ppm με αραίωση 2,5 mg στερεού DPPH σε 100 mL μεθανόλης.
2. Παρασκευή προς ανάλυση δείγματος με αραίωση 100 μL διαλύματος αντιοξειδωτικών σε 3,9 mL διαλύματος DPPH.
3. Επώαση διαλύματος για 30 min. Το αντιδραστήριο DPPH είναι και αυτό ιδιαιτέρως φωτοευαίσθητο οπότε επιλέχθηκε ένα σκιερό μέρος.
4. Φωτομέτρηση του προς ανάλυση δείγματος και του διαλύματος DPPH στα 515 nm (Hitachi, Japan), αφού πρώτα η ένδειξη του οργάνου μηδενίστηκε με τυφλό δείγμα (καθαρή μεθανόλη).
5. Υπολογισμός της διαφοράς απορρόφησης (ΔΑ) του προς ανάλυση δείγματος από το καθαρό διάλυμα DPPH και προσδιορισμός της συγκέντρωσης σε φαινολικά με αντιοξειδωτική ικανότητα βάσει της καμπύλης αναφοράς

Εικόνα 3-22. Διάλυμα DPPH 25ppm σε ογκομετρική φιάλη.

Χάραξη καμπύλης αναφοράς DPPH

Για την αξιοποίηση των απορροφήσεων που καταγράφηκαν, απαιτήθηκε αρχικά η κατασκευή καμπύλης αναφοράς βάσει της οποίας οι ΔΑ των δειγμάτων που προέκυψαν από την ανάλυση εκφράστηκαν σε μονάδες συγκέντρωσης. Για το σκοπό αυτό, πρότυπο διάλυμα οξέος Trolox – μεθανόλης υποβλήθηκε σε διαδοχικές αραιώσεις με νερό και προέκυψαν δείγματα συγκεντρώσεων 19, 57, 95, 164 και 191 mg_{Trolox}/L. Εν συνεχεία, παρασκευάσθηκαν διαλύματα DPPH βάσει του

πρωτοκόλλου της μεθόδου και αφού ολοκληρώθηκε η επώασή τους φωτομετρήθηκαν στα 515 nm (Hitachi, Japan). Από τις μετρήσεις που ελήφθησαν υπολογίσθηκαν οι αντίστοιχες διαφορές ΔΑ και κατασκευάστηκε η ακόλουθη καμπύλη αναφοράς. Βάσει αυτής θα εκφραστούν στο εξής οι συγκεντρώσεις όλων των δειγμάτων σε ολικό φαινολικό περιεχόμενο με αντιοξειδωτική ικανότητα. Η μονάδα μέτρησης είναι mg_{TE}/L (TE = Trolox Equivalents = Ισοδύναμα αντιριζικής ικανότητας Trolox).



Διάγραμμα 2-2. Καμπύλη αναφοράς Trolox.

Καταβύθιση ταννινών με πρωτεΐνη BSA

Οι πολυφαινόλες είναι σε μεγάλο βαθμό υπεύθυνες για τη στυπτικότητα που παρουσιάζουν διάφορα τρόφιμα (τσάι, κρασί κ.α) λόγω των αλληλεπιδράσεων τους με βασικές πρωτεΐνες του σάλιου που οδηγούν στην καθίζηση συμπλεγμάτων πολυφαινόλης/πεπτιδίου. Τα πολυφαινολικά μόρια προσδένονται μέσω των δακτυλίων τους σε υδρόφοβες επιφάνειες του πεπτιδίου και όταν η επικάλυψη είναι επαρκώς εκτεταμένη ώστε να δημιουργηθούν συνεργατικές γέφυρες πολυφαινόλης, το πεπτίδιο διμερίζεται και καθιζάνει (Charlton et al., 2002). Στον καρπό της αρώνιας, η κύρια ομάδα πολυφαινολών που εντοπίζεται είναι οι ταννίνες.

Το 1980, οι Hagerman and Butler βασιζόμενοι στην παραπάνω παρατήρηση, χρησιμοποίησαν αλβουμίνη από βόειο ορό (Bovine serum albumin – BSA) ώστε να απομακρύνουν τις ταννίνες από διάφορα διαλύματα. Διαπίστωσαν ότι η διαφορά που παρατηρήθηκε στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο μπορούσε να αξιοποιηθεί για την ποσοτικοποίηση των ταννινών που καταβυθίστηκαν.

Πρωτόκολλο της μεθόδου

Για τον προσδιορισμό των ταννινών με διάλυμα BSA η διαδικασία που ακολουθήθηκε είναι η εξής:

1. Παρασκευή ρυθμιστικού διαλύματος οξικού οξέος/οξικού νατρίου 0,2M, pH = 4,9: Οξικό νάτριο αραιώθηκε σε απιονισμένο νερό και παρασκευάσθηκε διάλυμα συγκέντρωσης 0,2 M (Δ1). Κατά ανάλογο τρόπο παρασκευάσθηκε διάλυμα οξικού οξέος ίδιας συγκέντρωσης (Δ2). Το Δ2 αραιώθηκε σταδιακά με Δ1, με ταυτόχρονη ανάδευση και πεχαμέτρηση έως ότου pH = 4,9.
2. Διάλυση στερεής πρωτεΐνης BSA σε μέρος του ρυθμιστικού και παρασκευή διαλύματος συγκέντρωσης 33 $g_{BSA}/L_{ρυθμιστικού}$ (Δ3). Η χρήση ρυθμιστικού διαλύματος είναι απαραίτητη για να διασφαλισθεί ότι το pH θα παραμείνει διάφορο του ισοηλεκτρικού σημείου της πρωτεΐνης (pI = 4), πράγμα το οποίο θα την απέτρεπε από την αντίδραση της με τις ταννίνες.
3. Ανάμιξη προς ανάλυση δείγματος με Δ3 (αναλογία 2:3) σε σωλήνα φυγοκέντρησης. Σε δεύτερο σωλήνα, το προς ανάλυση δείγμα αναμίχθηκε με ρυθμιστικό (χωρίς πρωτεΐνη) στην ίδια αναλογία. Τα δείγματα αφέθηκαν σε ηρεμία για 15 περίπου λεπτά, ώστε να ολοκληρωθεί η καταβύθιση των ταννινών.
4. Φυγοκέντρηση δειγμάτων για 10 min με ταχύτητα 10000 rpm (Thermo Scientific, Japan).
5. Απομάκρυνση των υπερκείμενων υγρών από τους σωλήνες φυγοκέντρησης και προσδιορισμός του ολικού φαινολικού τους περιεχομένου με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu.
6. Υπολογισμός της διαφοράς των απορροφήσεων A_{765} και αναγωγή σε μονάδες συγκέντρωσης μέσω της καμπύλης αναφοράς Γαλλικού οξέος.

Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)

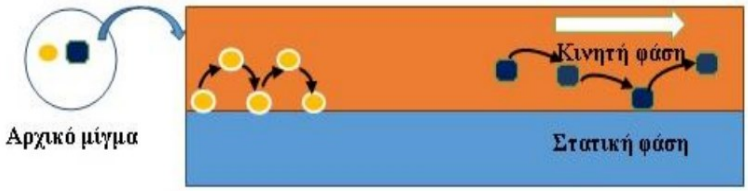
Χρωματογραφία – Αρχή της μεθόδου

Ο όρος «χρωματογραφία» περιλαμβάνει ένα πλήθος αναλυτικών τεχνικών που εφαρμόζονται για το διαχωρισμό των συστατικών ενός μίγματος. Τα επιμέρους συστατικά, αφού διαχωριστούν, προσδιορίζονται ποιοτικά και ποσοτικά από συζευγμένη τεχνική ανίχνευσης (συνήθως φασματοσκοπική).

Κάθε χρωματογραφική τεχνική περιλαμβάνει μία κινητή φάση (mobile phase) και μία στατική (static phase). Η κινητή φάση αποτελείται από ένα διαλύτη, ή μίγμα διαλυτών ενώ η στατική από πορώδες στερεό ή υγρό καθηλωμένο σε στερεό υπόστρωμα. Το προς ανάλυση δείγμα έρχεται σε επαφή με τις δύο φάσεις και λόγω της διαφορετικής φυσικοχημικής συγγένειας που εμφανίζουν τα συστατικά του με την κάθε φάση, επέρχεται ο διαχωρισμός. Πιο αναλυτικά: Κάθε μόριο μιας ουσίας κατά την κίνησή του διαμέσω της στήλης μετακινείται πολλές φορές μεταξύ της κινητής και της στατικής φάσης. Αν αλληλεπιδρά ισχυρά με την κινητή φάση θα παρασυρθεί ταχύτερα, ενώ αν αλληλεπιδρά ισχυρά με τη στατική φάση θα κινηθεί βραδύτερα. Η βαθμός αλληλεπίδρασης των μορίων με την κάθε φάση ορίζεται από διάφορα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά όπως το μέγεθος, το φορτίο, την πτητικότητα, την διαλυτότητα κ.α. Ως αποτέλεσμα όλων των παραπάνω, τα διάφορα συστατικά του μίγματος εξέρχονται από τη στήλη σε διαφορετικούς χρόνους και έτσι επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός τους. Ο χρόνος έκλουσης (ή χρόνος κατακράτησης, ή χρόνος ανάσχεσης) t_R αποτελεί χαρακτηριστική σταθερά μιας ουσίας, υπό αυστηρά καθορισμένες πειραματικές συνθήκες (Κοντογιάννης Χ., 2015).

Οι χρωματογραφικές τεχνικές διακρίνονται σε:

- Χρωματογραφία στήλης (η στατική φάση βρίσκεται σε μορφή στήλης)
- Επίπεδη χρωματογραφία - TLC (η στατική φάση βρίσκεται σε μορφή επίπεδης στοιβάδας)
- Αέρια χρωματογραφία - GC (ως κινητή φάση χρησιμοποιείται αδρανές αέριο)
- Υγρή χρωματογραφία - LC (η κινητή φάση είναι υγρό) κ.α. ((Ντουρτόγλου Β., 2014)



Εικόνα 3-23. . Η διαφορετική πορεία δύο ουσιών ενός μίγματος διαμέσω της στήλης. Τα μπλε μόρια κατανέμονται κυρίως στην κινητή φάση, οπότε κινούνται ταχέως. Τα κίτρινα μόρια αλληλεπιδρούν ισχυρότερα με τη στατική φάση, οπότε επιβραδύνονται.

Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (High performance Liquid Chromatography – HPLC)

Αποτελεί παραλλαγή της κλασικής χρωματογραφίας στήλης, όπου η κινητή φάση ρέει με τη βοήθεια αντλίας. Αυτό επιταχύνει την ανάλυση και μειώνει πολύ σημαντικά το μέγεθος της στήλης που απαιτείται για έναν διαχωρισμό. Διακρίνεται σε:

- HPLC με στήλη κανονικής φάσης, όπου η στατική φάση είναι πολική και η κινητή μειωμένης πολικότητας. Οι άπολες ενώσεις εκλούονται πρώτες και με σταδιακή αύξηση της πολικότητας της κινητής φάσης εκλούονται τα πιο πολικά μόρια.
- HPLC με στήλη αντίστροφης φάσης, όπου η στατική φάση είναι άπολη και η κινητή πολική. Οι πολικές ενώσεις εκλούονται πρώτες και με σταδιακή μείωση της πολικότητας της κινητής φάσης εκλούονται τα λιγότερο πολικά μόρια.

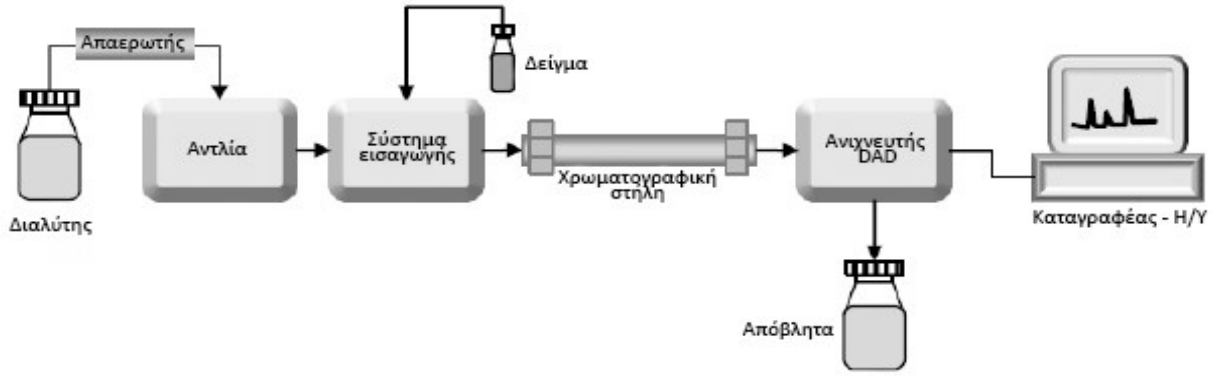
Οργανολογία HPLC

Η εργαστηριακή διάταξη που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη αποτελεί μια τυπική διάταξη HPLC και περιλαμβάνει κατά σειρά τα παρακάτω μέρη:

- Περιέκτες διαλυτών: Φιάλες στις οποίες είναι αποθηκευμένοι οι διαλύτες, μίγμα των οποίων θα αποτελέσει την κινητή φάση.
- Απαερωτής κενού: Εξασφαλίζει την πλήρη απαέρωση της κινητής φάσης, ώστε να είναι εφικτός ο έλεγχος της πίεσης στη στήλη.
- Αντλία: Εξασφαλίζει τη συνεχή άντληση και προώθηση της κινητής φάσης στο σύστημα, υπό ρυθμιζόμενη υψηλή πίεση και ροή.
- Σύστημα εισαγωγής δείγματος: Αυτόματο σύστημα εισαγωγής, μεταβλητού (προεπιλεγμένου) όγκου έγχυσης. Βρίσκεται πριν τη στήλη και εισάγει το δείγμα στη ροή της κινητής φάσης.
- Χρωματογραφική στήλη: Επιτυγχάνει το διαχωρισμό του μίγματος στα συστατικά του και είναι θερμοστατούμενη. Ακριβώς πριν, έχει τοποθετηθεί σε σειρά μια «προ-στήλη» η οποία λειτουργεί ως προστασία, αφού έχει τη δυνατότητα κατακράτησης τυχόντων στερεών

υπολειμμάτων που θα μπορούσαν να προκαλέσουν σημαντική βλάβη στη λειτουργία της χρωματογραφικής στήλης.

- Ανιχνευτής: Η ανίχνευση των ουσιών που εξέρχονται της στήλης γίνεται συνεχώς, με ανιχνευτή συστοιχίας φωτοδιοδίων (Diode Array Detector, DAD). Το παραγόμενο από τον ανιχνευτή φως προσπίπτει σε κυψελίδα συνεχούς ροής από χαλαζία και μετριέται η απορρόφηση του φωτός σε διάφορα (προκαθορισμένα) μήκη κύματος. Άλλος ευρέως χρησιμοποιούμενος ανιχνευτής είναι ο ανιχνευτής ορατού-υπεριώδους (UV/Vis Detector). Ακολουθούν αρκετοί ακόμη όπως οι αγωγιμομετρικοί ανιχνευτές (Conductivity Detectors), οι φασματογράφοι μάζας MS (Mass Spectroscopy Detectors, MS Detectors), οι ανιχνευτές δείκτη διάθλασης (Refractive Index Detectors) κ.α.
- Καταγραφικό: Καταγράφει συνεχώς κατά τη διάρκεια μιας ανάλυσης το μετρούμενο σήμα και το προωθεί στον υπολογιστή που παράγει το χρωματογράφημα της ανάλυσης.
- Συλλέκτης αποβλήτων: Φιάλη όπου καταλήγει η κινητή φάση μαζί με τα περιεχόμενα συστατικά του δείγματος.



Εικόνα 3-24. Τυπική εργαστηριακή διάταξη HPLC

HPLC που ακολουθήθηκαν στην παρούσα μελέτη

Στην παρούσα μελέτη η μέθοδος που εφαρμόσθηκε κατά κύριο λόγο ήταν μια HPLC με στήλη αντίστροφης φάσης και τα χαρακτηριστικά που παρουσιάζονται παρακάτω [διάταξη HPLC (1)]. Προφανώς, τα πολικότερα συστατικά εξήλθαν ταχύτερα από τη χρωματογραφική στήλη και σε μεταγενέστερους χρόνους εξήλθαν τα πιο άπολα συστατικά, κατά σειρά ελαττούμενης πολικότητας.

Η ποσότητα του δείγματος που ενέθηκε ορίστηκε στα 20 μL για τα προς ανάλυση δείγματα. Ωστόσο, για τους σκοπούς της παρούσας μελέτης απαιτήθηκε η κατασκευή καμπύλης αναφοράς για την ποσοτικοποίηση των ανθοκυανινών, με πρότυπο διάλυμα κυανιδίνης. Στην περίπτωση αυτή, επιλέχθηκαν ενέσεις δείγματος όγκου 2, 5, 10 και 20 μL.

Η αναλύσεις διήρκεσαν 70 λεπτά και περιελάμβαναν τη ροή μίγματος τριών διαλυτών γραμμικά μεταβαλλόμενης αναλογίας. Η ροή του μίγματος διαλυτών ρυθμίστηκε στο 1 mL/min.

Αρχικά, το μίγμα αποτελούταν κατά 90% A (νερό ποιότητας HPLC οξινισμένο κατά 0,2% με TFA [τριφθοροξικό οξύ]), 6% B (μεθανόλη ποιότητας HPLC οξινισμένη κατά 0,2% με TFA) και 4% C

(ακετονιτρίλιο ποιότητας HPLC οξινισμένο κατά 0,2% με TFA). Η μεταβολή στη σύσταση παρουσιάζεται στον Πίνακα 3-3:

Πίνακας 3-3. Σύσταση του μίγματος διαλυτών (κινητή φάση) κατά τη χρονική εξέλιξη της ανάλυσης

Χρόνος t (min)	A % (H2O 0.2% TFA)	B % (MeOH 0.2% TFA)	C % (MeCN 0.2% TFA)
0	90	6	4
5	85	9	6
30	71	17,4	11,6
60	0	85	15
70	0	85	15

Ως σταθερή φάση χρησιμοποιήθηκε στήλη αντίστροφης φάσης με διαστάσεις 4,6mm x 150 mm, διάμετρο σωματιδίων 5 μm και μέγεθος πορώδους 95Å (Agilent Technologies, Germany).

Ο ανιχνευτής που χρησιμοποιήθηκε ήταν συστοιχίας φωτοδιοδίων - DAD (Hewlett Packard, Germany) και για τις παρούσες αναλύσεις ορίσθηκε η λήψη δεδομένων σε 4 μήκη κύματος (280, 320, 360 και 520 nm). Η επιλογή των συγκεκριμένων μηκών κύματος σχετίζεται με το γεγονός ότι οι ουσίες που μελετώνται παρουσιάζουν σε αυτά μέγιστες απορροφήσεις. Πιο συγκεκριμένα, τα 320 nm ενδείκνυνται για τη μελέτη των φαινολικών οξέων, τα 360 nm για τη μελέτη των φλαβονολών και τα 520 για τη μελέτη των ανθοκυανινών, στις οποίες είναι πλούσιος ο καρπός της αρώνιας. Τα 280 nm είναι ένα μήκος κύματος στο οποίο όλα τα παραπάνω συστατικά παρουσιάζουν μετρήσιμες απορροφήσεις, οπότε αποτελούν μια καλή επιλογή για την αξιολόγηση του δείγματος σε αρχικό επίπεδο.

Συμπληρωματικά, διερευνήθηκε η περιεκτικότητα του φυσικού χυμού σε αναγωγικά σάκχαρα με HPLC. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε η διάταξη (2), με στήλη Microsorb-MV 100 NH2 (Agilent Technologies, Germany) και ανιχνευτή δείκτη διάθλασης (Agilent Technologies, Germany). Δείγματα φυσικού χυμού (εργαστηριακού και εμπορικού) ενέθηκαν στη στήλη από την οποία διερχόταν διαλύτης ακετονιτρίλιο - νερό σε αναλογία 70:30.

Ποσοτικοποίηση επιμέρους φαινολικών συστατικών με HPLC (φαινολικά οξέα, φλαβονόλες, ανθοκυάνες)

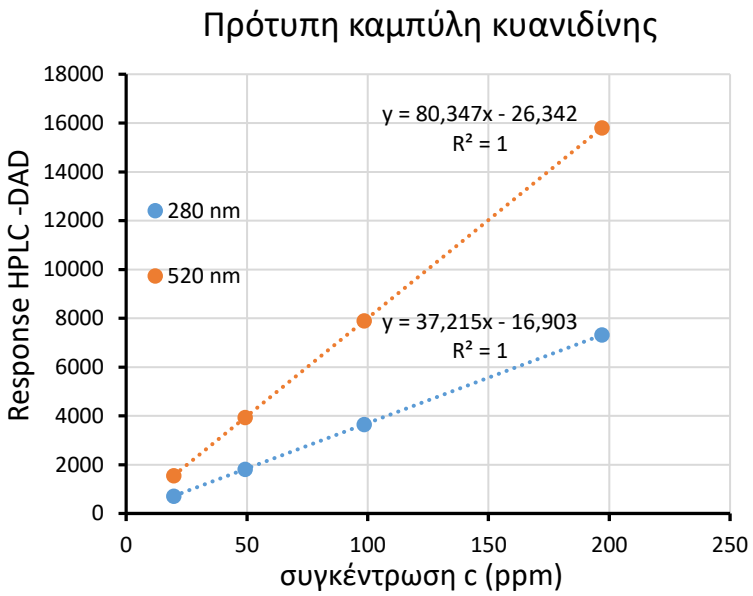
Στην παρούσα μελέτη, εξετάσθηκαν οι συγκεντρώσεις τριών ομάδων φαινολικών ενώσεων (φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή, ανθοκυανίνες) στα διάφορα εκχυλίσματα (αποξηραμένου καρπού, φρέσκου φλοιού και φρέσκιας σάρκας) και στο φυσικό χυμό της αρώνιας. Για τη μετατροπή των απορροφήσεων που μετρήθηκαν με την HPLC σε συγκεντρώσεις, χρησιμοποιήθηκαν οι καμπύλες αναφοράς που παρουσιάζονται παρακάτω.

Ποσοτικοποίηση ανθοκυανών

Για την ποσοτικοποίηση των ανθοκυανών των δειγμάτων απαιτήθηκε η χάραξη πρότυπης καμπύλης κυανιδίνης. Για το σκοπό αυτό ζυγίσθηκαν 2,3 mg στερεής κυανιδίνης και ακολούθως αραιώθηκαν σε 10 mL διαλύματος μεθανόλης οξινισμένης κατά 0,5% με TFA.

Η στερεή κυανιδίνη που χρησιμοποιήθηκε εμφάνιζε 96 % καθαρότητα και επιπλέον δεν αποτελούταν από καθαρά ιόντα κυανιδίνης, αλλά από μόρια άλατος κυανιδίνης - χλωρίου. Οπότε, τα 2,3 mg άλατος κυανιδίνης που ζυγίσθηκαν περιείχαν τελικά 1,97 mg καθαρής κυανιδίνης (λαμβάνοντας υπόψιν το βαθμό καθαρότητας και τα μοριακά βάρη χλωρίου και κυανιδίνης) και το διάλυμα που προέκυψε ήταν συγκέντρωσης 197 ppm σε ισοδύναμα καθαρής κυανιδίνης.

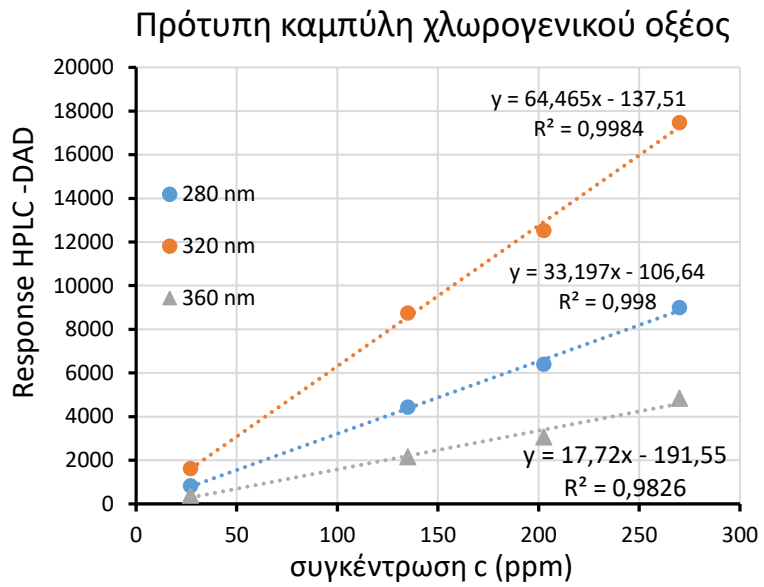
Το διάλυμα κυανιδίνης που παρασκευάσθηκε αναλύθηκε στην HPLC και για την εξαγωγή πολλαπλών δεδομένων επιλέχθηκε η λήψη διαφορετικών όγκων δείγματος (2, 5, 10 και 20 μL). Κάθε ένεση αναλύθηκε εις διπλούν και εξήχθη ο μέσος όρος των εμβαδών των κορυφών. Τελικά, χαράχθηκε η παρακάτω καμπύλη αναφοράς:



Διάγραμμα 3-3. Πρότυπη καμπύλη κυανιδίνης. Οι ανθοκυανίνες εμφανίζουν τη μέγιστη απορρόφηση στα 520 nm.

Ποσοτικοποίηση φαινολικών οξέων

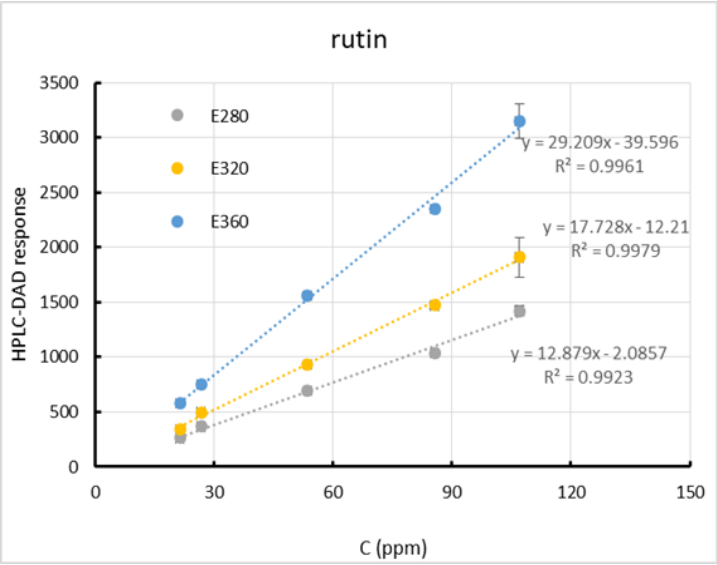
Για την ποσοτικοποίηση των φαινολικών οξέων κατασκευάσθηκε κατά αντίστοιχο τρόπο η καμπύλη αναφοράς του χλωρογενικού οξέος:



Διάγραμμα 3-4. Πρότυπη καμπύλη χλωρογενικού οξέος. Τα φαινολικά οξέα εμφανίζουν μέγιστη απορρόφηση στα 320 nm.

Ποσοτικοποίηση φλαβονολών

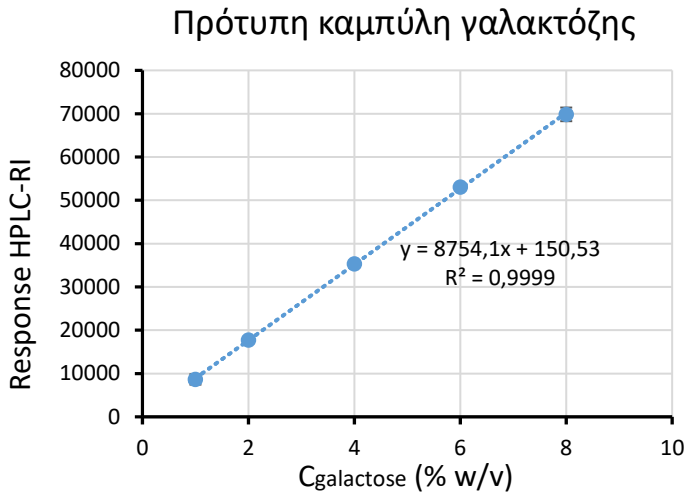
Για την ποσοτικοποίηση των φλαβονολών ελήφθη από το εργαστήριο η καμπύλη αναφοράς της ρουτίνης, που είχε χαραχθεί σε προγενέστερο χρόνο:



Διάγραμμα 3-5. Πρότυπη καμπύλη ρουτίνης. Οι φλαβονόλες εμφανίζουν μέγιστη απορρόφηση στα 360 nm.

Ποσοτικοποίηση αναγωγικών σακχάρων με HPLC

Συμπληρωματικά με τη διερεύνηση των πολυφαινολών, τα εργαστηριακά καθώς και το εμπορικό δείγμα χυμού υποβλήθηκαν σε εντοπισμό και ποσοτικοποίηση αναγωγικών σακχάρων. Τα αναγωγικά σάκχαρα της αρώνιας είναι δύο μονοσακχαρίτες, η γλυκόζη και η φρουκτόζη (Ochmian et al., 2012). Για την ποσοτικοποίησή τους ελήφθη από το εργαστήριο η καμπύλη αναφοράς της γαλακτόζης που είχε χαραχθεί σε προγενέστερο χρόνο:



Διάγραμμα 3-6. Καμπύλη αναφοράς γαλακτόζης.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1. Εκχύλιση των κλασμάτων του καρπού και χαρακτηρισμός τους

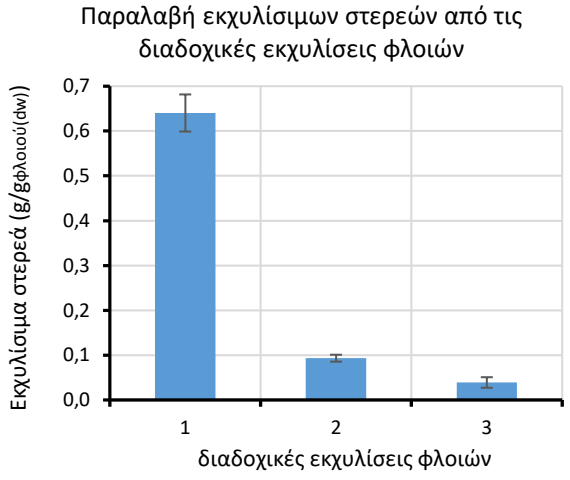
Παραλαβή ολικών στερεών

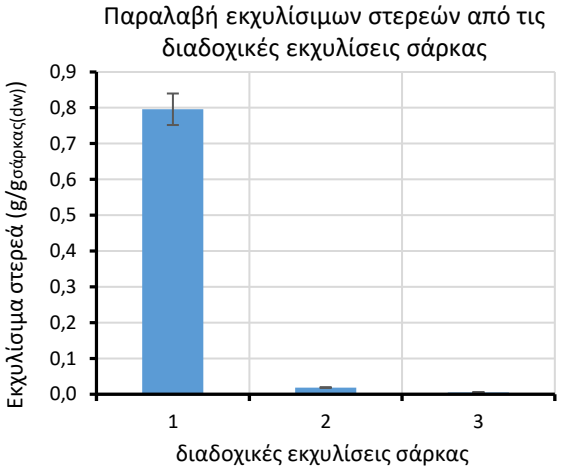
Προζυγισμένη ποσότητα φρέσκου καρπού αρώνιας αποφλοιώθηκε και διαχωρίστηκε σε δύο κλάσματα: το φλοιό και τη σάρκα (ως σάρκα ορίσαμε το κλάσμα σάρκας και κουκουτσιών καθώς ήταν αδύνατος ο μεταξύ τους διαχωρισμός). Τα μέρη που προέκυψαν επαναζυγίσθηκαν για την εξαγωγή της αναλογίας φλοιών/σάρκας και προσδιορίστηκε η υγρασία τους. Ο φλοιός βρέθηκε ότι αντιστοιχεί στο 14 ± 0,8 % επί νωπής μάζας και περιείχε υγρασία ίση με 67,6 ± 0,2 % κατά βάρος. Αντίστοιχα, η σάρκα βρέθηκε ότι αντιστοιχεί στο 86 ± 0,8 % με περιεχόμενη υγρασία 77,7 ± 0,4 % κατά βάρος.

Τα δύο κλάσματα λειοτριβήθηκαν σε γουδί και υποβλήθηκαν σε σειρά 3 διαδοχικών εκχυλίσεων σε λουτρό υπερήχων. Ως διαλύτης επιλέχθηκε MeOH 0,5% TFA (αναλογία 1:25 w/v για τους φλοιούς και 1:20 για τη σάρκα). Τα διαδοχικά εκχυλίσματα μελετήθηκαν αρχικά ως προς τα ολικά στερεά τους, το φαινολικό περιεχόμενο και την αντιριζική ικανότητα.

Από τις παραπάνω σειρές πειραμάτων εκχυλίσθηκαν συνολικά 0,77 ± 0,043 $g_{στερεών}/g_{φλοιών}$ σε ξηρή βάση και 0,820 ± 0,04 $g_{στερεών}/g_{σάρκας}$. Με άλλα λόγια, η απόδοση της εκχύλισης φλοιών σε στερεά ήταν 77,3 % w/w, ενώ της εκχύλισης εσωτερικών 82,0 % w/w (επί ξηρής βάσης).

Αναφορικά με τα συνολικά εκχυλισμένα στερεά από τους φλοιούς, το 82,9 % εξ αυτών παρελήφθη στην πρώτη εκχύλιση, το 12,1 % στη δεύτερη και το 5,0 % στην τρίτη. Για τις σάρκες, τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 97,1 %, 2,3 % και 0,7 %. Βάσει της απόδοσης κάθε διαδοχικής εκχύλισης καταστρώνεται τα παρακάτω διαγράμματα:





Διαγράμματα 4-1 και 4-2. Παραλαβή εκχυλίσιμων στερεών από τα κλάσματα καρπού της αρώνιας. dw = dry weight.

Παρατηρούμε πως οι αποδόσεις των εκχυλίσεων σε στερεά προέκυψαν ιδιαιτέρως υψηλές, γεγονός που σημαίνει πως σχεδόν όλες οι ουσίες που συνθέτουν το μούρο της αρώνιας αποτελούν εκχυλίσιμα συστατικά.

Επιπλέον, παρατηρούμε ότι οι εκχυλίσεις σάρκας εξελίχθηκαν με διαφορετικό τρόπο από τις εκχυλίσεις φλοιών, αφού η παραλαβή του συνόλου των στερεών είχε σχεδόν ολοκληρωθεί από την πρώτη εκχύλιση. Αυτό ίσως σχετίζεται με τη δομή των φυτικών ιστών και την ικανότητα του διαλύτη να διεισδύσει σε αυτούς, όμως όπως θα δούμε παρακάτω, κυρίως οφείλεται στην ύπαρξη στερεών στη σάρκα που εκχυλίσθηκαν ταχύτατα (σάκχαρα).

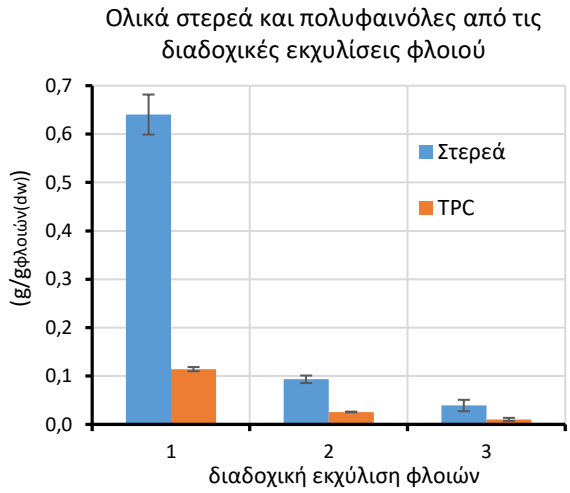
Παραλαβή ολικού φαινολικού περιεχομένου

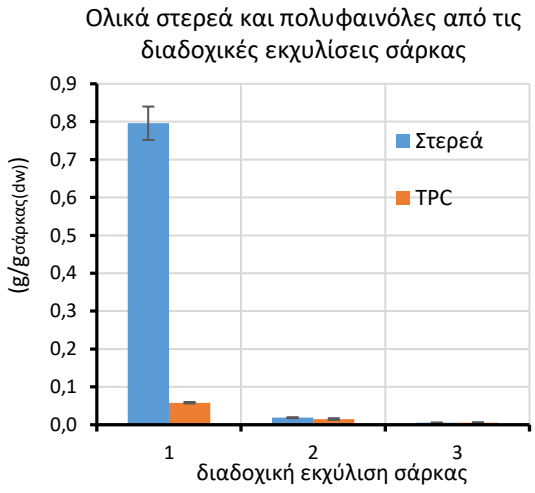
Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) κάθε διαδοχικού εκχυλίσματος φλοιών και σάρκας προσδιορίσθηκε με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu και ποσοτικοποιήθηκε με βάση την καμπύλη αναφοράς του γαλλικού οξέος σε GAE (Gallic Acid Equivalents):

A_{765} = 0,00111c + 0,00912, όπου c η συγκέντρωση σε mg/L

Από τους φλοιούς του καρπού παρελήφθησαν συνολικά 150 ± 5 $mg_{GAE}/g_{φλοιών}$ ενώ από τις εκχυλίσεις των εσωτερικών παρελήφθησαν 79 ± 3 $mg_{GAE}/g_{σάρκας}$ σε ξηρή βάση. Με άλλα λόγια, η απόδοση της εκχύλισης φλοιών σε πολυφαινόλες ήταν 15 % w/w, ενώ για τις σάρκες η αντίστοιχη τιμή ήταν 7,9 % w/w.

Αναφορικά με τις ανεκτημένες πολυφαινόλες από τους φλοιούς, το 76 % εξ αυτών παρελήφθη στην πρώτη εκχύλιση, το 17,1% στη δεύτερη και το 6,9 % στην τρίτη. Για τις σάρκες, τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 73,7 %, 19,1 % και 7,2 %. Συνδυαστικά με τα ευρήματα της προηγούμενης ενότητας (αποδόσεις σε ολικά στερεά) καταστρώνονται τα παρακάτω διαγράμματα:





Διαγράμματα 4-3 και 4-4. Παραλαβή εκχυλίσιμων στερεών και πολυφαινολών (TPC) από τα κλάσματα καρπού της αρώνιας. TPC σε GAE (Gallic Acid Equivalents). dw = dry weight.

Αντίθετα από τα ολικά εκχυλίσιμα στερεά, παρατηρούμε ότι οι πολυφαινόλες εκχυλίσθηκαν κατά παρόμοιο τρόπο από τα δύο κλάσματα (οι αντίστοιχες διαδοχικές αποδόσεις είναι αρκετά κοντά). Αξίζει να σταθούμε επίσης και στο φλοιό του καρπού καθώς αποδείχθηκε βάσει των παραπάνω ένα υλικό ιδιαιτέρως πλούσιο σε φαινολικά συστατικά. Το 15 % του ξηρού βάρους του (και το 19,4% των εκχυλίσιμων στερεών του αντίστοιχα), απαρτίζεται από αυτά.

Πίνακας 4-1. Σύγκριση ανάκτησης στερεών και πολυφαινολών (TPC) με διαδοχικές εκχυλίσεις απο τα κλάσματα καρπού αρώνιας.

	Φλοιοί			Σάρκες		
Διαδοχική εκχύλιση	Εκχυλίσιμα στερεά $g_{στερεών}/g_{φλοιών}$	TPC $mg_{GAE}/g_{φλοιού}$	% TPC/στερεά w/w	Εκχυλίσιμα στερεά $g_{στερεών}/g_{σάρκας}$	TPC $mg_{GAE}/g_{σάρκας}$	% TPC/στερεά w/w
1	0,640 ± 0,041	114 ± 4	17,8 ± 3,1	0,796	58,1 ± 2	7,30 ± 1,76
2	0,093 ± 0,008	25 ± 1	27,6 ± 4,6	0,019	15,1 ± 2	80,6 ± 15
3	0,039 ± 0,012	10 ± 1	26,4 ± 10	0,005	5,7	100
Σύνολο	0,733 ± 0,043	150 ± 5	19,4 ± 3,0	0,820	78,8 ± 3	9,61 ± 2,04

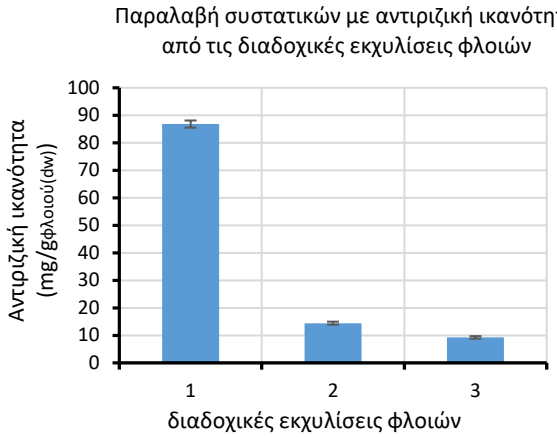
Για τη μελέτη της συσχέτισης μεταξύ των ευρημάτων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση Pearson. Σε διάστημα εμπιστοσύνης 95 %, η πρόοδος παραλαβής στερεών παρουσίασε θετική συσχέτιση με την πρόοδο παραλαβής πολυφαινολών, στατιστικά σημαντική για τους φλοιούς ($p = 0,036$) αλλά όχι για τις σάρκες ($p = 0,098$). Αξίζει να σημειωθεί όμως ότι στην περίπτωση της σάρκας, εμφανίζεται αρνητική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητων «Εκχυλίσιμα στερεά» και «% TPC/στερεά». Με άλλα λόγια όσο προχωράει η εκχύλιση, τόσο αυξάνεται η % περιεκτικότητά των παραληφθέντων στερεών σε φαινόλες. Φαίνεται λοιπόν ότι υπάρχουν συστατικά υψηλότερων συγκεντρώσεων από τα φαινολικά (πιθανότατα είναι τα σάκχαρα) των οποίων οι εκχυλίσεις ολοκληρώνονται ταχύτατα. Μάλιστα, η ανάκτηση στερεών στην τρίτη διαδοχική εκχύλιση σάρκας φαίνεται ότι αφορά αποκλειστικά φαινολικά συστατικά.

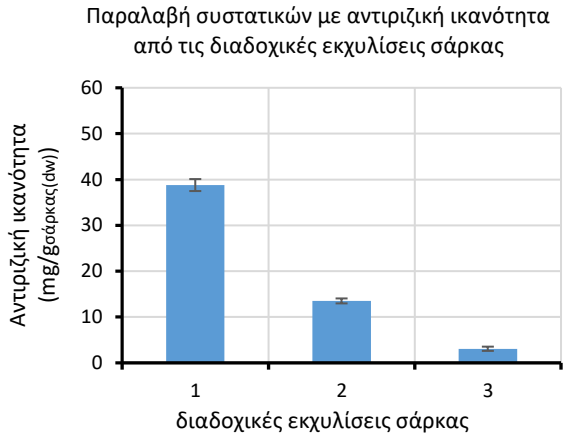
Προσδιορισμός αντιριζικής ικανότητας

Η αντιριζική ικανότητα (TAC = Total Antioxidant Capacity) όλων των διαδοχικών εκχυλισμάτων από τα κλάσματα του καρπού προσδιορίσθηκε με τη μέθοδο DPPH και ποσοτικοποιήθηκε με βάση την καμπύλη αναφοράς του Trolox σε TE (Trolox Equivalents):

$\Delta A_{515} = 0,00270x - 0,00733$, όπου c η συγκέντρωση σε ppm

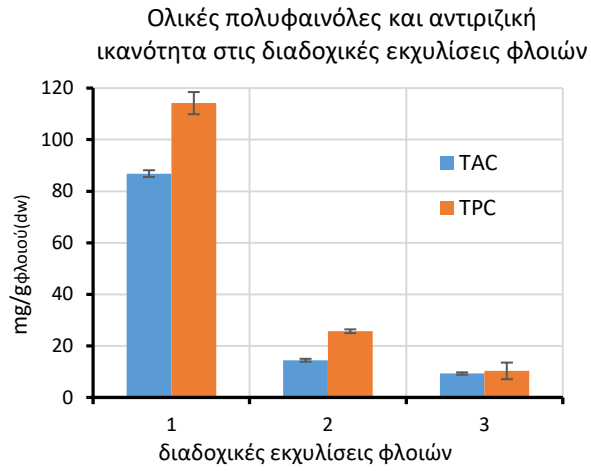
Οι φλοιοί της αρώνιας παρουσίασαν αντιριζική ικανότητα ίση με 111 ± 1 $mg_{TE}/g_{φλοιού}$ σε ξηρή βάση. Οι ουσίες με αντιριζική ικανότητα ανακτήθηκαν κατά 78,6 % στην πρώτη, κατά 13,1 % στη δεύτερη και κατά 8,4 % στην τρίτη εκχύλιση. Οι σάρκες παρουσίασαν αντιριζική ικανότητα ίση με 55,4 ± 1 $mg_{TE}/g_{σάρκας}$ σε ξηρή βάση και τα αντίστοιχα ποσοστά απομάκρυνσης ήταν 70,0 %, 24,4 % και 5,6 % w/w. Οι αποδόσεις ως εκ τούτου των εκχυλίσεων σε αντιριζική ικανότητα ήταν 11,1 % για τους φλοιούς και 7,9 % για τη σάρκα.

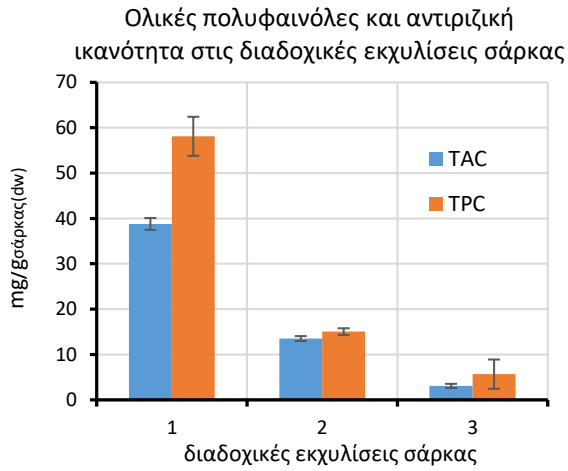




Διαγράμματα 4-5 και 4-6. Παραλαβή συστατικών με αντιριζική ικανότητα (TAC) από τα κλάσματα του καρπού της αρώνιας με διαδοχικές εκχυλίσεις. Οι συγκεντρώσεις είναι εκφρασμένες σε TE (Trolox Equivalents). dw = dry weight.

Αντιπαραθέτοντας τις διαδοχικές αποδόσεις σε πολυφαινόλες με τις διαδοχικές αποδόσεις σε συστατικά με αντιριζική ικανότητα φαίνεται ότι οι εκχυλίσεις τους εξελίσσονται κατά παρόμοιο τρόπο. Κάτι τέτοιο είναι λογικό και αναμενόμενο, καθώς οι πολυφαινόλες είναι ουσίες που χαρακτηρίζονται από την αντιριζική τους δράση.





Διαγράμματα 4-7 και 4-8. Ανάκτηση πολυφαινολών (TPC) και ουσιών με αντιριζική ικανότητα (TAC) από τα κλάσματα καρπού της αρώνιας μέσω διαδοχικών εκχυλίσεων. TPC σε GAE (Gallic Acid Equivalents) και TAC σε TE (Trolox Equivalents). dw = dry weight.

Πίνακας 4-2. Συγκεντρώσεις πολυφαινολών (TPC) και ουσιών με αντιριζική δράση (TAC) που ανακτήθηκαν με διαδοχικές εκχυλίσεις των κλασμάτων της αρώνιας

	Φλοιοί			Σάρκες		
Διαδοχική εκχύλιση	TAC $mg_{TE}/g_{φλοιών}$	TPC $mg_{GAE}/g_{φλοιού}$	% TAC/TPC w/w	TAC $mg_{TE}/g_{σάρκας}$	TPC $mg_{GAE}/g_{σάρκας}$	% TAC/TPC w/w
1	86,8 ± 1,3	114 ± 4	76,0 ± 3,5	38,8 ± 0.2	58,1 ± 2	66,7 ± 1,76
2	14,4 ± 0,5	25 ± 1	56,2 ± 3,5	13,5 ± 0,8	15,1 ± 2	89,8 ± 3,5
3	9,3 ± 0,5	10 ± 1	90,0 ± 3	3,1	5,7	54,1
Σύνολο	111 ± 1	150 ± 5	74 ± 3,0	55,4 ± 0,8	78,8 ± 3	70,2 ± 3,4

Μελέτη επιμέρους φαινολικών ενώσεων

Οι κύριες φαινολικές ενώσεις που εντοπίζονται στον καρπό της αρώνιας ανήκουν στις ανθοκυάνες, τα φαινολικά οξέα, τις φλαβονόλες ή της φλαβαν-3-όλες (κατεχίνες σε μονομερείς αλλά κυρίως πολυμερείς δομές)

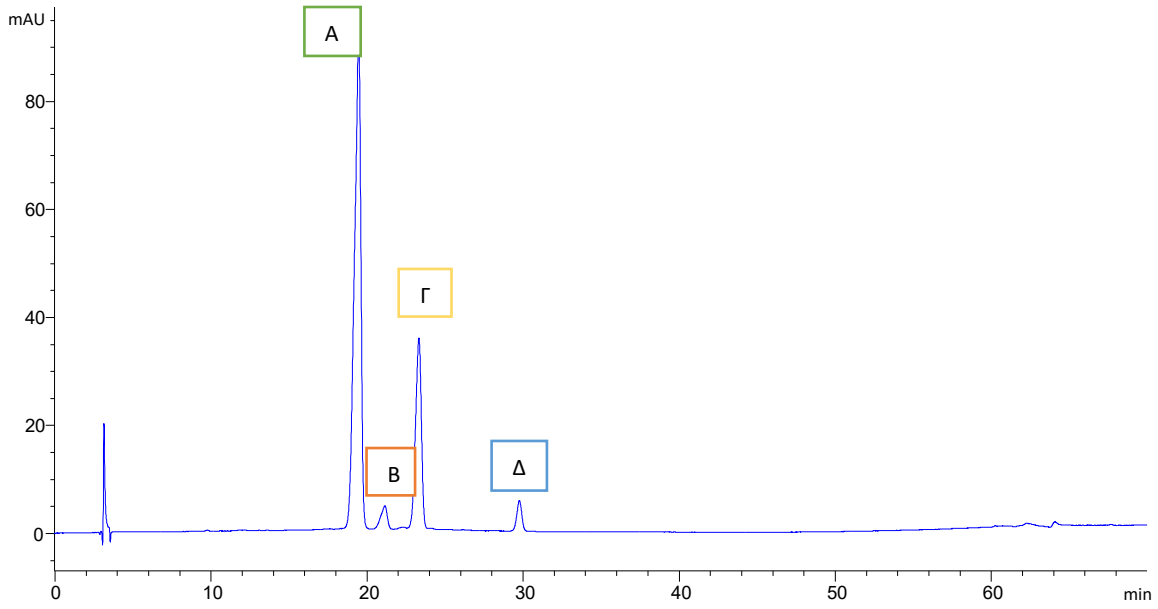
Για τον εντοπισμό, την ταυτοποίηση (όπου ήταν εφικτό) και την ποσοτικοποίησή τους, τα εκχυλίσματα των διαδοχικών εκχυλίσεων φλοιών και εσωτερικών αναλύθηκαν με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC). Από κάθε ανάλυση παρελήφθησαν 4 χρωματογραφήματα, στα παρακάτω μήκη κύματος:

- 280 nm, μήκος κύματος στο οποίο δίνουν ικανοποιητικές απορροφήσεις οι περισσότερες από τις φαινολικές ενώσεις, οπότε μπορούμε να λάβουμε μια συνολική, πρώτη εικόνα του υλικού
- 320 nm, μήκος κύματος κατάλληλο για μελέτη των φαινολικών οξέων καθώς εκεί παρουσιάζουν μέγιστη απορρόφηση.
- 360 nm, μήκος κύματος κατάλληλο για μελέτη των φλαβονολών καθώς εκεί παρουσιάζουν μέγιστη απορρόφηση.
- 520 nm, μήκος κύματος κατάλληλο για μελέτη των ανθοκυανών καθώς εκεί παρουσιάζουν μέγιστη απορρόφηση.

Στους φλοιούς και τη σάρκα του καρπού ταυτοποιήθηκαν βιβλιογραφικά και ποσοτικοποιήθηκαν 2 κύρια φαινολικά οξέα και 4 γλυκοζυλιωμένες ανθοκυάνες (ανθοκυανίνες). Οι φλαβονόλες που εντοπίσθηκαν ήταν αδύνατο να ταυτοποιηθούν από τις βιβλιογραφικές αναφορές, οπότε ποσοτικοποιήθηκαν στο σύνολό τους και όχι ως μεμονωμένες ενώσεις. Τέλος, οι ταννίνες παρουσίασαν αρκετές μικρές κορυφές, στις περισσότερες περιπτώσεις μη αξιοποιήσιμες καθώς επικαλύπτονταν από άλλα συστατικά. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των ταννινών τα δείγματα υποβλήθηκαν σε ανάλυση με πρωτεΐνη BSA, η οποία ωστόσο δεν αποκρίθηκε, πιθανόν λόγω χαμηλής συγκέντρωσης στο εκχύλισμα. Στην περίπτωση όμως του φυσικού χυμού αρώνιας που θα αναλυθεί στο επόμενο κεφάλαιο, η ίδια ανάλυση παρείχε σε υψηλότερες συγκεντρώσεις ικανοποιητικά και επαναλήψιμα αποτελέσματα.

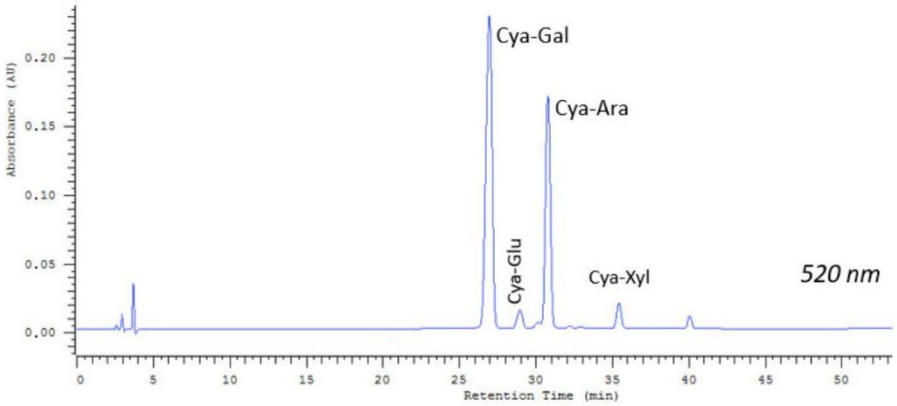
Ταυτοποίηση φαινολικών ενώσεων

Στα δείγματα που μελετήθηκαν εντοπίσθηκαν 4 κύριες ανθοκυάνες σε υψηλές συγκεντρώσεις (με χρόνους έκλουσης από τη στήλη $t_R \approx$ 19,0, 21,0, 23,0 και 29,0 min) και ορισμένες δευτερεύουσες σε ίχνη. Παρακάτω, παρατίθεται ενδεικτικά ένα χρωματογράφημα (Εικόνα 4-1) πρώτου διαδοχικού εκχυλίσματος σάρκας αρώνιας στα 520 nm (μήκος κύματος στο οποίο οι ανθοκυάνες εμφανίζουν μέγιστη απορρόφηση), όπου έχουν επισημανθεί οι αντίστοιχες κορυφές



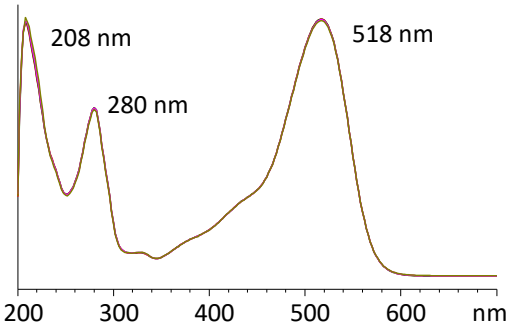
Εικόνα 4-1. Κύριες ανθοκυάνες της αρώνιας. Το χρωματογράφημα αφορά το πρώτο διαδοχικό εκχύλισμα σάρκας της αρώνιας (ΣΑ1) και ελήφθη σε μήκος κύματος 520 nm.

Σε προηγούμενες μελέτες, οι Jakobek et al. (2007a), Rop et al (2010), Szopa et al. (2016), Slimestead et al. (2005) και ορισμένες ακόμα ερευνητικές ομάδες, απέδειξαν ότι οι κύριες ανθοκυάνες που εντοπίζονται στον καρπό της αρώνιας είναι 4 στο πλήθος και βρίσκονται σε γλυκοζυλιωμένη μορφή (*Ο*-γλυκοζίτες – ανθοκυανίνες). Πιο συγκεκριμένα, η κύρια ανθοκυανίνη της αρώνιας είναι ο 3-*Ο*-γαλακτοζίτης της κυανιδίνης, ακολουθούμενος από τον 3-*Ο*-αραβινοζίτη της κυανιδίνης και σε μικρότερες περιεκτικότητες οι 3-*Ο*-γλυκοζίτης και 3-*Ο*-ξυλοζίτης της κυανιδίνης.

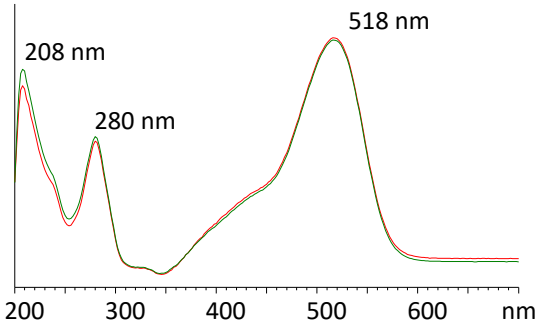


Εικόνα 4-2. Χρωματογράφημα εκχυλίσματος αρώνιας που βρέθηκε βιβλιογραφικά. Πηγή: Zielinska et al. (2020).

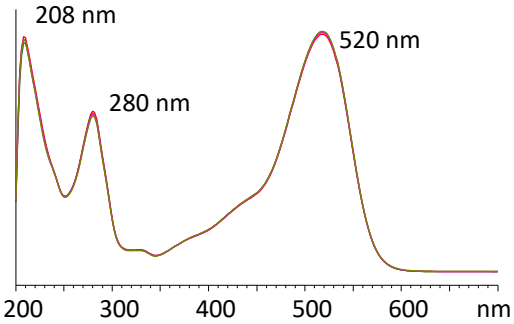
Βάσει της σειράς έκλουσης των ανωτέρω γλυκοζιτών σε στήλη αντίστροφης φάσης, εκτιμάται ότι η κορυφή Α αντιστοιχεί στον 3-*Ο*-γαλακτοζίτη, η κορυφή Β στον 3-*Ο*-γλυκοζίτη, η κορυφή Γ στον 3-*Ο*-αραβινοζίτη και η κορυφή Δ στον 3-*Ο*-ξυλοζίτη της κυανιδίνης. Παρακάτω παρατίθενται τα φάσματα υπεριώδους-ορατού των ανθοκυανινών που βρέθηκαν εργαστηριακά.



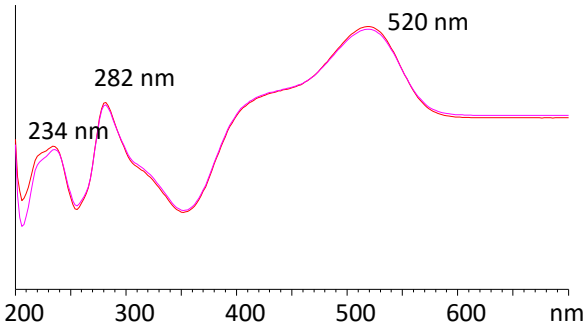
3-*O*-γαλακτοζίτης της κυανιδίνης



3-*O*-γλυκοζίτης της κυανιδίνης

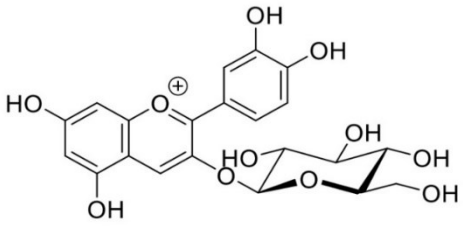


3-*O*-αραβινοζίτης της κυανιδίνης

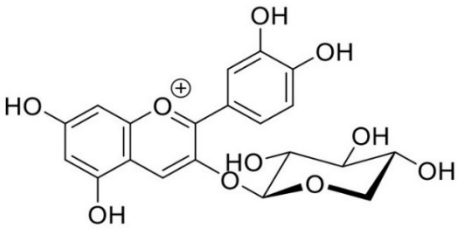


3-*O*-ξυλοζίτης της κυανιδίνης

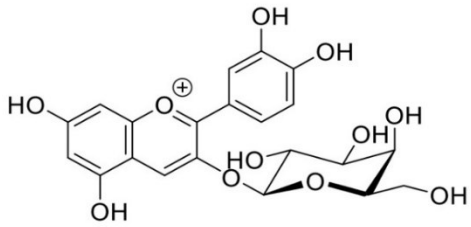
Εικόνα 4-3. Τα φάσματα των κύριων ανθοκυανών που βρέθηκαν στον καρπό της αρώνιας. Όλες αποτελούν γλυκοζίτες της κυανιδίνης.



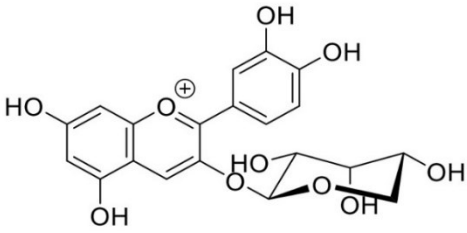
Cyanidin-3-*O*-glucoside



Cyanidin-3-*O*-xyloside



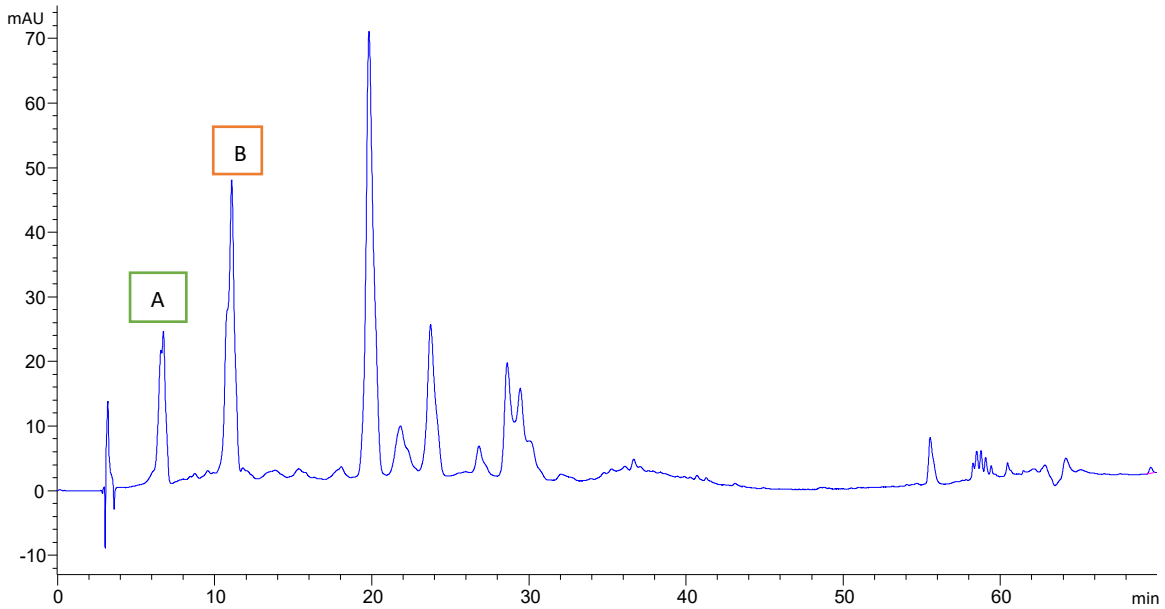
Cyanidin-3-*O*-galactoside



Cyanidin-3-*O*-arabinoside

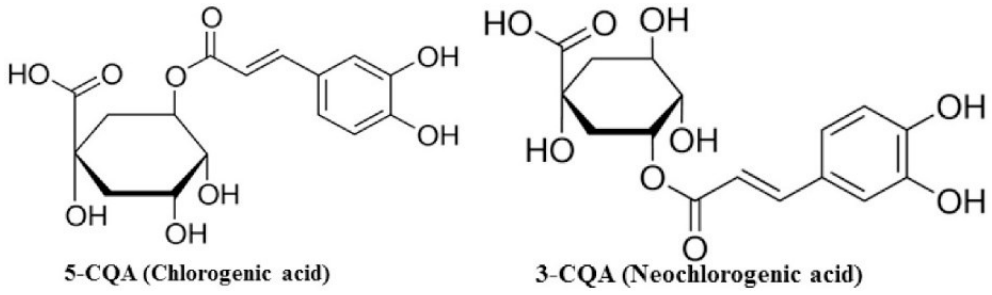
Εικόνα 4-4. Δομή των κύριων ανθοκυανινών που εντοπίσθηκαν στον καρπό της αρώνιας

Όσον αφορά τα φαινολικά οξέα, εντοπίσθηκαν 2 κύρια σε υψηλές συγκεντρώσεις (με χρόνους έκλουσης από τη στήλη $t_R \approx 6,7$ και 11,0 min) και ορισμένα δευτερεύοντα σε ίχνη. Παρακάτω, παρατίθεται ενδεικτικά ένα χρωματογράφημα πρώτου διαδοχικού εκχυλίσματος φλοιών στα 320 nm, όπου έχουν επισημανθεί οι αντίστοιχες κορυφές.



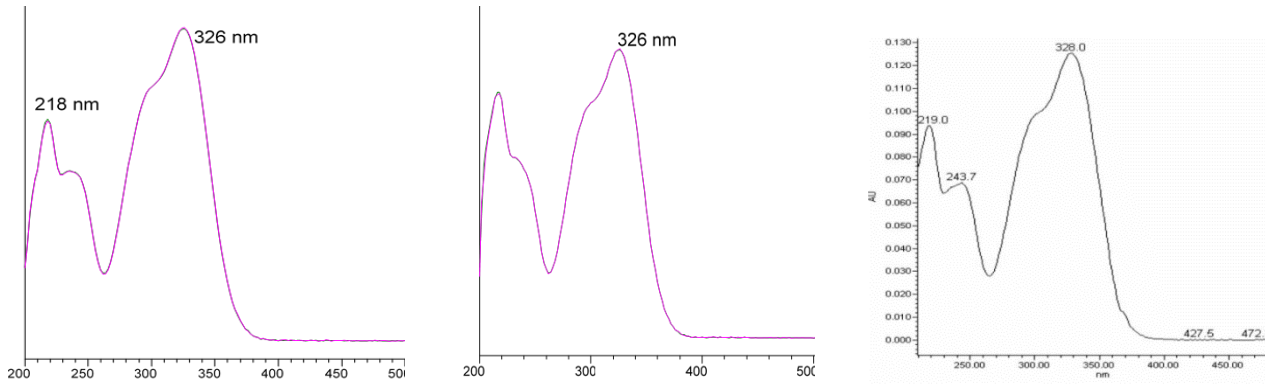
Εικόνα 4-5. Κύρια φαινολικά οξέα της αρώνιας. Το χρωματογράφημα ελήφθη στα 320 nm και αφορά την πρώτη διαδοχική εκχύλιση φλοιών.

Σε προηγούμενες μελέτες, οι Ochmian et al. (2012), Rop et al (2010), Mayer-Miebach et al (2012), Wilkes et al (2014), Dudonné et al (2015) και ορισμένες ακόμα ερευνητικές ομάδες, απέδειξαν ότι τα κύρια φαινολικά οξέα της αρώνιας είναι δύο ισομερή: το χλωρογενικό οξύ και το νεοχλωρογενικό οξύ.



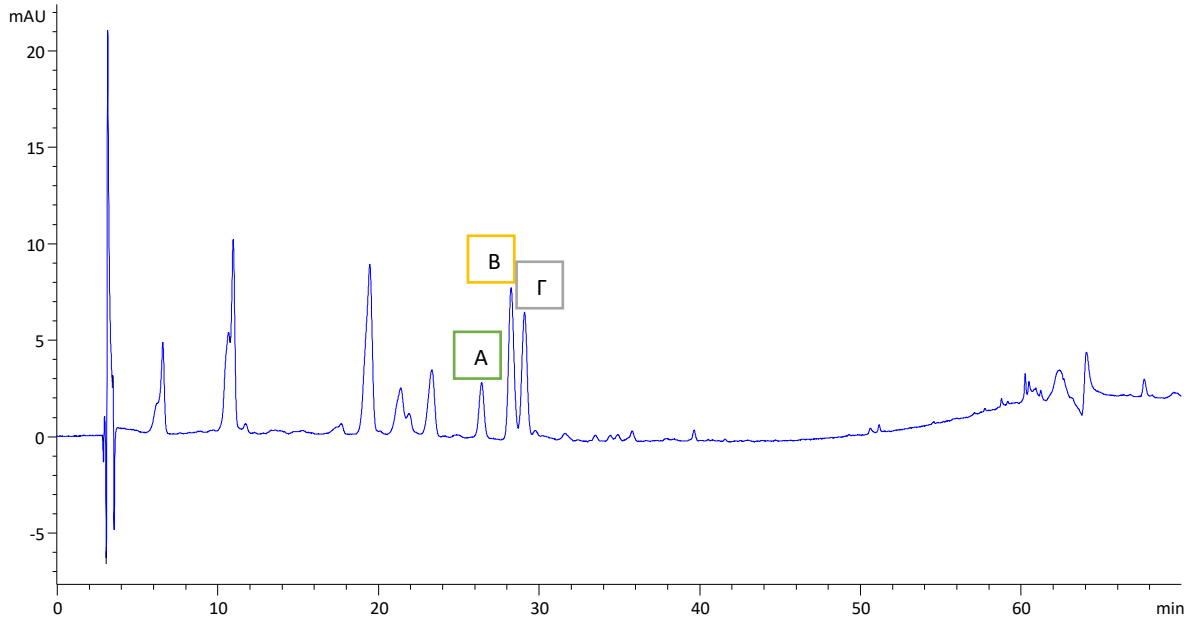
Εικόνα 4-6. Τα δύο κύρια φαινολικά οξέα της αρώνιας είναι ισομερή και ανήκουν στην ευρύτερη ομάδα των κινικών οξέων.

Συγκρίνοντας τα φάσματα υπεριώδους-ορατού των οξέων που εντοπίσθηκαν πειραματικά παρατηρούμε ότι ταυτίζονται και επιπλέον, είναι όμοια με το φάσμα του χλωρογενικού οξέος που βρέθηκε βιβλιογραφικά (Siahpoush et al., 2011). Επομένως, επιβεβαιώνεται ότι πρόκειται για τις παραπάνω ισομερείς ενώσεις. Δεδομένου επίσης ότι το νεοχλωρογενικό οξύ εκλούεται ταχύτερα από το χλωρογενικό από στήλη αντίστροφης φάσης (Szopa et al., 2017), συμπεραίνουμε τελικά ότι η κορυφή ΑΒ αντιστοιχεί στο νεοχλωρογενικό οξύ και η κορυφή Γ στο χλωρογενικό οξύ.



Εικόνα 4-7. Από αριστερά προς τα δεξιά: φάσμα νεοχλωρογενικού οξέος (πειραματικό), φάσμα χλωρογενικού οξέος (πειραματικό), φάσμα χλωρογενικού οξέος από τη βιβλιογραφία. Πηγή: Siahpoush et al. (2011)

Οι φλαβονόλες που εντοπίσθηκαν σε υψηλές συγκεντρώσεις ήταν κυρίως 3 (με χρόνους έκλουσης από τη στήλη $t_R \approx$ 26,5, 28,2 και 29,0 min). Σε μικρότερες συγκεντρώσεις όμως, παρουσιάστηκαν επιπλέον ενώσεις. Παρακάτω, παρατίθεται ενδεικτικά ένα χρωματογράφημα εκχυλίσματος αποφλοιωμένου καρπού αρώνιας (1η διαδοχική εκχύλιση) στα 360 nm (μήκος κύματος στο οποίο οι φλαβονόλες εμφανίζουν μέγιστη απορρόφηση), όπου έχουν επισημανθεί οι αντίστοιχες κορυφές.

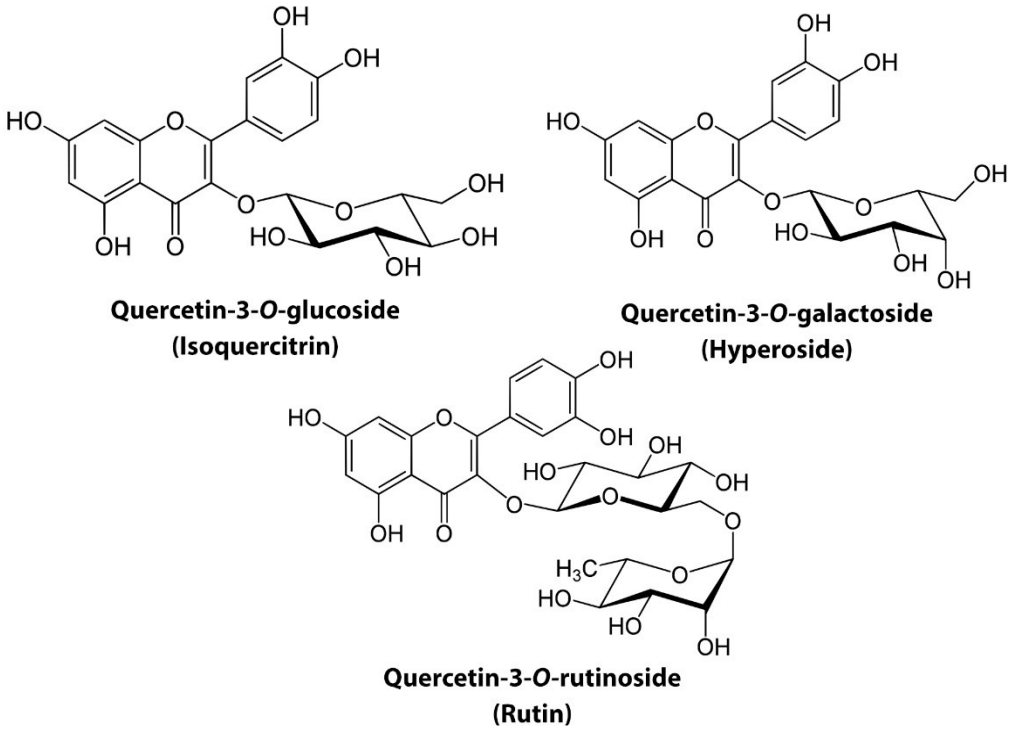


Εικόνα 4-8. Κύριες φλαβονόλες της αρώνιας. Το χρωματογράφημα αφορά εκχύλισμα αποφλοιωμένου καρπού αρώνιας (1η διαδοχική εκχύλιση) και ελήφθη σε μήκος κύματος 360 nm.

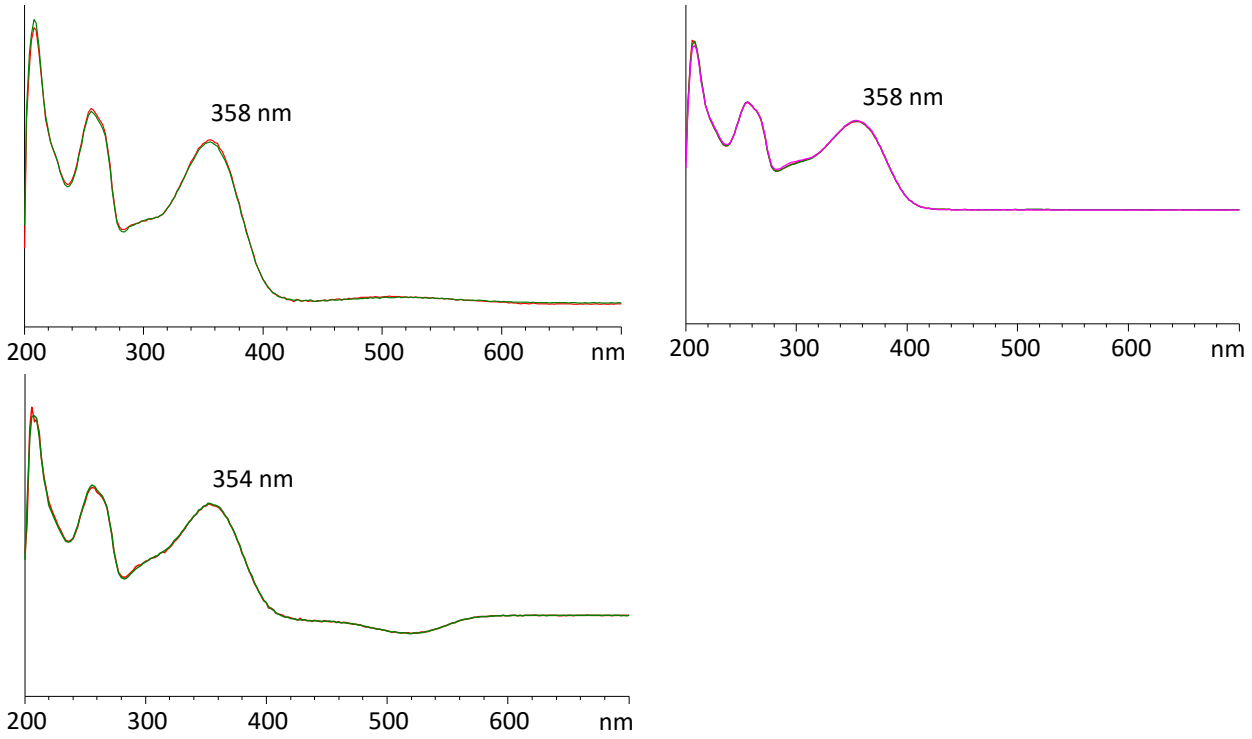
Σε προηγούμενες μελέτες, οι Denev et al. (2012), Sidor & Michalowska (2019), και αρκετές ακόμα ερευνητικές ομάδες, συμφωνούν ότι οι κύριες φλαβονόλες της αρώνιας βρίσκονται σε γλυκοζυλιωμένη μορφή και είναι ο 3-*O*-γαλακτοζίτης της κερκετίνης (Υπεροζίτης), ο 3-*O*-γλυκοζίτης της κερκετίνης (Ισοκερκετίνη) και ο 3-*O*-ρουτινοζίτης της κερκετίνης (Ρουτίνη). Πολύ πιθανό λοιπόν οι φλαβονόλες που εντοπίσθηκαν εργαστηριακά να ταυτίζονται με τις προαναφερθείσες. Ωστόσο, τα βιβλιογραφικά

δεδομένα εδώ κρίνονται ανεπαρκή για την ακριβή ταυτοποίηση των φλαβονολών και θεωρούνται απαραίτητες περαιτέρω εργαστηριακές αναλύσεις για το σκοπό αυτό. Επιπροσθέτως, προηγούμενες έρευνες έχουν εντοπίσει επιπλέον φλαβονόλες στον καρπό της αρώνιας όπως την κερκετίνη σε ελεύθερη μορφή (Jakobek et al., 2007), τον 3-*O*-βισκοζίτη της κερκετίνης (Skoczynska et al.,2010) και τον 3-*O*-ροβινοβιοζίτη της κερκετίνης (Ochmian et al.,2009) γεγονός που δυσχεραίνει την προσπάθεια ταυτοποίησης από τη βιβλιογραφία.

Η παρούσα διπλωματική θα περιορισθεί στην ποσοτικοποίηση των φλαβονολών της αρώνιας στο σύνολό τους και δε θα προβεί σε κάποια επιμέρους ταυτοποίηση ή ποσοτικοποίηση.

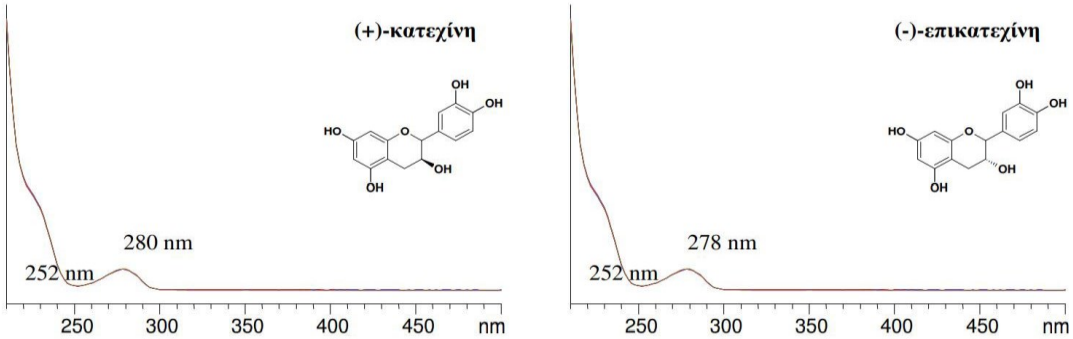


Εικόνα 4-9. Οι 3 κύριες φλαβονόλες της αρώνιας αποτελούν γλυκοζίτες της κερκετίνης

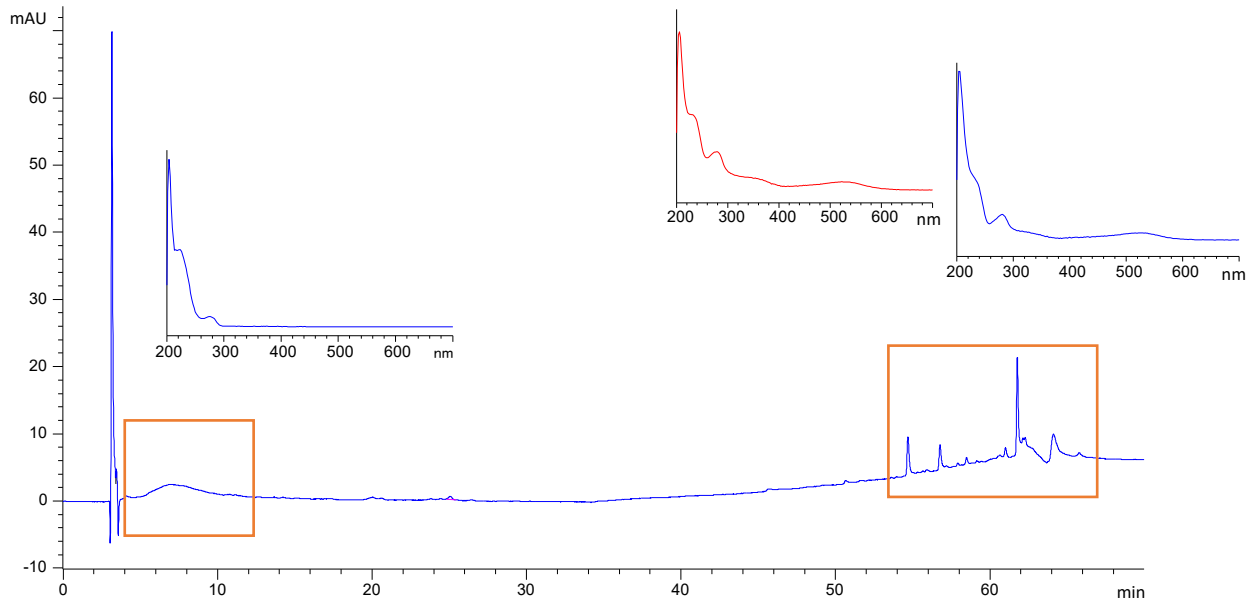


Εικόνα 4-10. Φάσματα υπεριώδους-ορατού των κύριων φλαβονολών που ανιχνεύθηκαν εργαστηριακά στον καρπό της αρώνιας

Οι φλαβαν-3-όλες βρίσκονται στον καρπό της αρώνιας σε ελύθερη μορφή (κατεχίνες και επικατεχίνες), όμως κυρίως εντοπίζονται ως υπομονάδες πολυμερών (συμπυκνωμένες ταννίνες ή προανθοκυανιδίνες. Πράγματι, στα χρωματοχραφήματα φλοιών και σάρκας εντοπίσθηκαν μικρές κορυφές που θα μπορούσαν να αποδοθούν στην κατεχίνη ή την επικατεχίνη και μικρές κορυφές που θα μπορούσαν να αποδοθούν σε προανθοκυανιδίνες. Παρά το γεγονός ότι η μελέτη των φλαβαν-3-ολών και των ταννινών δεν προχώρησε, αξίζει να αναφερθεί ότι οι πιθανές κορυφές τους εξακολουθούσαν να εμφανίζονται ακόμα και στα δείγματα της 3^{ης} διαδοχικής εκχύλισης, όταν τα υπόλοιπα φαινολικά συστατικά είχαν σχεδόν εξ ολοκλήρου παραληφθεί.



Εικόνα 4-11. Φάσματα υπεριώδους-ορατού των κύριων φλαβαν-3ολών της αρώνιας. Εντοπίζονται σπάνια σε ελεύθερη μορφή, συνήθως αποτελούν μονάδες πολυμερών (προανθοκυανιδίνες). Πηγή: Τσιμογιάννης, 2008.



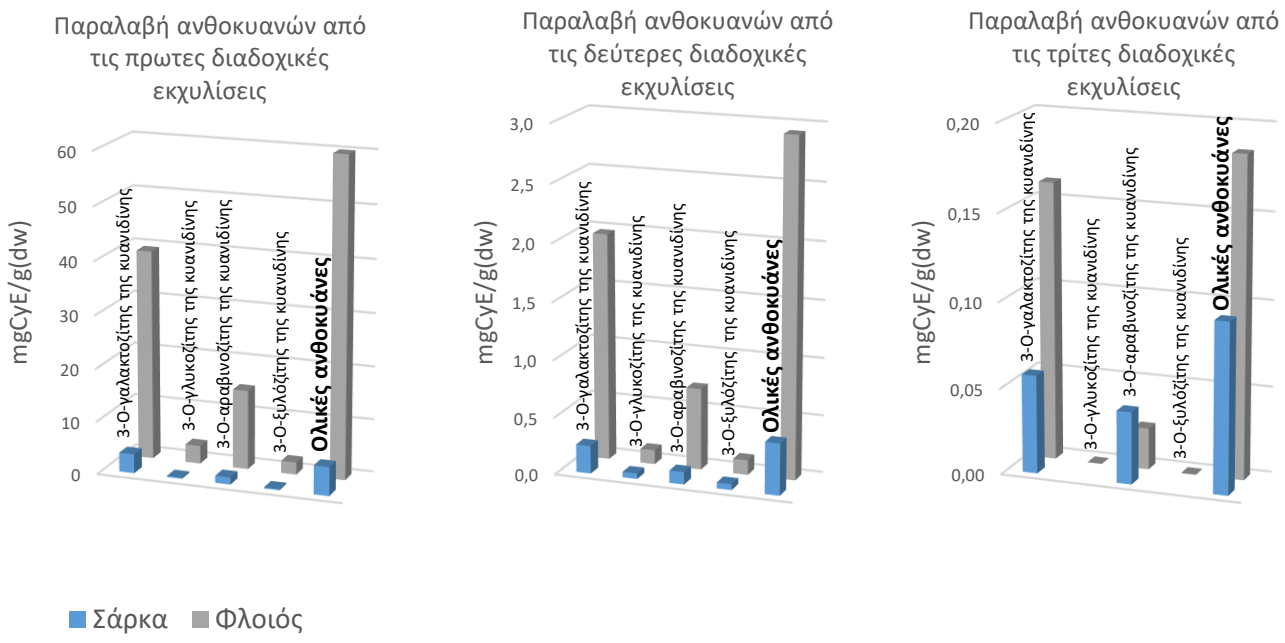
Εικόνα 36. Φάσματα πιθανών μονομερών ή πολυμερών κατεχίνης/επικατεχίνης και περιοχές στις οποίες εντοπίσθηκαν. Το συγκεκριμένο χρωματογράφημα αφορά την τρίτη διαδοχική εκχύλιση σάρκας και όπως φαίνεται η πλειοψηφία των υπολοίπων εκχυλίσμων συστατικών έχει ήδη απομακρυνθεί.

Ποσοτικοποίηση φαινολικών ενώσεων

Οι ανθοκυανίνες που εντοπίσθηκαν ποσοτικοποιήθηκαν βάσει του εμβαδού των αντίστοιχων κορυφών και της καμπύλης αναφοράς της κυανιδίνης στα 520 nm (E_{520} = 80,347c – 26,342, όπου c η συγκέντρωση σε mg/L). Ως μονάδα μέτρησης χρησιμοποιούνται τα ισοδύναμα κυανιδίνης (Cyanidin Equivalents – CyE).

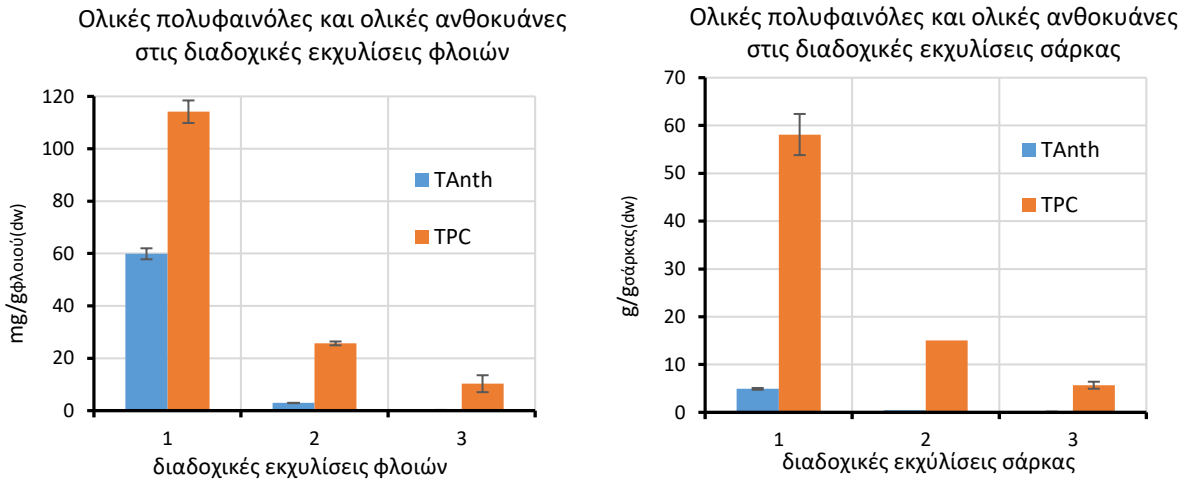
Από την ανάλυση των εκχυλισμάτων φλοιών με HPLC και την ποσοτικοποίηση βάσει της καμπύλης αναφοράς, εξήχθη η ολική παραλαβή ανθοκυανών (TAnth) ίση με 63,19 ± 2,76 $mg_{CyE}/g_{φλοιού}$ σε ξηρή βάση. Πιο αναλυτικά, στην πρώτη διαδοχική εκχύλιση παρελήφθησαν 60,1 ± 2,7 $mg_{CyE}/g_{φλοιού}$ (95,0 %) σε ξηρή βάση, στη δεύτερη 2,93 ± 0,09 $mg_{CyE}/g_{φλοιού}$ (4,6 %) και στην τρίτη 0,19 ± 0,03 $mg_{CyE}/g_{φλοιού}$ (0,3 %). Σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα βρέθηκε ο 3-*O*-γαλακτοζίτης της κυανιδίνης (41,60 ± 1,96 $mg_{CyE}/g_{φλοιού}$) ακολουθούμενος από τον 3-*O*-αραβινοζίτη της κυανιδίνης (15,66 ± 0,67 $mg_{CyE}/g_{φλοιού}$), ενώ σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις προσδιορίσθηκαν για τον 3-*O*-ξυλοζίτη της κυανιδίνης (2,43 ± 0,20 $mg_{CyE}/g_{φλοιού}$) και τον 3-*O*-γλυκοζίτη της κυανιδίνης (3,50 ± 0,07 $mg_{CyE}/g_{φλοιού}$).

Στον αντίποδα, η σάρκα του καρπού χαρακτηρίστηκε από σημαντικά χαμηλότερη περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες (5,44 ± 0,19 $mg_{CyE}/g_{σάρκας}$ σε ξηρή βάση). Το 90 % εξ αυτών ανακτήθηκε στην πρώτη εκχύλιση, το 8,3% στη δεύτερη και το 1,8 % στην τρίτη. Κατά αντιστοιχία με τη σύσταση του φλοιού, σε υψηλότερη συγκέντρωση (ξηρής βάσης) εντοπίσθηκε ο 3-*O*-γαλακτοζίτης της κυανιδίνης (3,63 ± 0,14 $mg_{CyE}/g_{σάρκας}$) ακολουθούμενος από τον 3-*O*-αραβινοζίτη της κυανιδίνης (1,33 ± 0,05 $mg_{CyE}/g_{σάρκας}$). Η συγκέντρωση του 3-*O*-ξυλοζίτη της κυανιδίνης ήταν αρκετά χαμηλότερη (0,242 ± 0,007 $mg_{CyE}/g_{σάρκας}$) όπως και του 3-*O*-γλυκοζίτη της κυανιδίνης (0,235 ± 0,005 $mg_{CyE}/g_{σάρκας}$).



Διαγράμματα 4-9, 4-10 και 4-11. Ανάκτηση ανθοκυανών ανά διαδοχική εκχύλιση κλάσματος καρπού σε $mg_{CyE}/g_{φλοιού(dw)}$ για τους φλοιούς και $mg_{CyE}/g_{σάρκας(dw)}$ για τις σάρκες. CyE = Cyanidin Equivalents. dw = dry weight.

Αξίζει να σημειωθεί ότι οι ανθοκυάνες διαπιστώθηκε ότι αποτελούσαν το 42 ± 3 % κατά βάρος των πολυφαινολών του φλοιού σε ξηρή μάζα. Για τη σάρκα η αντίστοιχη τιμή ήταν μόλις 6,9%. Στα διαγράμματα που ακολουθούν παρουσιάζονται οι αποδόσεις των διαδοχικών εκχυλίσεων σε ανθοκυάνες σε σχέση με τις αντίστοιχες σε φαινολικό περιεχόμενο. Είναι εμφανές ότι οι ανθοκυάνες εκχυλίσθηκαν ταχύτατα, καθώς όπως προαναφέρθηκε, από την πρώτη ήδη εκχύλιση φλοιών είχε παραληφθεί το 95,0 % του συνόλου τους και από την πρώτη εκχύλιση σάρκας το 90 % του συνόλου τους.

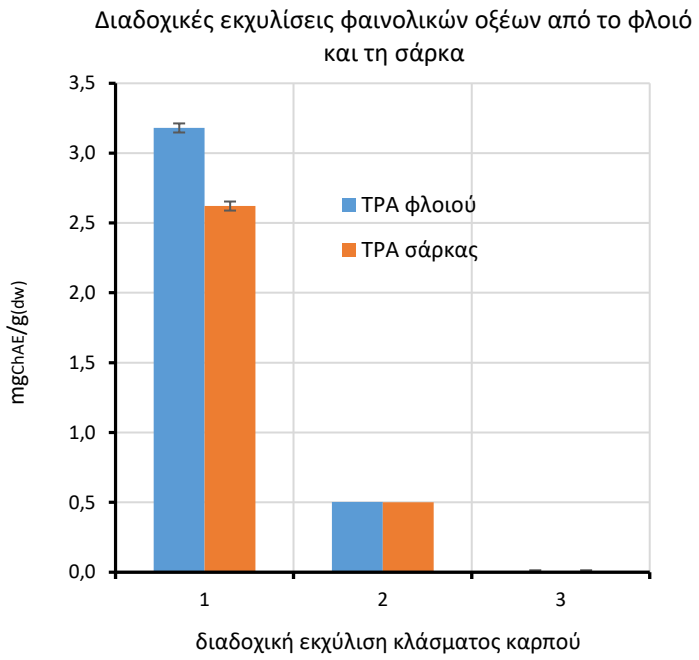


Διαγράμματα 4-12 και 4-13. Ανάκτηση ολικών πολυφαινολών (TPC) και ανθοκυανών (TAnth) από τα κλάσματα του καρπού μέσω διαδοχικών εκχυλίσεων. TPC σε GAE (Gallic Acid Equivalents) και TAnth σε CyE (Cyanidin Equivalents). dw = dry weight.

Από την ανάλυση Pearson διαπιστώνεται ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση ($p = 0,017$) ανάμεσα στις διαδοχικές ανακτήσεις ανθοκυανών από του φλοιούς και τις διαδοχικές ανακτήσεις ανθοκυανών από τη σάρκα. Αυτό σημαίνει ότι οι ανθοκυάνες εκχυλίσθηκαν με παρόμοια τρόπο κατά τις διαδοχικές εκχυλίσεις και στα δύο κλάσματα του καρπού.

Εν συνεχεία, παρουσιάζεται η ποσοτικοποίηση των φαινολικών οξέων στις διαδοχικές εκχυλίσεις κλασμάτων. Τα φαινολικά οξέα που εντοπίσθηκαν στα δείγματα, ποσοτικοποιήθηκαν βάσει του εμβαδού των αντίστοιχων κορυφών με ανάλυση HPLC και την καμπύλη αναφοράς του χλωρογενικού οξέος στα 320 nm ($E_{320} = 64,465c - 137,51$, όπου c η συγκέντρωση σε mg/L). Ως μονάδα μέτρησης χρησιμοποιήθηκαν τα ισοδύναμα χλωρογενικού οξέος (Chlorogenic Acid Equivalents – ChAE).

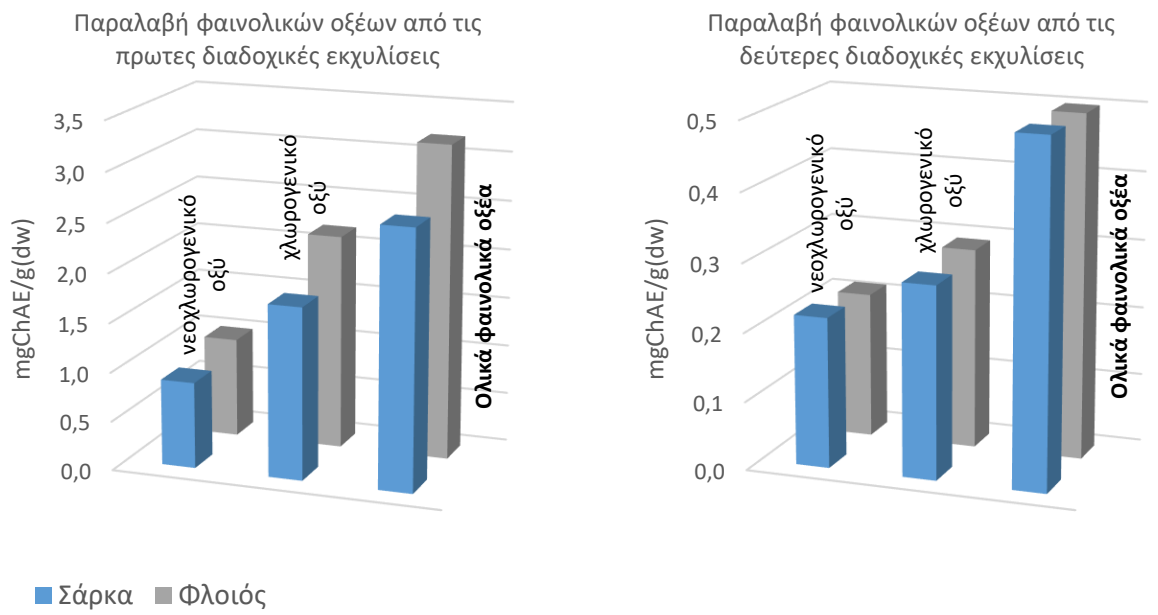
Αντίθετα με την περίπτωση των ανθοκυανών, τα δύο κλάσματα (φλοιοί και σάρκα) παρουσίασαν εξίσου υψηλές περιεκτικότητες σε φαινολικά οξέα. Πιο συγκεκριμένα, η συγκέντρωση διαπιστώθηκε για τους φλοιούς 3,70 ± 0,24 $mg_{ChAE}/g_{φλοιού}$ και η ανάκτηση ολοκληρώθηκε κατά 86,3 % στην πρώτη εκχύλιση και κατά 13,7 % στη δεύτερη. Στην τρίτη εκχύλιση φλοιών δεν παρελήφθη μετρήσιμη ποσότητα φαινολικών οξέων, εντοπίσθηκαν μόνο ίχνη αδύνατο να ποσοτικοποιηθούν. Με αντίστοιχο τρόπο εξελίχθηκε και η εκχύλιση φαινολικών οξέων από τη σάρκα. Το 84,0 % του συνόλου τους ανακτήθηκε στην πρώτη εκχύλιση και το 14,0 % στη δεύτερη, ενώ η συνολική συγκέντρωση φαινολικών οξέων προσδιορίστηκε για τη σάρκα ίση με 3,121 ± 0,035 $mg_{ChAE}/g_{σάρκας}$ σε ξηρή βάση.



Διάγραμμα 4-14. Ανάκτηση φαινολικών οξέων (ΤΡΑ) από τις διαδοχικές εκχυλίσεις των κλασμάτων καρπού, σε ξηρή βάση. Μονάδες συγκέντρωσης: $mgChAE/g_{φλοιού}(dw)$ για τους φλοιούς και $mgChAE/g_{σάρκας}(dw)$ για τη σάρκα. dw = dry weight.

Αναφορικά με τα επιμέρους φαινολικά οξέα, επιβεβαιώθηκε πως εκείνο με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ήταν το χλωρογενικό οξύ (2,47 ± 0,27 $mg_{ChAE}/g_{φλοιού}$ και 2,03 ± 0,06 $mg_{ChAE}/g_{σάρκας}$ σε ξηρή βάση), ενώ το νεοχλωρογενικό εντοπίσθηκε σε μικρότερες συγκεντρώσεις (1,22 ± 0,03 $mg_{ChAE}/g_{φλοιού}$ και 1,09 ± 0,03 $mg_{ChAE}/g_{σάρκας}$ σε ξηρή βάση). Στα διαγράμματα 4-16 και 4-17 παρουσιάζεται η ανάκτηση

κάθε οξέος κατά την πρώτη και τη δεύτερη διαδοχική εκχύλιση. Από την τρίτη εκχύλιση δεν παρελήφθη μετρήσιμη ποσότητα παρά μόνο ίχνη, για αυτό και το αντίστοιχο διάγραμμα απουσιάζει.

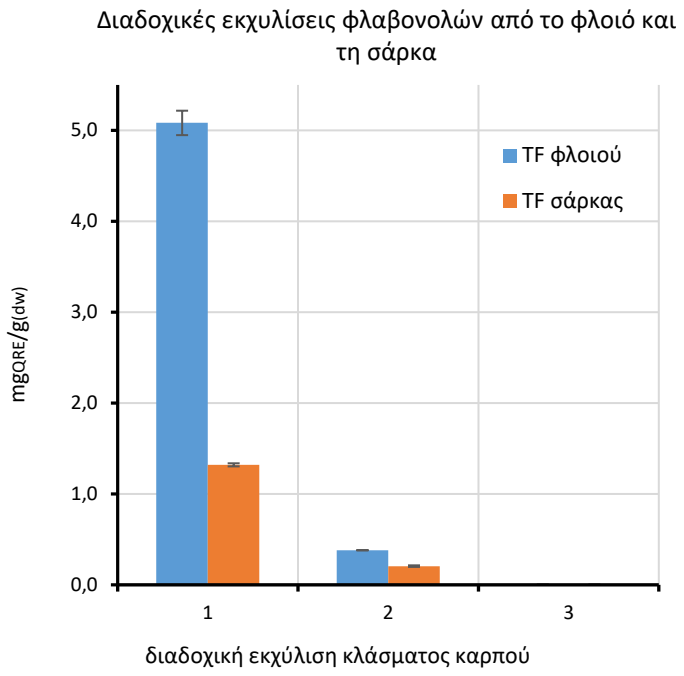


Διαγράμματα 4-15 και 4-16. Ανάκτηση φαινολικών οξέων ανά διαδοχική εκχύλιση κλάσματος καρπού σε $mg_{ChAE}/g_{φλοιού(dw)}$ για τους φλοιούς και $mg_{ChAE}/g_{σάρκας(dw)}$ για τις σάρκες.. ChAE = Chlorogenic Acid Equivalents

Συνεχίζοντας με τις φλαβονόλες, υπενθυμίζεται ότι στην παρούσα μελέτη δεν ολοκληρώθηκε η επιμέρους ταυτοποίηση τους, οπότε η ποσοτικοποίηση που ακολουθεί αφορά το σύνολο των φλαβονολών. Αναφέρεται ωστόσο ότι στα χρωματογραφήματα εντοπίσθηκαν 3 κύριες φλαβονόλες σε υψηλές συγκεντρώσεις και μερικές ακόμα σε χαμηλότερες.

Για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων στα διαδοχικά εκχυλίσματα κλασμάτων του καρπού, αξιοποιήθηκε το σύνολο του εμβαδού των αντίστοιχων κορυφών και η καμπύλη αναφοράς της ρουτίνης στα 360 nm (E_{360} = 29,209c – 39,596, όπου c η συγκέντρωση σε mg/L). Ως μονάδα μέτρησης χρησιμοποιήθηκαν τα ισοδύναμα ρουτίνης (Quercetin Rutinoside (Rutin) Equivalents – QRE).

Τα δύο κλάσματα (φλοιοί και σάρκα) παρουσίασαν διαφορές ως προς την περιεκτικότητά τους σε φλαβονόλες, με το φλοιό να διαπιστώνεται αρκετά πλουσιότερος από τη σάρκα. Πιο συγκεκριμένα, η συγκέντρωση προσδιορίσθηκε για τους φλοιούς ίση με 5,47 ± 0,13 $mg_{QRE}/g_{φλοιού}$ (σε ξηρή βάση) και η ανάκτηση ολοκληρώθηκε κατά 92,9 % στην πρώτη εκχύλιση και κατά 6,9 % στη δεύτερη. Στην τρίτη εκχύλιση φλοιών δεν παρελήφθη μετρήσιμη ποσότητα φλαβονολών, παρά μόνο ίχνη αδύνατο να ποσοτικοποιηθούν. Για τη σάρκα, η συνολική περιεκτικότητα αποδείχθηκε ίση με 1,53 ± 0,02 $mg_{QRE}/g_{σάρκας}$ (σε ξηρή βάση). Παρελήφθησαν κατά 86,0 % στην πρώτη εκχύλιση και κατά 14,0 % στη δεύτερη. Ομοίως με την περίπτωση των φλοιών, στην τρίτη εκχύλιση δεν ανακτήθηκε ποσότητα ικανή να ποσοτικοποιηθεί.



Διάγραμμα 4-17. Ανάκτηση φλαβονολών (TF) από τις διαδοχικές εκχυλίσεις των κλασμάτων καρπού, σε ξηρή βάση. Μονάδες συγκέντρωσης: mgQRE/$g_{φλοιού}$(dw) για τους φλοιούς και mgQRE/$g_{σάρκας}$(dw) για τη σάρκα. dw = dry weight.

Υπολογισμός συγκεντρώσεων φαινολικών συστατικών στον πλήρη καρπό

Λαμβάνοντας υπόψιν ότι η σύσταση του μούρου της αρώνιας είναι: 86 % σάρκα και 14 % φλοιός w/w (επί νωπού βάρους) και ότι το ποσοστό υγρασίας στα δύο μέρη είναι είναι 77,7 και 67,6 % w/w αντίστοιχα, είναι δυνατός ο υπολογισμός της περιεκτικότητάς του καρπού στα διάφορα φαινολικά συστατικά που μελετήθηκαν στα κλάσματα. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιήθηκε για να διαπιστωθεί η συνεισφορά του κάθε κλάσματος στα συνολικά βιοδραστικά χαρακτηριστικά του καρπού. Επιπλέον, είναι σημαντικό να παραληφθεί ένα σύνολο τιμών συγκρίσιμων με της βιβλιογραφίας προκειμένου να αξιολογηθεί η εγκυρότητα των ευρημάτων, καθώς δεν εντοπίσθηκε κάποια προηγούμενη έρευνα σχετική με τα μέρη του καρπού.

Το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο του καρπού υπολογίσθηκε ίσο με 21,91 ± 0,63 $mg_{GAE}/g_{καρπού}$, ενώ η συγκέντρωση των συστατικών με αντιριζική δράση ίση με 15,62 ± 0,17 $mg_{TE}/g_{καρπού}$. Οι συνολικές ανθοκυάνες προέκυψαν ίσες με 3,90 ± 0,13 $mg_{CyE}/g_{καρπού}$, τα ολικά φαινολικά οξέα ίσα με 0,765 ± 0,13 $mg_{ChAE}/g_{καρπού}$ και οι ολικές φλαβονόλες ίσες με 0,541 ± 0,007 $mg_{QRE}/g_{καρπού}$. Όλες οι παραπάνω περιεκτικότητες είναι εκφρασμένες σε νωπή βάση καρπού και έρχονται σε συμφωνία με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας (βλ. Πίνακα 2-4 σελ 32).

Στον Πίνακα 4-3 φαίνονται αναλυτικά οι συγκεντρώσεις φρέσκιας αρώνιας στα φαινολικά συστατικά που μελετήθηκαν αλλά και η συνεισφορά κάθε κλάσματος στο σύνολο του καρπού. Παρατηρούμε ότι οι ανθοκυάνες βρέθηκαν κατά βάση στο φλοιό του καρπού, καθώς η συνεισφορά του συγκεκριμένου κλάσματος εξήχθη > 70 % παρά το γεγονός ότι ο φλοιός αποτελεί μόλις το 14 % της συνολικής μάζας. Οι φλαβονόλες μοιράστηκαν εξίσου στα δύο κλάσματα. Τα φαινολικά οξέα εμφάνισαν παρόμοιες συγκεντρώσεις στη σάρκα και το φλοιό, οπότε λόγω σύστασης το κλάσμα με τη μεγαλύτερη συνεισφορά προέκυψε η σάρκα.

Πίνακας 4-3. Φαινολικό περιεχόμενο του καρπού της αρώνιας και συνεισφορά κάθε μέρους του σε αυτό.

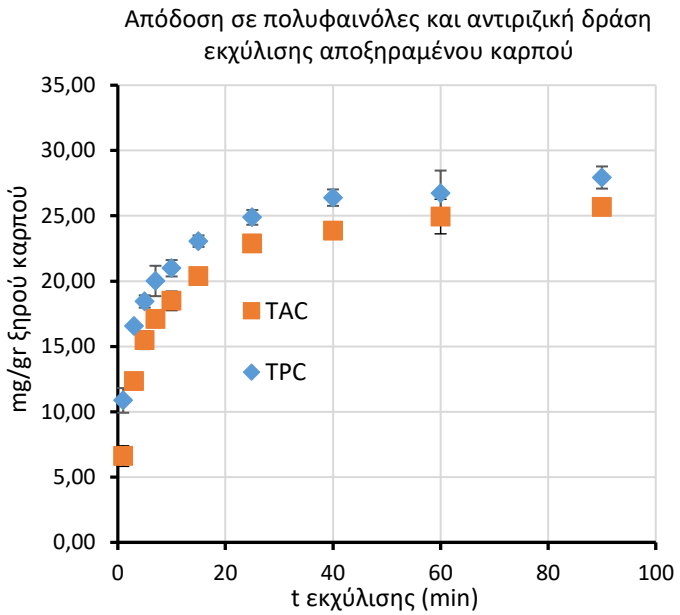
	Καρπός	Συνεισφορά φλοιού		Συνεισφορά σάρκας	
Ολικά φαινολικά συστατικά[1]	21,91 ± 0,63	6,81 ± 0,25	**31 ± 4 %**	15,10 ± 0,58	**69 ± 4 %**
Αντιριζική Ικανότητα[2]	15,62 ± 0,17	5,01 ± 0,07	**32 ± 2 %**	10,60 ± 0,16	**68 ± 2 %**
Ολικές ανθοκυάνες[3]	3,90 ± 0,13	2,87 ± 0,13	**73 ± 1 %**	1,04 ± 0,04	**27 ± 1 %**
3-O-γαλακτοζίτης της κυανιδίνης	2,58 ± 0,09	1,89 ± 0,09		0,70 ± 0,03	
3-O-γλυκοζίτης της κυανιδίνης	0,204 ± 0,003	0,159 ± 0,003		0,045 ± 0,001	
3-O-αραβινοζίτης της κυανιδίνης	0,966 ± 0,032	0,711 ± 0,030		0,255 ± 0,009	
3-O-ξυλοζίτης της κυανιδίνης	0,157 ± 0,009	0,110 ± 0,009		0,046 ± 0,001	
Ολικά φαινολικά οξέα[4]	0,765 ± 0,013	0,168 ± 0,011	**22 ± 1 %**	0,598 ± 0,007	**78 ± 1 %**
Νεοχλωρογενικό οξύ	0,265 ± 0,005	0,055 ± 0,003		0,209 ± 0,005	
Χλωρογενικό οξύ	0,501 ± 0,016	0,112 ± 0,012		0,388 ± 0,011	
Ολικές φλαβονόλες[5]	0,541 ± 0,007	0,249 ± 0,006	**46 ± 1 %**	0,292 ± 0,003	**54 ± 1 %**

Όλες οι συγκεντρώσεις είναι εκφρασμένες σε νωπή βάση και αφορούν 1g φρέσκου καρπού. [1]Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο είναι εκφρασμένο σε $mg_{GAE}/g_{καρπού}$ (GAE = Gallic Acid Equivalents), [2]Η αντιριζική ικανότητα είναι εκφρασμένη σε $mg_{TE}/g_{καρπού}$ (TE = Trolox Equivalents), [3]Οι ανθοκυάνες (ολικές και επιμέρους) είναι εκφρασμένες σε $mg_{CyE}/g_{καρπού}$ (CyE = Cyanidin Equivalents), [4]Τα φαινολικά οξέα (ολικά και επιμέρους) είναι εκφρασμένα σε $mg_{ChAE}/g_{καρπού}$ (ChAE = Chlorogenic Acid Equivalents) και [5]Οι φλαβονόλες είναι εκφρασμένες σε $mg_{QRE}/g_{καρπού}$ (QRE = Quercetin Rutinoside Equivalents).

Αποξηραμένος καρπός

Συμπληρωματικά με τη μελέτη του φρέσκου καρπού και των κλασμάτων του, έλαβε χώρα μια δοκιμή εκχύλισης αποξηραμένου καρπού αρώνιας (διαφορετικής προέλευσης). Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε σε μαγνητικό αναδευτήρα, με διαλύτη νερό και σε αναλογία 1:20 w/v. Σκοπός της ήταν η διερεύνηση αξιοποίησης τυχόν αδιάθετου αποξηραμένου προϊόντος. Τα αποτελέσματα δεν είναι άμεσα συγκρίσιμα με τα αντίστοιχα του φρέσκου καρπού, καθώς σε εκείνη την περίπτωση πραγματοποιηθήκαν 3 διαδοχικές εκχυλίσεις με διαλύτη μεθανόλη, ωστόσο μπορούν να αντιπαραβληθούν ενδεικτικά.

Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών συστατικών του αποξηραμένου καρπού μελετήθηκε σε συνάρτηση με το χρόνο εξέλιξης της εκχύλισης και διαπιστώθηκε ότι ο αποξηραμένος καρπός διέθετε 24,0 ± 1,0 $mg_{GAE}/g_{καρπού}$ σε νωπή βάση (ανάλυση Folin – Ciocalteu). Επιπλέον, η συγκέντρωση των συστατικών με αντιριζική ικανότητα προσδιορίσθηκε ίση με 22,07 ± 0,42 $mg_{TE}/g_{καρπού}$ σε νωπή βάση (ανάλυση DPPH). Οι τιμές αυτές μπορεί να μην έχουν προκύψει από εξαντλητικές μεθόδους εκχύλισης, ωστόσο έρχονται σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία (βλ. Πίνακα 2-4 σελ 32). Στο διάγραμμα 4-18 παρουσιάζονται οι ανακτήσεις των προαναφερθέντων συστατικών σε συνάρτηση με το χρόνο εξέλιξης της εκχύλισης.



Διάγραμμα 4-18. Παραλαβή πολυφαινολών (TPC) και συστατικών με αντιριζική ικανότητα (TAC) σε σχέση με το χρόνο εκχύλισης. TPC σε GAE και TAC σε TE.

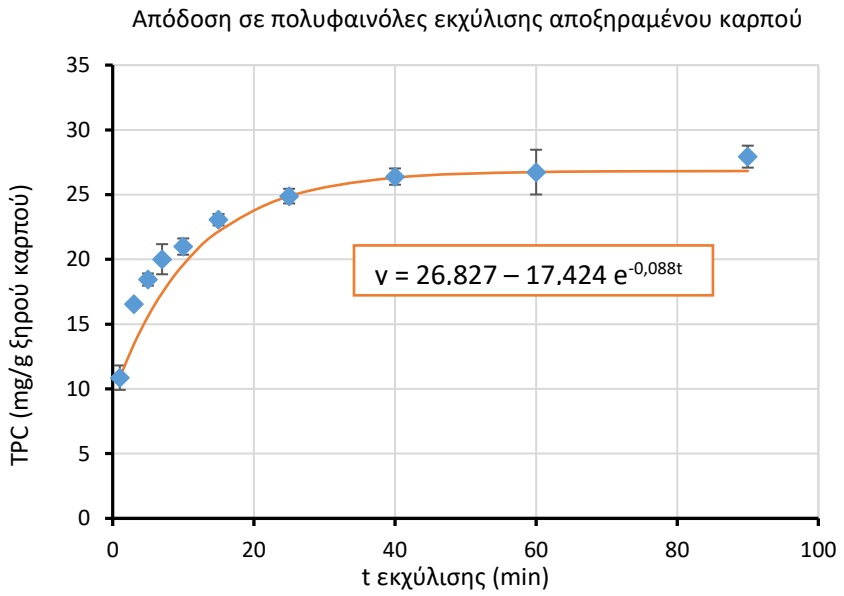
Οι δύο ομάδες συστατικών φαίνεται από το διάγραμμα ότι ακολουθούν παρόμοιες κινητικές ανάκτησης. Πράγματι, εφαρμόζοντας ανάλυση Pearson επιβεβαιώνεται ότι η συσχέτιση μεταξύ των ανακτήσεών τους είναι στατιστικά σημαντική και μάλιστα σε διάστημα εμπιστοσύνης 99% ($p < 0,001$). Με άλλα λόγια οι πολυφαινόλες και τα συστατικά με αντιριζική δράση αποτελούν ομάδες ουσιών που εκχυλίζονται κατά τον ίδιο τρόπο. Αναφορικά με τον απαιτούμενο χρόνο εκχύλισης, αναφέρεται ότι μέχρι τη στιγμή t = 10 min η συγκέντρωση φαινολικών συστατικών έχει ήδη ξεπεράσει το 75 % της τελική τιμής της (για t = 90 min).

Τα πειραματικά σημεία ολικής συγκέντρωσης πολυφαινολών – χρόνου εκχύλισης είναι δυνατό να προσαρμοστούν σε εκθετική καμπύλη της μορφής $c = c_\infty - ae^{-kt}$. Η καμπύλη αυτή προέρχεται από τον 1ο Νόμο Διάχυσης του Fick (σχέση 2.1) και αποτελεί μια απλοποιημένη έκφρασή του (Velickovic et al., 2006). Ο συντελεστής a είναι εκφρασμένος σε μονάδες συγκέντρωσης (mg/g) και ταυτίζεται με τη συνολική εν δυνάμει ανάκτηση εξαιρουμένης της αρχικής συγκέντρωσης ($a = c_\infty - c_0$), ενώ ο συντελεστής k υποδεικνύει το ρυθμό μείωσης της ανάκτησης στερεών συστατικών και εκφράζεται σε αντίστοιχες μονάδες (min^{-1}). Το πρώτο στάδιο της εκχύλισης αποτελεί το στάδιο έκπλυσης (washing stage), ενώ το δεύτερο αποτελεί το στάδιο διάχυσης (diffusion stage). Στο στάδιο έκπλυσης η συγκέντρωση αυξάνεται ταχέως διότι ο διαλύτης παραλαμβάνει εύκολα συστατικά της επιφάνειας (ή κοντά στην επιφάνεια) των σωματιδίων που είναι άμεσα προσβάσιμα. Στο στάδιο διάχυσης, τα συστατικά επιφανείας έχουν πλέον παραληφθεί και ο διαλύτης εκχυλίζει αργά συστατικά από τα

ενδότερα μέρη των σωματιδίων. Ως c_0 ορίζεται η συγκέντρωση σε χρόνο t = 0 (αμέσως μόλις ο διαλύτης δηλαδή ήρθε σε επαφή με το υλικό) και ως c_∞ η συνολική ανάκτηση που θα σημειωνόταν για $t \to \infty$.

Χρησιμοποιώντας το υπολογιστικό εργαλείο Solver του Microsoft Office Excel, εξάγονται οι τιμές των c_∞, a και k τέτοιες ώστε το θεωρητικό μοντέλο να παρουσιάζει την ελάχιστη δυνατή απόκλιση από τα πειραματικά σημεία. Εξάγεται λοιπόν η κινητική της ολικής ανάκτησης πολυφαινολών σε σχέση με το χρόνο εκχύλισης υπό τις συνθήκες που πραγματοποιήθηκε (πλήρης ανάδευση, διαλύτης νερό, T περιβάλλοντος):

$$c(t) = 26{,}827 - 17{,}424e^{-0.088t} \qquad (4.1)$$



Διάγραμμα 4-19. Ολική παραλαβή πολυφαινολών (TPC) σε σχέση με το χρόνο εκχύλισης (TPC σε GAE). Με σύμβολα αναπαρίστανται τα πειραματικά σημεία ενώ η γραμμή αποτελεί την προσέγγιση βάσει της σχέσης 4.1.

Στο διάγραμμα 4.19 παρατηρούμε ότι μέχρι τη στιγμή t = 25 min η συγκέντρωση φαινολικών συστατικών έχει ήδη ξεπεράσει το 89 % της τελική τιμής της (για t = 90 min). Η διαπίστωση αυτή είναι ιδιαιτέρως χρήσιμη υποθέτοντας ότι η διεργασία έχει προοπτικές μεταφοράς σε μεγάλη κλίμακα. Επίσης, για t > 40 min, ο ρυθμός εκχύλισης είναι εξαιρετικά μειωμένος και η κλίση της καμπύλης προσεγγίζει το 0. Ενδεικτικά, αναφέρεται ότι βάσει της σχέσης 4.1 προκύπτει c_{90} = 26,82 mg/g και c_∞ = 26,83 mg/g. Αυτό σημαίνει ότι η εκχύλιση είχε ολοκληρωθεί μέχρι τη στιγμή που διεκόπη το πείραμα και ότι η ανάκτηση που επετεύχθη ήταν η μέγιστη δυνατή. Η πειραματική τιμή της τελικής συγκέντρωσης είναι 27,9 ± 0,85 mg/g.

Οι αποκλίσεις του μοντέλου από τα πειραματικά σημεία εντοπίζονται κυρίως στο στάδιο έκπλυσης και μπορεί να οφείλονται σε ένα πλήθος παραγόντων όπως:

α) τη λειοτρίβηση του υλικού ακριβώς πριν την εκχύλιση του, που ενδεχομένως απελευθέρωσε εκχυλίσιμα συστατικά και προκάλεσε αύξηση του ρυθμού στο στάδιο έκπλυσης.

β) την παραδοχή για την προσαρμογή του μοντέλου ότι τα μελετούμενα συστατικά (πολυφαινόλες) κατανέμονται ομοιόμορφα στη μάζα του υλικού. Σε προηγούμενη παράγραφο έχει ήδη αποδειχθεί ότι ο φλοιός είναι κατά πολύ πλουσιότερος από τη σάρκα στις εν λόγω ενώσεις. Τα τμήματα

φλοιού βρίσκονταν αποκλειστικά στα εξωτερικά μέρη των σωματιδίων και ήρθαν αμέσως σε επαφή με το διαλύτη, άρα η εκχύλισή τους ξεκίνησε ταχύτατα. Αν τα μελετούμενα συστατικά ήταν για παράδειγμα λιπίδια που βρίσκονται στο εσωτερικό των κουκουτσιών πιθανότατα θα λαμβάναμε άλλη εικόνα.

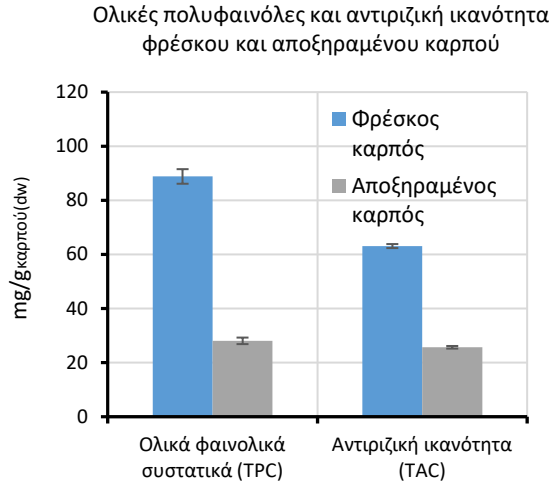
Αξίζει να συγκριθεί η περιεκτικότητα του αποξηραμένου καρπού σε πολυφαινόλες με την αντίστοιχη του φρέσκου καρπού που υπολογίσθηκε στην προηγούμενη ενότητα. Ο φρέσκος καρπός διέθετε 88,8 ± 2,7 $mg_{GAE}/g_{καρπού}$, ενώ η αντίστοιχη τιμή για τον αποξηραμένο ήταν 27,9 ± 0,8 $mg_{GAE}/g_{καρπού}$ (σε ξηρή βάση). Παρόλο που τα δύο υλικά δεν ήταν της ίδιας προέλευσης ώστε να είναι άμεσα συγκρίσιμες οι τιμές αυτές, είναι εμφανής η υποβάθμιση του φαινολικού περιεχομένου λόγω της ξήρανσης.

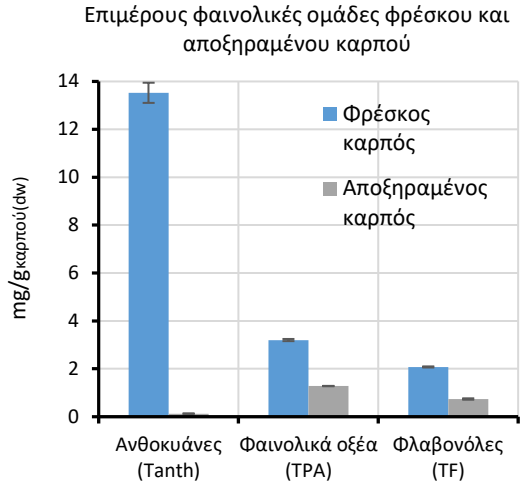
Εν συνεχεία, παρουσιάζονται αναλυτικά οι επιμέρους φαινολικές ομάδες που ταυτοποιήθηκαν με την ανάλυση HPLC – DAD και ποσοτικοποιήθηκαν με βάση τις καμπύλες αναφοράς που παρουσιάσθηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο (βλ. Ποσοτικοποίηση επιμέρους φαινολικών συστατικών με HPLC, σελ. 68).

Τη μεγαλύτερη διαφορά με το φρέσκο καρπό την ανιχνεύουμε στην περίπτωση των ανθοκυανών. Στο εκχύλισμα του αποξηραμένου καρπού εντοπίζεται μόνο μία μονομερής ανθοκυάνη, σε συγκέντρωση 0,120 ± 0,022 $mg_{CyE}/g_{καρπού}$ (σε ξηρή βάση), ενώ η αντίστοιχη τιμή για το φρέσκο καρπό ήταν 3,90 ± 0,13 $mg_{CyE}/g_{καρπού}$, κατά 140 περίπου φορές δηλαδή μεγαλύτερη. Πολύ πιθανό ένα μέρος των ανθοκυανών που υπολείπονται να έχουν πολυμεριστεί προς μεγαλύτερες δομές (ταννίνες). Είναι γνωστό ωστόσο ότι οι ανθοκυάνες είναι ιδιαίτερα θερμοευαίσθητες ενώσεις οπότε εικάζεται ότι το μεγαλύτερο μέρος τους έχει οξειδωθεί κατά τη διάρκεια της θερμικής κατεργασίας.

Στον αποξηραμένο καρπό εντοπίσθηκαν δύο φαινολικά οξέα με ίδιους χρόνους έκλουσης και φάσματα υπεριώδους – ορατού με αυτά που ταυτοποιήθηκαν στο φρέσκο καρπό, το νεοχλωρογενικό και το χλωρογενικό. Συγκεκριμένα, η συγκέντρωση του νεοχλωρογενικού βρέθηκε ίση με 0,544 ± 0,008 $mg_{ChAE}/g_{καρπού}$ και του χλωρογενικού ίση με 0,736 ± 0,016 $mg_{ChAE}/g_{καρπού}$ (σε ξηρή βάση). Συνολικά, η περιεκτικότητα του αποξηραμένου καρπού σε φαινολικά οξέα ήταν ίση με 1,280 ± 0,008 $mg_{ChAE}/g_{καρπού}$ (σε ξηρή βάση), κατά 2,5 περίπου φορές μικρότερη από αυτή του φρέσκου καρπού.

Τέλος, οι φλαβονόλες εντοπίσθηκαν σε συγκέντρωση 0,739 ± 0,029 $mg_{QRE}/g_{καρπού}$ (σε ξηρή βάση), τιμή που είναι κατά 3 περίπου φορές μικρότερη από την αντίστοιχη του φρέσκου καρπού. Αξίζει να σημειωθεί όμως ότι ανιχνεύθηκε ο ίδιος αριθμός κύριων φλαβονολών (3) με χρόνους έκλουσης αντίστοιχους με εκείνους που σημειώθηκαν στο φρέσκο.





Διαγράμματα 4-20 και 4-21. Σύγκριση φαινολικού περιεχομένου φρέσκου και αποξηραμένου καρπού. TPC σε GAE (Gallic Acid Equivalents), TAC σε TE (Trolox Equivalents), Tanth σε CyE (Cyanidin Equivalents), TPA σε ChAE (Chlorogenic Acid Equivalents) και TF σε QRE (Quercetin Rutinoside Equivalents).

4.2. Χυμοποίηση καρπού και χαρακτηρισμός χυμού

Για την παραγωγή φυσικού χυμού αρώνιας, προζυγισμένη ποσότητα καρπού πολτοποιήθηκε σε γουδί πορσελάνης με γυάλινο ιγδίο και ακολούθως φυγοκεντρήθηκε για διαχωρισμό των φάσεων. Ο παραγόμενος χυμός ογκομετρήθηκε και το παραπροϊόν (πυρήνας) ζυγίσθηκε, οπότε προέκυψε η πειραματική απόδοση σε χυμό ίση με 45,3 ± 1,9 % v/w και η πειραματική απόδοση σε παραπροϊόν ίση με 51 ± 2 % w/w.

Ο χυμός της αρώνιας υποβλήθηκε σε μια σειρά αναλύσεων με σκοπό το χαρακτηρισμό του, ενώ το παραπροϊόν ξηράνθηκε σε ρεύμα αέρα 40°C (Biosec, Italy) και έπειτα αποθηκεύτηκε υπό κατάψυξη για περαιτέρω κατεργασία. Στις ίδιες αναλύσεις υποβλήθηκε για λόγους σύγκρισης και ένα εμπορικό προϊόν φυσικού χυμού.

Διαλυτοποιημένα στερεά

Αρχικά, με πλήρη ξήρανση δειγμάτων των χυμών σε φούρνο (Binder, Germany) υπολογίσθηκε η περιεκτικότητά τους σε στερεά. Βρέθηκε ίση με 19,7 ± 0,1 % w/v για το εργαστηριακό παρασκεύασμα και 17,84 ± 0,01 % w/v για το εμπορικό προϊόν.

Σάκχαρα

Το μεγαλύτερο μέρος των στερεών του χυμού αποτελείται από σάκχαρα. Πιο συγκεκριμένα, το κυρίως σάκχαρο της αρώνιας είναι η σορβιτόλη και ακολουθούν δύο αναγωγικοί μονοσακχαρίτες, η γλυκόζη και η φρουκτόζη (Mayer-Miebach et al., 2012). Στην παρούσα μελέτη οι συγκεντρώσεις σακχάρων στο χυμό προσδιορίσθηκαν με ανάλυση HPLC – RI και κινητή φάση ακετονιτρίλιο - νερό. Η σορβιτόλη ωστόσο δεν μπορούσε να προσδιορισθεί με την εν λόγω ανάλυση, οπότε τα αποτελέσματα περιορίσθηκαν στις συγκεντρώσεις αναγωγικών σακχάρων (γλυκόζης και φρουκτόζης). Για τη μετατροπή των εμβαδών των κορυφών σε συγκεντρώσεις χρησιμοποιήθηκε η καμπύλη αναφοράς της γαλακτόζης:

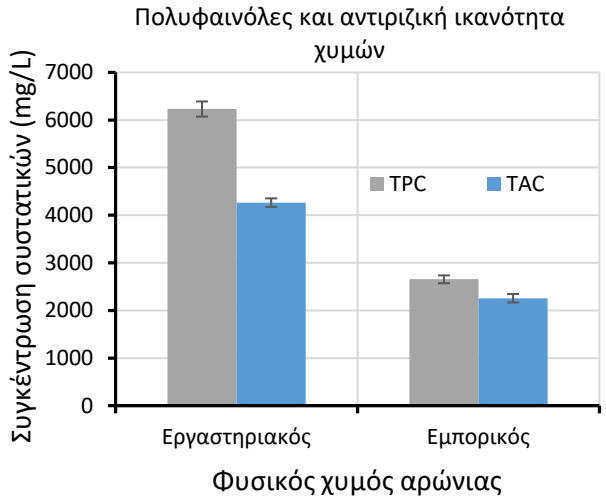
E = 8754,1c + 150,53 όπου c η συγκέντρωση του μονοσακχαρίτη σε % w/v

Οι δύο χυμοί παρουσίασαν παρόμοιες συγκεντρώσεις σε αναγωγικά σάκχαρα: 5,30 ± 0,05 % w/v για το εργαστηριακό παρασκεύασμα και 5,68 % w/v για το εμπορικό προϊόν. Ενδεικτικά, αναφέρεται ότι η αναγραφόμενη συγκέντρωση σακχάρων στην ετικέτα του εμπορικού προϊόντος ήταν 12,9 % w/v. Η διαφορά των δύο τιμών (7,2 % w/v) θα μπορούσε σε συμφωνία και με τη βιβλιογραφία να αποδοθεί στη σορβιτόλη.

Ολικό φαινολικό περιεχόμενο και αντιριζική ικανότητα

Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των χυμών προσδιορίσθηκε (έπειτα από κατάλληλη αραίωση) με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu και η αντιριζική ικανότητα με την ανάλυση DPPH. Διαπιστώθηκε ότι ο

εργαστηριακός χυμός διέθετε περιεκτικότητα σε φαινόλες 6231 ± 159 mg_{GAE}/L ενώ η αντίστοιχη τιμή για το εμπορικό προϊόν ήταν 2550 ± 83 mg_{GAE}/L. Αντίστοιχα, ο εργαστηριακός χυμός διέθετε αντιριζική ικανότητα 4265 ± 89 mg_{TE}/L ενώ η αντίστοιχη τιμή για το εμπορικό προϊόν ήταν 2257 mg_{TE}/L. Παρατηρούμε ότι υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο δειγμάτων σε πολυφαινόλες και σε συστατικά με αντιριζική ικανότητα. Το γεγονός αυτό εγείρει αρκετούς προβληματισμούς σχετικά με τη διατηρησιμότητα των βιοδραστικών συστατικών και το ρυθμό υποβάθμισης των αντιοξειδωτικών στον όγκο του χυμού.



Διάγραμμα 3. Ολικό φαινολικό περιεχόμενο και αντιριζική ικανότητα εργαστηριακού χυμού σε σύγκριση με το εμπορικό προϊόν. TPC σε GAE (Gallic Acid Equivalents) και TAC σε TE (Trolox Equivalents)

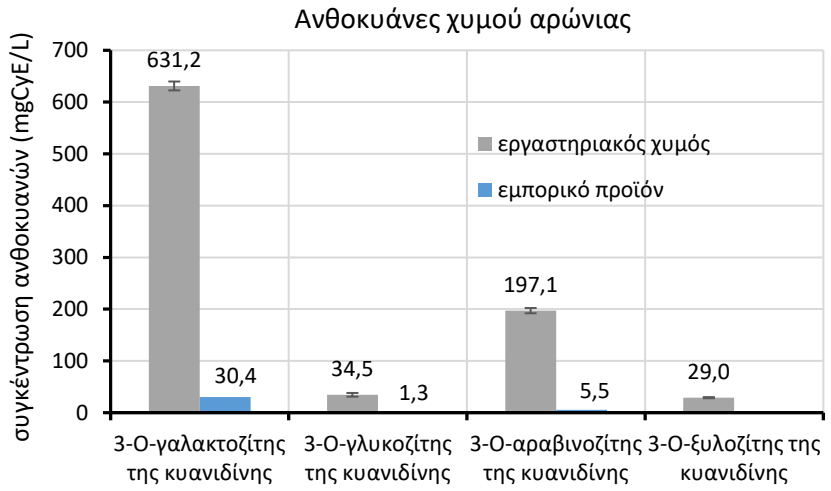
Βάσει της απόδοσης χυμοποίησης που παρουσιάσθηκε στην ενότητα 4.3 (45,3 mL χυμού ανά 100 g νωπού καρπού) προκύπτει ότι η ποσότητα φαινολικών συστατικών που μεταβιβάστηκε στο χυμό του καρπού ήταν 2,8 ± 0,1 $mg_{GAE}/g_{καρπού}$ (σε νωπή βάση) που αντιστοιχεί στο 12,9 % του συνολικού περιεχομένου του καρπού. Αντίστοιχα, η αντιριζική ικανότητα που μεταβιβάστηκε στο χυμό του καρπού ήταν 1,96 mg_{TE}/ $g_{καρπού}$ (σε νωπή βάση) που αντιστοιχεί στο 12,5 % του συνολικού περιεχομένου του καρπού.

Επιμέρους φαινολικά συστατικά

Οι ανθοκυάνες, τα φαινολικά οξέα και οι φλαβονόλες των χυμών προσδιορίστηκαν με την ανάλυση HPLC - DAD και ποσοτικοποιήθηκαν με βάση τις αντίστοιχες καμπύλες αναφοράς. Στους χυμούς εντοπίσθηκαν τα ίδια φαινολικά συστατικά που βρέθηκαν στα κλάσματα του καρπού και των οποίων η διαδικασία ταυτοποίησης αναλύθηκε στην προηγούμενη ενότητα (βλ. σελίδα 76). Επιπρόσθετα, προσδιορίσθηκε το ολικό περιεχόμενο των χυμών σε ταννίνες μέσω της ανάλυσης με πρωτεΐνη BSA.

Όσον αφορά τις ανθοκυάνες, ο εργαστηριακός χυμός διέθετε 892 ± 11 mg_{CyE}/L, ενώ η αντίστοιχη τιμή για το εμπορικό προϊόν ήταν 37,2 mg_{CyE}/L. Πιο αναλυτικά, ο εργαστηριακός χυμός βρέθηκε ότι περιείχε 631 ± 8 mg_{CyE}/L 3-*O*-γαλακτοζίτη της κυανιδίνης, 197 ± 5 mg_{CyE}/L 3-*O*-αραβινοζίτη της κυανιδίνης, 34,5 ± 3,6 mg_{CyE}/L 3-*O*-γλυκοζίτη της κυανιδίνης και 29,0 ± 1,1 mg_{CyE}/L 3-*O*-ξυλοζίτη της κυανιδίνης. Αρκετά χαμηλότερες συγκεντρώσεις προσδιορίσθηκαν στο εμπορικό προϊόν και πιο συγκεκριμένα: 30,38 mg_{CyE}/L 3-*O*-γαλακτοζίτη της κυανιδίνης, 5,5 mg_{CyE}/L 3-*O*-αραβινοζίτη της κυανιδίνης, 1,32 mg_{CyE}/L 3-*O*-γλυκοζίτη της κυανιδίνης, ενώ δεν εντοπίσθηκε καθόλου ο 3-*O*-ξυλοζίτης της κυανιδίνης.

Παρατηρούμε ότι ο εμπορικός χυμός περιείχε ίχνη ανθοκυανών σε αντίθεση με τον εργαστηριακό που ήταν αρκετά πλούσιος σε αυτές. Αυτό μπορεί να οφείλεται εν μέρει στο σταδιακό πολυμερισμό τους προς σχηματισμό μεγαλύτερων δομών (ταννίνες), στην υποβάθμισή τους λόγω της διαδικασίας παραγωγής (ενδεχόμενη θέρμανση, παστερίωση) ή/και της αποθήκευσης.



Διάγραμμα 4-23. Περιεκτικότητα εργαστηριακού χυμού σε ανθοκυάνες σε σύγκριση με το εμπορικό προϊόν.

Βάσει της απόδοσης χυμοποίησης (45,3 mL χυμού ανά 100 g νωπού καρπού) προκύπτει ότι η ποσότητα ανθοκυανών που μεταβιβάστηκε στο χυμό του καρπού ήταν 0,404 ± 0,012 $mg_{CyE}/g_{καρπού}$ (νωπή βάση) που αντιστοιχεί στο 10,4 % του συνολικού περιεχομένου του καρπού.

Συνεχίζοντας με τις φλαβονόλες, διαπιστώθηκε ότι ο εργαστηριακός χυμός διέθετε 269 ± 12 mg_{QRE}/L ενώ η αντίστοιχη τιμή για το εμπορικό προϊόν ήταν 57,4 mg_{QRE}/L. Παρατηρούμε ότι και σε αυτή την περίπτωση, η περιεκτικότητα του εμπορικού προϊόντος είναι σημαντικά χαμηλότερη από το εργαστηριακό παρασκεύασμα.

Βάσει της απόδοσης χυμοποίησης προκύπτει ότι η ποσότητα φλαβονολών που μεταβιβάστηκε στο χυμό ήταν 0,122 ± 0,011 $mg_{QRE}/g_{καρπού}$ (σε νωπή βάση) που αντιστοιχεί στο 23 % του συνολικού περιεχομένου του καρπού.

Για τα φαινολικά οξέα η συνολική συγκέντρωση προσδιορίστηκε ίση με 1116 ± 45 mg_{ChAE}/L, ενώ η αντίστοιχη τιμή για το εμπορικό προϊόν ήταν 654 mg_{ChAE}/L. Όπως φαίνεται τα φαινολικά οξέα σημείωσαν τη μικρότερη διαφορά μεταξύ εργαστηριακού και εμπορικού χυμού. Αυτό θα μπορούσε να σημαίνει ότι είναι σταθερότερες ενώσεις από τις φλαβονόλες και τις ανθοκυάνες και ότι ο ρυθμός υποβάθμισής τους είναι μικρότερος.

Βάσει της απόδοσης χυμοποίησης προκύπτει ότι η ποσότητα φαινολικών οξέων που μεταβιβάστηκε στο χυμό ήταν 0,521 ± 0,022 $mg_{ChAE}/g_{καρπού}$ (σε νωπή βάση) που αντιστοιχεί στο 66,1 % του συνολικού περιεχομένου του καρπού. Παρατηρούμε ότι η παραλαβή των φαινολικών οξέων μέσω χυμοποίησης είναι σημαντικά αποδοτικότερη σε σχέση με τις φλαβονόλες και τις ανθοκυάνες. Για να ερμηνευθεί αυτό, αρκεί να ληφθούν υπόψιν τα ευρήματα της προηγούμενης ενότητας (ότι δηλαδή η σάρκα παρουσιάζει τη σημαντικότερη συνεισφορά στη συγκέντρωση φαινολικών οξέων του καρπού). Δεδομένου λοιπόν ότι η χυμοποίηση αφορά κυρίως την παραλαβή συστατικών από τη σάρκα, η παραπάνω διαπίστωση κρίνεται λογική και αναμενόμενη.

Τέλος, ο χυμός μελετήθηκε και ως προς την περιεκτικότητά του σε ταννίνες. Για το σκοπό αυτό, το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των χυμών μετρήθηκε πριν και μετά την καταβύθιση των ταννινών με πρωτεΐνη βόειου ορού (BSA). Η διαφορά που προέκυψε αποδόθηκε στις ταννίνες και ποσοτικοποιήθηκε σε GAE (Gallic Acid Equivalents). Περισσότερα στοιχεία για την καταβύθιση ταννινών με BSA παρατίθενται στην ενότητα των αναλυτικών μεθόδων (σελίδα 64).

Η συγκέντρωση των ταννινών στον εργαστηριακό φυσικό χυμό βρέθηκε ίση με 2190 ± 109 mg_{GAE}/L ενώ στο εμπορικό προϊόν ίση με 27,9 ± 4 mg_{GAE}/L. Παρατηρούμε ότι στον εργαστηριακό χυμό η συγκέντρωση ταννινών είναι ιδιαίτερα υψηλή, αφού αντιστοιχεί στο 35 % του ολικού περιεχομένου του.

Συγκεντρωτικά χαρακτηριστικά

Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται το σύνολο των συστατικών που μελετήθηκαν στο φυσικό χυμό αρώνιας.

Πίνακας 4-4. Ολικά στερεά, αναγωγικά σάκχαρα και φαινολικό περιεχόμενο του φυσικού χυμού αρώνιας.

	Εργαστηριακός φυσικός χυμός	Εμπορικός φυσικός χυμός
Ολικά στερεά[1]	197 ± 1	178,4 ± 0,1
Ολικά αναγωγικά σάκχαρα[2]	53,0 ± 0,5	56,8
Ολικά φαινολικά συστατικά[3]	6231 ± 159	2550 ± 83
Αντιριζική Ικανότητα[4]	4265 ± 89	2257
Ολικές ανθοκυάνες[5]	892 ± 11	37,2
3-O-γαλακτοζίτης της κυανιδίνης	631 ± 8	30,38
3-O-γλυκοζίτης της κυανιδίνης	34,5 ± 3,6	1,32
3-O-αραβινοζίτης της κυανιδίνης	197 ± 5	5,5
3-O-γλυκοζίτης της κυανιδίνης	29,0 ± 1,1	ND
Ολικά φαινολικά οξέα[6]	1116 ± 45	654
Νεοχλωρογενικό οξύ	438,3 ± 5,4	127,1
Χλωρογενικό οξύ	628 ± 38	161,0
Ολικές φλαβονόλες[7]	269 ± 12	57,4
Ταννίνες (προανθοκυανιδίνες)[3]	2190 ± 109	27,9 ± 4

Όλες οι συγκεντρώσεις είναι εκφρασμένες σε νωπή βάση και αφορούν 1L φυσικού χυμού. [1]Ολικά στερεά σε g/L, [2]Ολικά αναγωγικά στερεά σε g/L, [3]Ολικό φαινολικό περιεχόμενο και ταννίνες σε mg_{GAE}/L (GAE = Gallic Acid Equivalents), [4]Αντιριζική ικανότητα σε mg_{TE}/L (TE = Trolox Equivalents), [5]Ανθοκυάνες (ολικές και επιμέρους) σε mg_{CyE}/L (CyE = Cyanidin Equivalents), [6]Φαινολικά οξέα (ολικά και επιμέρους) σε mg_{ChAE}/L (ChAE = Chlorogenic Acid Equivalents) και [7]Φλαβονόλες εκφρασμένες σε mg_{QRE}/L (QRE = Quercetin Rutinoside Equivalents). ND = Not detected.

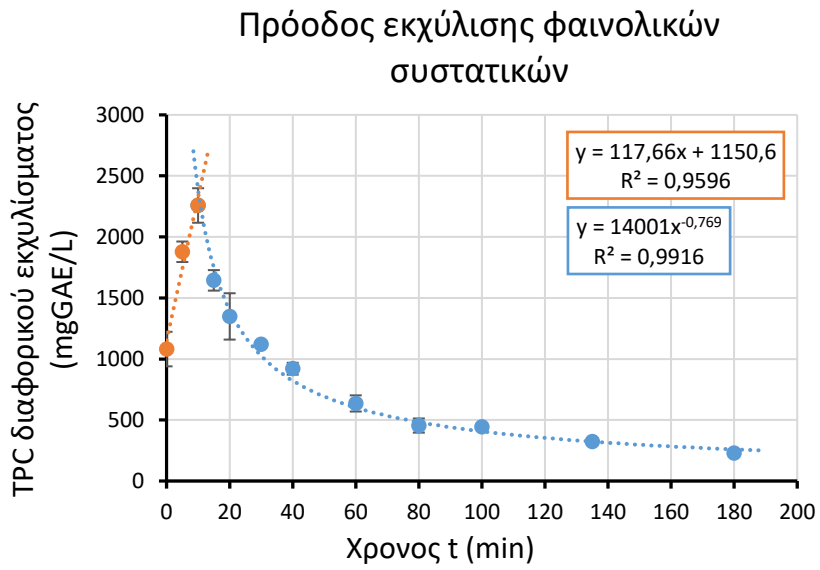
4.3. Εκχύλιση παραπροϊόντος (πυρήνα) χυμοποίησης

Από τη χυμοποίηση του φρέσκου καρπού ελήφθη σε ποσοστό 51 ± 2 % w/w ένας πολτός (πυρήνας χυμοποίησης), ως παραπροϊόν. Ο πυρήνας ξηράνθηκε σε ρεύμα θερμού αέρα 40°C και έπειτα αποθηκεύτηκε υπό κατάψυξη. Αφού αποψύχθηκε, κατεργάσθηκε περαιτέρω με στόχο τη μελέτη

ανάκτησης αντιοξειδωτικών από τη μάζα του. Πιο συγκεκριμένα υποβλήθηκε σε εκχύλιση με διαλύτη νερό οξινισμένο κατά 0,75 % με κιτρικό οξύ (σε σταθερή κλίνη ημιδιαλείποντος έργου). Η τελική προκύπτουσα αναλογία ήταν 1:18 (επί της ξηρής μάζας) και η συνολική διάρκεια εκχύλισης 180 min. Μελετήθηκε η ανάκτηση πολυφαινολών στο εκχύλισμα σε σχέση με το χρόνο εκχύλισης και επιπλέον το τελικό εκχύλισμα υποβλήθηκε σε ανάλυση HPLC – DAD ώστε να προσδιοριστούν οι συγκεντρώσεις φαινολικών συστατικών στον όγκο του.

Ολικό φαινολικό περιεχόμενο και αντιριζική ικανότητα

Στο διάγραμμα 4-24 δίνεται η συγκέντρωση σε φαινολικά συστατικά του εξερχόμενου (από τον εκχυλιστήρα) εκχυλίσματος συναρτήσει του χρόνου εκχύλισης. Διαπιστώθηκε ότι η συγκέντρωση φαινολικών συστατικών παρουσίασε μέγιστο σε χρόνο t = 10 min από την έναρξη της διεργασίας και όγκο παραληφθέντος εκχυλίσματος Vεκχ = 50 mL.



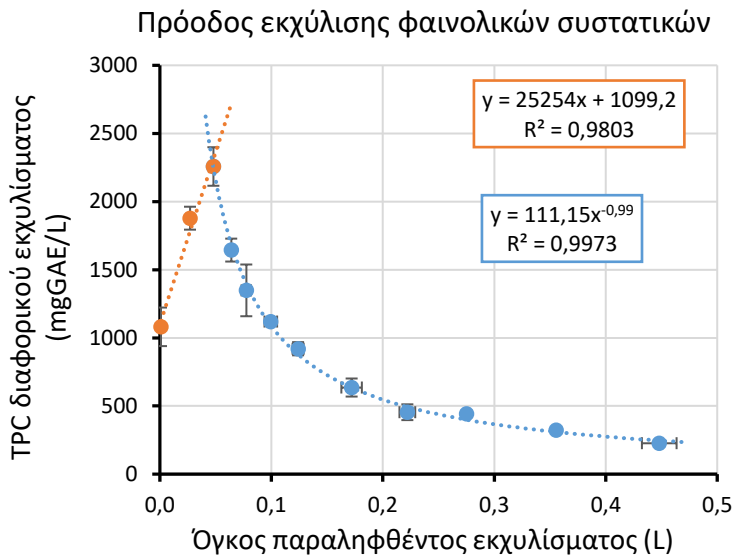
Διάγραμμα 4-24. Διαφορική συγκέντρωση παρεληφθέντων φαινολικών συστατικών σε σχέση με το χρόνο.

Στο διάγραμμα 4-24 παρουσιάζονται τα πειραματικά δεδομένα, που προέκυψαν λαμβάνοντας διαφορικά δείγματα εκχυλίσματος από την έξοδο του εκχυλιστήρα και τα οποία ακολούθως αναλύθηκαν με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu για τον προσδιορισμό των πολυφαινολών. Στο ίδιο διάγραμμα (4-24) φαίνεται ότι η μεταβολή της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών στο εκχύλισμα ακολουθεί άλλη καμπύλη στους αρχικούς χρόνους και άλλη μετά τη χρονική στιγμή t = 10 min. Πιο συγκεκριμένα, η κλίση της καμπύλης για τους πρώτους χρόνους είναι θετική, ενώ μετά τα 10 min είναι αρνητική. Αυτό συμβαίνει διότι τα πρώτα στάδια ελέγχονται κυρίως από τα φαινόμενα διαβροχής και έκπλυσης. Αντιπροσωπεύουν τον απαιτούμενο χρόνο έως ότου το υλικό στην κλίνη διαβραχεί στο μέγιστο βαθμό και εκπλυθούν τα φαινολικά συστατικά που βρίσκονται επιφανειακά, οπότε και παρατηρείται η μέγιστη συγκέντρωση.

Βάσει των παραπάνω, η εξίσωση που περιγράφει τη διεργασία είναι δίκλαδη και για την εξαγωγή της γίνεται η παραδοχή ότι το μέγιστο που φαίνεται στο διάγραμμα 4-24 (x = 10, y = 2257) αποτελεί και το σημείο διαχωρισμού των δύο κλάδων. Στην πραγματικότητα, η μέγιστη συγκέντρωση πολυφαινολών

στο εξερχόμενο εκχύλισμα μπορεί να παρουσιάσθηκε πριν ή μετά τα 10 min, όμως από τα παρόντα πειραματικά δεδομένα είναι αδύνατο να αντληθεί αυτή η πληροφορία.

Η συσχέτιση από την οποία μπορούν να εξαχθούν περισσότερες πληροφορίες εντοπίζεται μεταξύ του φαινολικού περιεχομένου του εξερχόμενου εκχυλίσματος και του όγκου ολικού παραληφθέντος εκχυλίσματος (διαγραμμα 4-25).



Διάγραμμα 4-25 . Διαφορική συγκέντρωση παρεληφθέντων φαινολικών συστατικών σε σχέση με τον όγκο εκχυλίσματος.

Η εξίσωση λοιπόν που περιγράφει τη μεταβολή της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος που παραλαμβάνεται από τον ξηρό, κονιοποιημένο πυρήνα στις συνθήκες που διεξήχθη η εκχύλιση εργαστηριακά (σταθερή κλίνη ημιδιαλείποντος έργου, οξινισμένο νερό) είναι:

$$TPC = \begin{cases} 25254\,V + 1099{,}2 & \text{για} \quad V < 0{,}050 \\ 111{,}15\,V^{-0{,}99} & \text{για} \quad V \geq 0{,}050 \end{cases} \qquad (4.2)$$

με TPC σε mg_{GAE}/L και V σε L.

Το εμβαδόν που ορίζεται από την παραπάνω καμπύλη και τον οριζόντιο άξονα αντιπροσωπεύει τη συνολική μαζική ανάκτηση πολυφαινολών μέσω της εκχύλισης. Ολοκληρώνοντας χωριστά κάθε κλάδο της εξίσωσης έχουμε:

$$TPC_{total} = \int 25254\,V + 1099{,}2\,dV = 12627\,V^2 + 1099{,}2\,V + c_1, \qquad 0 < V < 0{,}050$$

$$TPC_{total} = \int 111{,}15\,V^{-0{,}99} dV = 11115\,V^{0{,}01} + c_2, \qquad 0{,}050 \leq V$$

με V σε L.

Λαμβάνοντας υπόψιν ότι:

- για κάθε ζεύγος V_1, V_2 του ίδιου κλάδου θα πρέπει η διαφορά $TPC_{total(2)} - TPC_{total(1)}$ να ταυτίζεται με το ορισμένο ολοκλήρωμα της συνάρτησης από V_1 έως V_2 και
- η συνάρτηση θα πρέπει για V = 0,050 να είναι συνεχής,

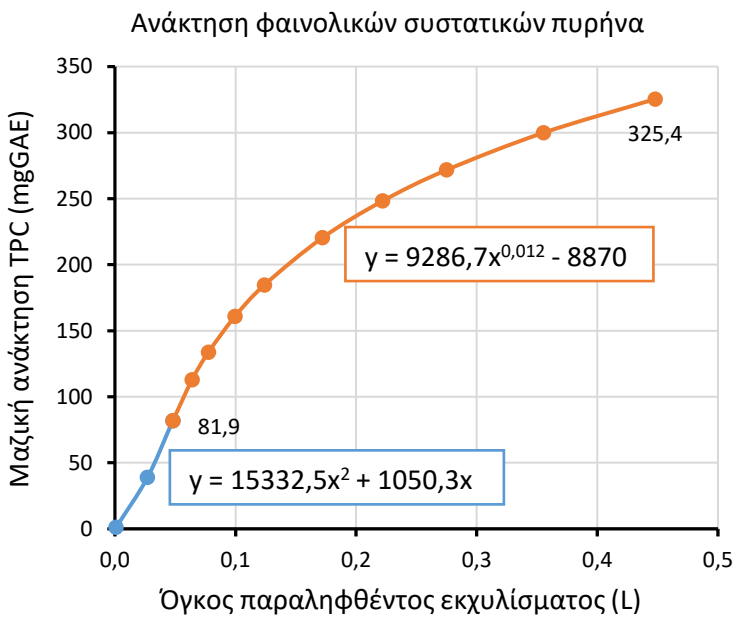
υπολογίζονται με χρήση του λογισμικού Solver του Excel οι σταθερές:

$c_1 = 0$ και $c_2 = -10700$

οπότε τελικά η συνάρτηση που περιγράφει τη μαζική ανάκτηση πολυφαινολών για τη συγκεκριμένη διεργασία είναι :

$$TPC_{total} = \begin{cases} 12627\,V^2 + 1099{,}2\,V & \text{για} \quad V < 0{,}050 \\ 11115\,V^{0{,}012} - 10700 & \text{για} \quad V \geq 0{,}050 \end{cases} \qquad (4.3)$$

με TPC_{total} σε mg_{GAE} και V σε L.



Διάγραμμα 4-26. Μαζική ανάκτηση φαινολικών συστατικών από τον πυρήνα χυμοποίησης μέσω εκχύλισης (υπολογιστικές τιμές)

Η παραπάνω εξίσωση (ο δεύτερος κλάδος) βασίζεται σε μαθηματικό μοντέλο που παρουσιάστηκε το 1989 από τους Peppas et al. (Power law model) και αποτελεί μια εμπειρική σχέση που έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς σε πολλές έρευνες για την περιγραφή ανάκτησης συστατικών από φυτικούς ιστούς. Ο λόγος που προτιμήθηκε εδώ είναι ότι προσαρμόστηκε πάρα πολύ καλά στα πειραματικά δεδομένα, σε αντίθεση με συνάρτηση εκθετικού τύπου που επίσης επιχειρήθηκε αλλά παρουσίασε μεγάλες αποκλίσεις. Η συνολική ανάκτηση που προβλέπει η εξίσωση 4.3 για την εκχύλιση του πυρήνα, υπό τις συνθήκες που πραγματοποιήθηκε είναι 325,4 mg_{GAE} (μαζική παραλαβή). Για λόγους αξιολόγησης της υπολογιστικής τιμής, το συνολικό εκχύλισμα υποβλήθηκε αυτούσιο στην ανάλυση Folin – Ciocalteu και προσδιορίσθηκε η περιεκτικότητά του σε φαινόλες: 327 ± 11 mg_{GAE} στο παρεληφθέν εκχύλισμα των 450 mL. Η υπολογιστική τιμή είναι εξαιρετικά κοντά στην πραγματική και αυτό είναι αρκετά ενθαρρυντικό όσον αφορά την ορθότητα της συλλογιστικής πορείας που

ακολουθήθηκε και την επιλογή του μοντέλου. Όσον αφορά την πρόοδο της ανάκτησης, αναφέρεται ότι μέχρι τη στιγμή t = 60 min η απόδοση είχε ξεπεράσει το 65 % της τιμής που τελικά επετεύχθη (για t = 180 min). Ωστόσο, για τη μεταφορά της εκχύλισης σε μεγάλη κλίμακα είναι αναγκαία η βελτιστοποίησή της, ώστε να αυξηθεί ο ρυθμός ανάκτησης στα αρχικά στάδια (άρα να διακόπτεται σύντομα), αλλά και η συνολική απόδοση, καθώς όπως θα εξηγηθεί παρακάτω κρίνεται μη ικανοποιητική.

Λαμβάνοντας υπ'όψιν ότι:

- η αρχική ποσότητα πυρήνα που εκχυλίσθηκε ήταν 25 g (dw) και
- το ποσοστό αρχικής υγρασίας στον πυρήνα χυμοποίησης είναι 66,7 % w/w

προκύπτει ότι μέσω της εκχύλισης με οξινισμένο νερό, η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών που παρελήφθη από το υπόλειμμα της χυμοποίησης ήταν ίση με 13,2 $mg_{GAE}/g_{παραπροϊόντος}$ σε ξηρή βάση ή αλλιώς 4,37 $mg_{GAE}/g_{παραπροϊόντος}$ σε νωπή βάση. Επιπλέον, δεδομένου ότι το παραγόμενο παραπροϊόν διέθετε μάζα ίση με το 51 % της μάζας του καρπού που χυμοποιήθηκε (σε νωπή βάση) διαπιστώνεται ότι η παραλαβή φαινολικών συστατικών μέσω εκχύλισης του υπολείμματος περιορίσθηκε στα 2,2 $mg_{GAE}/g_{καρπού,}$ τιμή που αντιστοιχεί στο 10,2 % του συνολικού περιεχομένου του καρπού.

Συμπληρωματικά, προσδιορίσθηκε η αντιριζική ικανότητα στο τελικό συνολικό εκχύλισμα ίση με 341 mg_{TE}/L, τιμή που αντιστοιχεί στο 6,6 % του συνολικού περιεχομένου του καρπού.

Επιμέρους φαινολικά συστατικά

Τα επιμέρους φαινολικά συστατικά του πυρήνα (ανθοκυάνες, φαινολικά οξέα και φλαβονόλες) προσδιορίστηκαν με την ανάλυση HPLC - DAD και ποσοτικοποιήθηκαν με βάση τις αντίστοιχες καμπύλες αναφοράς. Εντοπίσθηκαν οι ίδιες φαινολικές ενώσεις που βρέθηκαν στα κλάσματα του καρπού και στους χυμούς (για ταυτοποίηση φαινολικών ενώσεων βλ. σελίδα 76).

Οι ανθοκυανίνες του πυρήνα ποσοτικοποιήθηκαν βάσει του εμβαδού των αντίστοιχων κορυφών και της καμπύλης αναφοράς της κυανιδίνης στα 520 nm (E_{520} = 80,347c – 26,342, όπου c η συγκέντρωση σε ppm) σε ισοδύναμα κυανιδίνης (Cyanidin Equivalents – CyE).

Από την εκχύλιση παρελήφθησαν συνολικά 1,22 ± 0,05 $mg_{CyE}/g_{πυρήνα}$ σε νωπή βάση, τιμή που αντιστοιχεί στο 16 % του συνολικού περιεχομένου του καρπού. Η ακριβής συγκέντρωση κάθε ένωσης ανθοκυάνης που ανακτήθηκε παρουσιάζεται στον Πίνακα 4-5:

Πίνακας 4-5. Ανθοκυάνες που παρελήφθησαν στο εκχύλισμα πυρήνα αρώνιας σε CyE (Cyanidin Equivalents) – ξηρή βάση.

Ένωση	Απόδοση εκχύλισης πυρήνα ($mg_{CyE}/g_{πυρήνα(dw)}$)
3-*O*-γαλακτοζίτης της κυανιδίνης	2,68 ± 0,11
3-*O*-γλυκοζίτης της κυανιδίνης	0,134 ± 0,006
3-*O*-αραβινοζίτης της κυανιδίνης	0,738 ± 0,020
3-*O*-ξυλοζίτης της κυανιδίνης	0,117 ± 0,003
Ολικές ανθοκυάνες (TAnth)	3,67 ± 0,14

Τα φαινολικά οξέα του πυρήνα ποσοτικοποιήθηκαν βάσει του εμβαδού των αντίστοιχων κορυφών και της καμπύλης αναφοράς του χλωρογενικού οξέος (E_{320}=64,465c - 137,51, όπου c η συγκέντρωση σε ppm) σε ισοδύναμα χλωρογενικού οξέος (Chlorogenic Acid Equivalents – ChAE).

Ανακτήθηκαν συνολικά 0,542 ± 0,028 $mg_{ChAE}/g_{πυρήνα}$ σε νωπή βάση, το 35 % δηλαδή του συνολικού περιεχομένου του καρπού. Οι ακριβείς συγκεντρώσεις παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 4-6. Φαινολικά οξέα που παρελήφθησαν στο εκχύλισμα πυρήνα αρώνιας σε ChAE (Chlorogenic Acid Equivalents) – ξηρή βάση.

Ένωση	Απόδοση εκχύλισης πυρήνα ($mg_{ChAE}/ g_{πυρήνα(dw)}$)
Νεοχλωρογενικό οξύ	0,646 ± 0,032
Χλωρογενικό οξύ	0,982 ± 0,051
Ολικά φαινολικά οξέα (TPA)	1,63 ± 0,08

Τέλος, ο πυρήνας μελετήθηκε ως προς το περιεχόμενό του σε φλαβονόλες, οι οποίες ποσοτικοποιήθηκαν με την καμπύλη αναφοράς της ρουτίνης (E_{360}= 29,209c - 39,596, όπου c η συγκέντρωση σε ppm) σε ισοδύναμα ρουτίνης (Quercetin Rutinoside Equivalents – QRE).

Συνολικά, ανακτήθηκαν μέσω της εκχύλισης 0,503 ± 0,032 $mg_{QRE}/g_{πυρήνα}$ σε νωπή βάση (1,512 $mg_{QRE}/g_{πυρήνα}$ σε ξηρή βάση), συγκέντρωση που αντιστοιχεί στο 47 % του συνολικού περιεχομένου του καρπού.

Συγκεντρωτικά χαρακτηριστικά

Στον Πίνακα 4-7 που ακολουθεί παρουσιάζεται το συνολικό φαινολικό φορτίο που προσδιορίσθηκε στον πυρήνα της αρώνιας μέσω της εκχύλισής του.

Πίνακας 4-7. Φαινολικό περιεχόμενο του πυρήνα χυμοποίησης.

	Απόδοση εκχύλισης πυρήνα ($mg/g_{πυρήνα}$)
Ολικά φαινολικά συστατικά[1]	4,37 ± 0,02
Αντιριζική Ικανότητα[2]	2,03 ± 0,08
Ολικές ανθοκυάνες[3]	1,22 ± 0,04
3-O-γαλακτοζίτης της κυανιδίνης	0,893 ± 0,036
3-O-γλυκοζίτης της κυανιδίνης	0,044 ± 0,002

3-Ο-αραβινοζίτης της κυανιδίνης	0,246 ± 0,007
3-Ο-ξυλοζίτης της κυανιδίνης	0,039 ± 0,001
Ολικά φαινολικά οξέα[4]	0,542 ± 0,028
Νεοχλωρογενικό οξύ	0,215 ± 0,011
Χλωρογενικό οξύ	0,327 ± 0,017
Ολικές φλαβονόλες[5]	0,503 ± 0,032

Όλες οι συγκεντρώσεις είναι εκφρασμένες σε νωπή βάση και αφορούν 1g πυρήνα. [1]Ολικό φαινολικό περιεχόμενο σε mg_{GAE}, [2]Αντιριζική ικανότητα σε mg_{TE}, [3]Ανθοκυάνες (ολικές και επιμέρους) σε mg_{CyE}, [4]Φαινολικά οξέα (ολικά και επιμέρους) σε mg_{ChAE} και [5]Φλαβονόλες σε mg_{QRE}.

Παρατηρούμε ότι όπως και στην περίπτωση του καρπού, οι ανθοκυάνες καταλαμβάνουν το μεγαλύτερο μερίδιο του φαινολικού φορτίου, με τις φλαβονόλες και τα φαινολικά οξέα να είναι αρκετά χαμηλότερα.

Υπολογισμοί αποδόσεων επί του φρέσκου καρπού

Δεδομένου ότι ο φρέσκος χυμός έχει χαρακτηριστεί ως προς τα φαινολικά συστατικά του, όπως και ο πυρήνας της χυμοποίησης (πλην των ταννινών), μπορούμε να προβούμε σε ενδιαφέρουσες διαπιστώσεις όσον αφορά τη σύγκρισή τους με τον αρχικό καρπό.

Λαμβάνοντας ως σύσταση του καρπού τις συγκεντρώσεις που υπολογίσθηκαν στην προηγούμενη ενότητα (βλ. Πίνακα 4-3 σελ 88) και δεδομένων των αποδόσεων χυμοποίησης (45,3 ± 1,9 % v/w σε χυμό και 51 ± 2 w/w σε πυρήνα) μπορούμε να εξάγουμε το κατά βάρος ποσοστό κάθε ένωσης που μεταβιβάσθηκε στο χυμό και εκχυλίσθηκε από τον πυρήνα χυμοποίησης.

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης παρουσιάζονται στον πίνακα 4-9:

Πίνακας 4-9. Ανάκτηση φαινολικών συστατικών από το προϊόν και το παραπροϊόν χυμοποίησης αρώνιας

	Συγκέντρωση στο φρέσκο καρπό	Κλάσμα που διαβιβάστηκε στο χυμό		Κλάσμα που εκχυλίσθηκε από τον πυρήνα	
		Συγκέντρωση	% ανάκτηση	Συγκέντρωση	% ανάκτηση
Ολικά φαινολικά συστατικά[1]	21,91 ± 0,63	2,82 ± 0,07	12,8	2,23 ± 0,01	10,2
Αντιριζική Ικανότητα[2]	15,62 ± 0,17	1,93 ± 0,04	12,4	1,04 ± 0,04	6,6
Ολικές ανθοκυάνες[3]	3,90 ± 0,13	0,404 ± 0,005	10,4	0,623 ± 0,023	16,0
Ολικά φαινολικά οξέα[4]	0,765 ± 0,013	0,501 ± 0,020	66,1	0,274 ± 0,014	35,1
Ολικές φλαβονόλες[5]	0,541 ± 0,007	0,121 ± 0,005	22,5	0,257 ± 0,014	47,0

Όλες οι συγκεντρώσεις είναι εκφρασμένες σε νωπή βάση και αφορούν 1g καρπού. [1]Ολικό φαινολικό περιεχόμενο σε mg_{GAE}, [2]Αντιριζική ικανότητα σε mg_{TE}, [3]Ανθοκυάνες (ολικές και επιμέρους) σε mg_{CyE}, [4]Φαινολικά οξέα (ολικά και επιμέρους) σε mg_{ChAE} και [5]Φλαβονόλες σε mg_{QRE}.

Παρατηρούμε ότι η μοναδική ομάδα φαινολών για την οποία η ανάκτηση αποδείχθηκε πλήρης ήταν τα φαινολικά οξέα. Οι ανθοκυάνες παρουσίασαν ένα σοβαρότατο έλλειμμα (περίπου 74 %) και οι φλαβονόλες ένα μικρότερο (περίπου 30 %). Ως απόρροια των παραπάνω και γνωρίζοντας ότι οι ανθοκυάνες είναι οι φαινόλες με την υψηλότερη συγκέντρωση στην αρώνια, προκύπτουν αντίστοιχα ελλείμματα στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) και την αντιριζική ικανότητα (TAC). Για να μπορέσουν όμως να αξιολογηθούν περαιτέρω τα συγκεκριμένα ευρήματα, απαιτείται μια μικρή αναδρομή στην πειραματική διαδικασία. Ο χυμός της αρώνιας ήταν το εργαστηριακό παρασκεύασμα με τη μικρότερη κατεργασία, καθώς για την παραγωγή του απαιτήθηκε μόνο πολτοποίηση και φυγοκέντρηση. Ως εκ τούτου, και δεδομένου ότι η σύστασή του συμφωνεί με τις βιβλιογραφικές αναφορές, οι συγκεντρώσεις που προσδιορίσθηκαν κρίνονται αξιόπιστες. Από την άλλη, η ανάκτηση πολυφαινολών από τον πυρήνα χυμοποίησης υστερεί σε σχέση με τις βιβλιογραφικές αναφορές (βλ Πίνακα 2-4 σελίδα 32). Το υλικό αυτό, υποβλήθηκε σε ξήρανση με θερμό αέρα 40°C, αποθήκευση υπό κατάψυξη και εκχύλιση. Το παρατηρούμενο έλλειμμα συνεπώς μπορεί να οφείλεται:

α) στην ξήρανση του πυρήνα: Οι ανθοκυάνες είναι οι ουσίες με τη μικρότερη σχετική ανάκτηση. Γνωρίζοντας ότι χαρακτηρίζονται από ιδιαίτερη θερμοευαισθησία, εγείρονται προβληματισμοί γύρω από την επίδραση της ξήρανσης (ακόμη και ήπιας) στην οποία υποβλήθηκε το υλικό.

β) στο μέσο εκχύλισης: Το νερό έχει βρεθεί ότι αποτελεί ένα καλό μέσο παραλαβής ανθοκυανών (Azmir et al., 2013). Ενδέχεται ωστόσο να ήταν ακατάλληλο για την εκχύλιση του συγκεκριμένου υλικού. Πιθανόν να διέθετε σημαντικά χαμηλότερη ικανότητα διείσδυσης στους ιστούς των φλοιών (στους οποίους εντοπίζονται κατά βάση οι ανθοκυάνες) σε σχέση με τη μεθανόλη που χρησιμοποιήθηκε για το χαρακτηρισμό των κλασμάτων και τον προσδιορισμό των ολικών συγκεντρώσεων.

Η παρούσα μελέτη δεν προχώρησε σε εκτενή διερεύνηση του αίτιου ανεπαρκούς ανάκτησης, ωστόσο για συγκριτικούς σκοπούς πραγματοποιήθηκε μια συμπληρωματική εκχύλιση πυρήνα υπό διαφορετικές συνθήκες. Πιο συγκεκριμένα, ποσότητα νωπού πυρήνα πολτοποιήθηκε και εκχυλίσθηκε με τον ίδιο διαλύτη (νερό 0,75 % CA) σε μανητικό αναδευτήρα (πλήρης ανάμειξη, αναλογία 1:20 w/v σε νωπή βάση) για 70 min. Το εκχύλισμα που συλλέχθηκε υποβλήθηκε σε ανάλυση Folin - Ciocalteu και HPLC για τον προσδιορισμό των ολικών και επιμέρους πολυφαινολών. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων εκφράστηκαν ανά g ξηρού πυρήνα και τέθηκαν σε σύγκριση με τα προηγούμενα ευρήματα.

Πίνακας 4-10. Σύγκριση εναλλακτικών τεχνικών εκχύλισης για την ανάκτηση φαινολικών ενώσεων από τον πυρήνα αρώνιας.

	Απόδοση εκχύλισης Σταθερή κλίνη - ξηρή σκόνη πυρήνα ($mg/g_{πυρήνα}$)	Απόδοση εκχύλισης Πλήρης ανάμιξη - πολτός νωπού πυρήνα ($mg/g_{πυρήνα}$)
Ολικά φαινολικά συστατικά[1]	13,14 ± 0,08	19,15 ± 0,90
Ολικές ανθοκυάνες[2]	3,67 ± 0,14	7,81
Ολικές φλαβονόλες[3]	1,51 ± 0,09	1,72

Όλες οι συγκεντρώσεις είναι εκφρασμένες σε ξηρή βάση. [1]Ολικό φαινολικό περιεχόμενο σε mg_{GAE}, [2]Ανθοκυάνες σε mg_{CyE} και [3]Φλαβονόλες σε mg_{QRE}.

Βάσει των αποδόσεων που παρατίθενται στον Πίνακα 4-10, διαπιστώνεται ότι ο νωπός πυρήνας ήταν πλουσιότερος σε φαινολικά συστατικά από τον ξηρό, οπότε η υπόθεση που έγινε ότι η ξήρανση προκάλεσε υποβάθμιση μέρους των πολυφαινολών ήταν ορθή. Πιο συγκεκριμένα, η απόδοση σε πολυφαινόλες της εκχύλισης νωπού πυρήνα ήταν κατά 46 % υψηλότερη από αυτήν του ξηρού. Η

απόδοση στην περίπτωση των φλαβονολών ήταν μεγαλύτερη κατά 14 % και η αντίστοιχη αύξηση για τις ανθοκυάνες ήταν 113 %. Εύκολα λοιπόν συμπεραίνεται ότι η ξήρανση υποβάθμισε δραστικά τις ανθοκυάνες και σε μικρότερη έκταση τις φλαβονόλες.

Επιπρόσθετα, αν συνυπολογισθεί ότι:

α) σε αντίθεση με την εκχύλιση πλήρους ανάμειξης, από τη σταθερή κλίνη διερχόταν συνεχώς φρέσκος διαλύτης και

β) το υλικό στην κλίνη είχε τη μορφή σκόνης, οπότε η επιφάνεια επαφής με το διαλύτη ήταν πολύ μεγαλύτερη σε σύγκριση με τον πολτό,

είναι εμφανές ότι η εκχύλιση με σταθερή κλίνη ήταν αποδοτικότερη ως διεργασία από την εκχύλιση με πλήρη ανάμειξη. Αυτό σημαίνει ότι η υποβάθμιση των πολυφαινολών λόγω ξήρανσης είναι ακόμα μεγαλύτερη από αυτή που φαίνεται βάσει των παραπάνω στοιχείων. Ο λόγος που δεν εκτελέσθηκε η επανάληψη του πειράματος σε σταθερή κλίνη (ώστε να είναι άμεση συγκρίσιμα τα αποτελέσματα), είναι το γεγονός ότι η εν λόγω τεχνική προϋποθέτει ξήρανση και κονιοποίηση του υλικού. Ο εκχυλιστήρας είναι αδύνατο να πληρωθεί με υλικά σε μορφή πολτού, για αυτό και ήταν αναπόφευκτη η επιλογή διαφορετικής τεχνικής για την εκχύλιση του νωπού υλικού.

Θα πρέπει ωστόσο να επισημανθεί ότι ένα μεγάλο μέρος του ελλείμματος πολυφαινολών εξακολουθεί να υφίσταται, μη μπορώντας να αποδοθεί στην ξήρανση. Ειδικότερα, οι ανθοκυάνες που εκχυλίσθηκαν από το νωπό πυρήνα αντιστοιχούν στο 38 % του περιεχομένου του καρπού και αυτό σημαινει ότι περίπου το 50 % της συνολικής τους μάζας παρέμεινε στον πυρήνα και δεν ανακτήθηκε. Όπως φάνηκε στα πειράματα του πρώτου μέρους μία ή δύο πρόσθετες διαδοχικές εκχυλίσεις θα μπορούσαν να ανακτήσουν ένα επιπλέον ποσοστό. Η παρούσα μελέτη θα περιορισθεί στα μέχρι τώρα ευρήματα και δεν θα εμβαθύνει περαιτέρω, κρίνεται όμως απαραίτητη η βελτιστοποίηση της εκχύλισης με διαλύτη νερό, ή άλλο μέσο που θα μπορούσε να προταθεί για διεργασία μεγάλης κλίμακας.

4.4. Ενθυλάκωση φαινολικών συστατικών πυρήνα σε κόνεις

Εκχύλισμα του πυρήνα της αρώνιας υποβλήθηκε σε ξήρανση με ψεκασμό και ενθυλάκωση των συστατικών του σε 2 φορείς: μαλτοδεξτρίνη (MD) και μίγμα μαλτοδεξτρίνης - αραβικού κόμμεος 4:1 (MD - GA). Για την αξιολόγηση της διεργασίας, προσδιορίσθηκαν οι υγρασίες των παραγόμενων κόνεων αλλά και οι συγκεντρώσεις πολυφαινολών και ανθοκυανών πριν την ξήρανση (στο εκχύλισμα) και μετά (στην σκόνη).

Η σκόνη με φορέα MD διέθετε υγρασία 2,45 % ενώ η σκόνη με φορέα MD - GA 2,19 %. Οι τιμές αυτές κρίνονται ικανοποιητικές, καθώς είναι χαμηλότερες του 6 % που θεωρείται το ανώτατο όριο διασφάλισης μικροβιακής σταθερότητας των τροφίμων (Da Silva et al., 2013).

Το αρχικό εκχύλισμα διέθετε συγκέντρωση σε στερεά 0,029 g/mL μέρος των οποίων ήταν στερεό κιτρικό οξύ που προήλθε από το διαλύτη (μέσο οξίνισης). Η συγκέντρωσή του σε στερεά εκχύλισμένα συστατικά ήταν 0,022 g/mL. Οι πολυφαινόλες του προσδιορίστηκαν με την ανάλυση Folin – Ciocalteu 915 ± 6 mg_{GAE}/mL και οι ανθοκυάνες 219 mg_{CyE}/mL.

Θεωρώντας ότι όλα τα στερεά του εκχυλίσματος και των φορέων διαβιβάστηκαν στην παραγόμενη σκόνη, εξήχθησαν οι μέγιστες συγκεντρώσεις πολυφαινολών και ανθοκυανών που θα μπορούσαν να ανακτηθούν: 1,86 $mg_{GAE}/g_{σκόνης}$ και 0,446 $mg_{CyE}/g_{σκόνης}$ (σε νωπή βάση). Οι τιμές αυτές αντιστοιχούν σε 100 % απόδοση διεργασίας και θα χρησιμοποιηθούν παρακάτω για την εξαγωγή της απόδοσης και της αποτελεσματικότητας του μικροεγκλεισμού.

Απόδοση μικροεγκλεισμού

Για την εξαγωγή της απόδοσης, η σκόνη διαλύθηκε πλήρως σε νερό και προσδιορίσθηκαν. οι πολυφαινόλες και οι ανθοκυάνες στο διάλυμα. Η απόδοση υπολογίσθηκε ως η συγκέντρωση του συστατικού στην ξηρή σκόνη που παραλήφθηκε (mg/g) ως προς τη συγκέντρωση του συστατικού στην ξηρή σκόνη της τροφοδοσίας (mg/g) σύμφωνα με τη σχέση 3.1. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 4-11:

Πίνακας 4-11. Απόδοση μικροεγκλεισμού μέσω ξήρανσης με ψεκασμό σε φαινολικά συστατικά και ανθοκυάνες.

Εγκλειστικό μέσο	% Απόδοση σε εγκλεισμό πολυφαινολών	% Απόδοση σε εγκλεισμό ανθοκυανών
MD	92,2 ± 2,6	91,4
MD - GA	96,6 ± 2,4	88,5

Αποτελεσματικότητα μικροεγκλεισμού

Η αποτελεσματικότητα του μικροεγκλεισμού είναι ένας δείκτης της ικανότητας σχηματισμού μικροκάψουλων με εγκλεισμένα τα επιθυμητά συστατικά στο εσωτερικό και όχι στην επιφάνειά τους. Με σκοπό τον προσδιορισμό της, ποσότητα σκόνης εκπλύθηκε με ογκομετρημένο οργανικό διαλύτη (αιθανόλη). Οι φορείς είναι αδιάλυτοι στην αιθανόλη, σε αντίθεση με τις πολυφαινόλες, οπότε τα συστατικά που συγκρατούνταν στην επιφάνεια των μικροκάψουλων διαλύθηκαν στον όγκο του διαλύτη. Οι πολυφαινόλες και οι ανθοκυάνες προσδιορίσθηκαν στο οργανικό διάλυμα που παρασκευάσθηκε και οι συγκεντρώσεις τους εκφράστηκαν ως προς τη μάζα της σκόνης . Η

αποτελεσματικότητα υπολογίζεται ως η διαφορά της ολικής μείον την επιφανειακή συγκέντρωση συστατικού στη σκόνη (mg/g) προς την ολική συγκέντρωση συστατικού στη σκόνη (mg) σύμφωνα με τη σχέση 3.2. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 4-12:

Πίνακας 4-12 . Αποτελεσματικότητα μικροεγκλεισμού μέσω ξήρανσης με ψεκασμό σε φαινολικά συστατικά και ανθοκυάνες.

Εγκλειστικό μέσο	% Αποτελεσματικότητα σε εγκλεισμό πολυφαινολών	% Αποτελεσματικότητα σε εγκλεισμό ανθοκυανών
MD	99,2	99,2
MD - GA	100	99,2

Από τα παραπάνω ευρήματα φαίνεται ότι η ενθυλάκωση πολυφαινολών μέσω ξήρανσης με ψεκασμό (με θερμοκρασία εισόδου 140°C, παροχή 4 mL/min, core:wall 0,062 και 30 % ολικά στερεά) απέδωσε εξαιρετικά και για τις δύο περιπτώσεις φορέων.

Κρίνοντας τις λεπτομέρειες, αναφέρεται ότι οι δύο φορείς παρείχαν εξίσου υψηλή αποτελεσματικότητα μικροεγκλεισμού σε πολυφαινόλες αλλά και σε ανθοκυάνες ειδικότερα. Αναφορικά με τις αποδόσεις, ο φορέας MD-GA παρείχε υψηλότερη απόδοση σε ολικά φαινολικά συστατικά από τη μαλτοδεξτρίνη, επιβεβαιώνοντας τα συμπεράσματα των Tolun et al. (2016). Η ενθυλάκωση ωστόσο των ανθοκυανών, παρουσίασε υψηλότερη απόδοση στη μαλτοδεξτρίνη. Αυτό είναι κάτι που θα πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπόψιν καθώς το τελικό προϊόν αφορά χρωστική σκόνη άρα οι ανθοκυάνες είναι οι ενώσεις με τη μεγαλύτερη βαρύτητα. Συνυπολογίζοντας τα επιπλέον πλεονεκτήματα της μαλτοδεξτρίνης έναντι του αραβικού κόμμεος (χαμηλότερη τιμή, καλύτερη επαναληψιμότητα, διαθεσιμότητα), καταλήγουμε στη θεώρηση ότι για την παραγωγή χρωστικής σκόνης από εκχύλισμα πυρήνα αρώνιας, ο καλύτερος φορέας μεταξύ των δύο είναι η μαλτοδεξτρίνη 17-20 DE.

Για να εξαχθεί όμως ασφαλές συνολικό συμπέρασμα θα πρέπει τα δεδομένα μελλοντικά να εμπλουτιστούν. Πιο συγκεκριμένα, κρίνεται απαραίτητη η επανάληψη των πειραμάτων για μεγαλύτερες αναλογίες core:wall (η μελετούμενη ήταν αρκετά χαμηλή), η μελέτη της διατηρησιμότητας των προϊόντων και φυσικά η σύγκριση των εφαρμογών τους στα διάφορα τρόφιμα.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Η αρώνια είναι ένας καρπός με περιορισμένη δημοτικότητα στο καταναλωτικό κοινό λόγω της γεύσης της, που δεν είναι ευρέως αποδεκτή (όξινη γεύση με έντονη στυπτικότητα). Παρόλα αυτά, έχει αποδειχθεί ότι η ένταξή της στην διατροφή συνοδεύεται από ένα πλήθος ωφελειών για την υγεία, καθώς πέρα από τις βιταμίνες και τα ιχνοστοιχεία που περιέχει, είναι μια πηγή πολύ πλούσια σε φαινολικά συστατικά. Για το λόγο αυτό, συχνά διατίθεται υπό μορφή αποξηραμένου καρπού ή σε συνθέσεις ανάμεικτων φυσικών χυμών. Στη βιομηχανία, παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον η χρήση της ως πρώτη ύλη στην παρασκευή συμπληρωμάτων διατροφής, φυσικών χρωστικών και φυσικών συντηρητικών τροφίμων.

Η παρούσα μελέτη αρχικά επεδίωξε την εξαγωγή επιπλέον πληροφοριών γύρω από τον καρπό και τη σύνθεσή του, μέσω διαχωρισμού του σε φλοιό και σάρκα-κουκούτσια και ανάλυση των επιμέρους κλασμάτων. Από τις αναλύσεις διαπιστώθηκε ότι η συντριπτική πλειοψηφία των ανθοκυανών (φυσικές φαινολικές χρωστικές που είναι και τα πολυτιμότερα συστατικά της αρώνιας) βρίσκονται στο φλοιό του καρπού. Ενδεικτικά, αναφέρεται ότι η συμμετοχή του φλοιού σε ανθοκυάνες είναι 73 % στη νωπή σύσταση του καρπού, παρά το γεγονός ότι ο φλοιός αποτελεί μόνο το 14 % αυτής (63,19 ± 2,76 $mg_{CyE}/g_{\text{φλοιού}}$ σε ξηρή βάση). Το εύρημα αυτό κρίνεται αναμενόμενο, καθώς είναι γνωστό ότι στους περισσότερους καρπούς οι ανθοκυάνες εντοπίζονται κυρίως στο φλοιό (πχ το κόκκινο σταφύλι διαθέτει φλοιό πλούσιο σε ανθοκυάνες που του προσδίδουν το χρώμα του, όμως η σάρκα δεν τις περιέχει για αυτό και είναι άχρωμη). Αξίζει ωστόσο να σχολιασθεί ότι στην περίπτωση της αρώνιας και η σάρκα φέρει ορισμένη ποσότητα ανθοκυανών (5,44 ± 0,19 $mg_{CyE}/g_{\text{σάρκας}}$ σε ξηρή βάση), συνεισφέροντας στο τελικό περιεχόμενο του καρπού. Θα πρέπει εδώ να επισημανθεί ότι οι πραγματικές συγκεντρώσεις ανθοκυανών είναι σημαντικά υψηλότερες από αυτές που προσδιορίσθηκαν στην παρούσα μελέτη. Αυτό συμβαίνει διότι στον καρπό της αρώνιας οι εν λόγω ενώσεις απαντώνται σε γλυκοζυλιωμένη μορφή με μοριακό βάρος 419,4 – 484,8 g/mol, όμως για την ποσοτικοποίησή τους χρησιμοποιήθηκε καμπύλη αναφοράς αγλυκόνης ανθοκυάνης (κυανιδίνη, μοριακό βάρος 287,24 g/mol).

Προχωρώντας στα φαινολικά οξέα, προσδιορίστηκαν κοντινές συγκεντρώσεις στα δύο κλάσματα (3,70 ± 0,24 $mg_{ChAE}/g_{\text{φλοιού}}$ και 3,121 ± 0,035 $mg_{ChAE}/g_{\text{σάρκας}}$ σε ξηρή βάση) ενώ σχετικά με τις φλαβονόλες, βρέθηκε ότι ο φλοιός είναι περίπου 4 φορές πλουσιότερος σε αυτές από τη σάρκα σε ξηρή βάση (5,47 ± 0,13 $mg_{QRE}/g_{\text{φλοιού}}$ και 1,53 ± 0,02 $mg_{QRE}/g_{\text{σάρκας}}$). Οι αποκλίσεις των συγκεντρώσεων σε αυτές τις περιπτώσεις είναι πολύ πιο περιορισμένες από ότι για τις ανθοκυάνες καθώς οι καμπύλες αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν ήταν καταλληλότερες.

Σε μελλοντικό χρόνο, για τον εμπλουτισμό των ευρημάτων θα ήταν σκόπιμα:

α) Ο διαχωρισμός της σάρκας από τα κουκούτσια και η επιμέρους ανάλυσή τους. Στην παρούσα μελέτη δεν ολοκληρώθηκε ο πλήρης διαχωρισμός των δύο αυτών μερών για αυτό και αναλύθηκαν ως ένα κλάσμα.

β) Ο προσδιορισμός των ταννινών στα κλασματα του καρπού. Η αρώνια είναι γνωστό ότι διαθέτει υψηλό φορτίο σε συμπυκνωμένες ταννίνες (προανθοκυανιδίνες). Στην παρούσα μελέτη ωστόσο δεν προσδιορίσθηκαν, καθώς δεν επετεύχθη η εύρεση/ανάπτυξη κατάλληλου πρωτοκόλλου για τις

δεδομένες εργαστηριακές συνθήκες. Οι αναλύσεις HPLC που πραγματοποιήθηκαν δεν εμφάνιζαν σαφείς κορυφές λόγω συνεκλούσεων και η ανάλυση με πρωτεΐνη BSA (που εφαρμόσθηκε στην περίπτωση του χυμού) ήταν αδύνατη λόγω της ύπαρξης μεθανόλης στα εκχυλίσματα.

γ) Η χάραξη νέων καμπυλών αναφοράς με πρότυπες ενώσεις των γλυκοζυλιωμένων ανθοκυανών που απαντώνται στην αρώνια και ο επαναπροσδιορισμός των αντίστοιχων συγκεντρώσεων στα κλάσματα του καρπού.

δ) Η ταυτοποίηση των φλαβονολών που εντοπίσθηκαν στα κλάσματα της αρώνιας και ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεών τους με διαφορετική καμπύλη αναφοράς για την κάθε ένωση (στην παρούσα μελέτη για την ποσοτικοποίηση όλων των φλαβονολών χρησιμοποιήθηκε αποκλειστικά η καμπύλη αναφοράς της ρουτίνης).

Το αποξηραμένο προϊόν που επίσης εκχυλίσθηκε, επέδειξε σημαντική υστέρηση σε φαινολικά συστατικά έναντι του φρέσκου. Η περιεκτικότητα σε φλαβονόλες αποδείχθηκε κατά 3 περίπου φορές χαμηλότερη ενώ η περιεκτικότητα σε φαινολικά οξέα ήταν 2,5 περίπου φορές χαμηλότερη. Κρίνεται λοιπόν αναγκαία η ενσωμάτωση μεθόδων ξήρανσης στη βιομηχανία με ασθενέστερες επιπτώσεις στη θρεπτική αξία των τροφίμων. Ειδική αναφορά αξίζει να γίνει στις ανθοκυάνες, οι οποίες απουσίαζαν σχεδόν καθολικά από το αποξηραμένο προϊόν. Ένα μέρος τους είναι βέβαιο ότι είχε υποβαθμιστεί, όμως εικάζεται ότι αρκετές είχαν σταδιακά συνενωθεί προς σχηματισμό πολυμερών δομών (ταννίνες). Η υπόθεση αυτή θα πρέπει επίσης να διερευνηθεί.

Συνεχίζοντας με το δεύτερο μέρος της πειραματικής διαδικασίας, στο εργαστήριο πραγματοποιήθηκε προσομοίωση της χυμοποίησης του καρπού και ανάλυση των προϊόντων της (χυμός και πυρήνας). Η ανάλυση του χυμού παρουσίασε ενδιαφέρον όταν τα αποτελέσματά της συγκρίθηκαν με τα αντίστοιχα φυσικού χυμού του εμπορίου. Παρατηρήθηκε ότι οι φλαβονόλες είχαν υποβαθμιστεί περίπου κατά 5 φορές στον φυσικό χυμό του εμπορίου και τα φαινολικά οξέα κατά το ήμισυ. Οι ανθοκυάνες βρέθηκαν στον εμπορικό χυμό σε συγκέντρωση κατά 24 φορές χαμηλότερη από ότι στο εργαστηριακό σκεύασμα. Οι διαφορές αυτές θα μπορούσαν κατά ένα μέρος να αποδοθούν στην αποθήκευση, για αυτό κρίνεται απαραίτητη η βελτιστοποίηση των συνθηκών διατήρησης. Θα πρέπει επίσης να μελετηθούν οι θερμικές διεργασίες οι οποίες συχνά λαμβάνουν χώρα κατά τη χυμοποίηση (θέρμανση για αύξηση της απόδοσης, παστερίωση) και να διασαφηνιστεί η επίδρασή τους στη θρεπτική αξία του τελικού προϊόντος.

Ο πυρήνας είναι ένας πολτός που παράγεται ως παραπροϊόν της χυμοποίησης και συνήθως απορρίπτεται. Η αλήθεια είναι όμως ότι αποτελεί μια πηγή πολύ πλούσια σε πολυφαινόλες και ιδιαίτερα ανθοκυάνες, καθώς ένα μικρό μέρος τους μόνο διαβιβάζεται στο χυμό. Στα πλαίσια της ανάπτυξης διεργασιών για την ολιστική αξιοποίηση των φυσικών πρώτων υλών, θα πρέπει να διατυπωθούν ερευνητικές προτάσεις σχετικά με την αποδοτική εκμετάλλευση αυτού του υλικού. Στην παρούσα μελέτη επιχειρήθηκε η παραγωγή φυσικής χρωστικής σκόνης από τον πυρήνα, μέσω εκχύλισής του με οξινισμένο νερό και ενθυλάκωσης των στερεών του εκχυλίσματος σε φορείς μέσω ξήρανσης με ψεκασμό.

Όσον αφορά την εκχύλιση, η απόδοση ανάκτησης πολυφαινολών και ιδιαίτερα ανθοκυανών που σημειώθηκε κρίθηκε μη ικανοποιητική. Πιο συγκεκριμένα, παρελήφθησαν 4,37 ± 0,02 $mg_{GAE}/g_{πυρήνα}$ πολυφαινόλες και 1,22 ± 0,04 $mg_{CyE}/g_{πυρήνα}$ ανθοκυάνες (σε νωπή βάση), συγκεντρώσεις που αναλογούν περίπου στο 10 % και 16 % του περιεχομένου του καρπού αντίστοιχα. Ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε

νερό οξινισμένο με κιτρικό οξύ (προσθήκη μέσου οξίνισης για την ενίσχυση της σταθερότητας των ανθοκυανών). Το νερό επιλέχθηκε ως ο καταλληλότερος διαλύτης για μεταφορά της διεργασίας σε μεγάλη κλίμακα (φιλικό προς το περιβάλλον, διαθέσιμο και οικονομικό) και το κιτρικό οξύ ως ένα άχρωμο, άοσμο και ασφαλές μέσο οξίνισης με ευρεία χρήση. Αποδείχθηκε ότι η ανάκτηση πολυφαινολών μέσω εκχύλισης αποτελείται από δύο στάδια τα οποία υπακούν σε διαφορετικές κινητικές. Στους πρώτους χρόνους η διαφορική ανάκτηση αυξάνει γραμμικά σε σχέση με το χρόνο, καθώς ο διαλύτης διεισδύει ολοένα και βαθύτερα στους φυτικούς ιστούς. Μόλις το υλικό διαβραχεί πλήρως, η διαφορική ανάκτηση εμφανίζει ένα μέγιστο και εν συνεχεία μειώνεται υπακούοντας σε εξίσωση καμπύλης με αρνητική κλίση και τα κοίλα προς τα άνω.

Σε μελλοντικό χρόνο, για τον εμπλουτισμό των ευρημάτων θα ήταν σκόπιμα:

α) Η ανάπτυξη κατάλληλου πρωτοκόλλου συντήρησης του πυρήνα από τη στιγμή παραγωγής έως την εκχύλισή του. Η ξήρανση με θερμό αέρα (έστω και ήπια) αποδείχθηκε ότι υποβαθμίζει σημαντικά την ποιότητα της πρώτης ύλης και ιδιαίτερα των ανθοκυανών που περιέχει, ωστόσο οι βελτιστοποιημένες τεχνικές (πχ ξήρανση με κατάψυξη) γενικώς δεν προτιμώνται στην βιομηχανία γιατί είναι κοστοβόρες. Θα πρέπει λοιπόν να αναπτυχθεί μία μέθοδος συντήρησης που θα παρέχει τη μέγιστη διατήρηση των φαινολικών συστατικών, αλλά θα είναι και επιχειρηματικά βιώσιμη.

β) Η εύρεση αποδοτικότερου διαλύτη εκχύλισης από το νερό, που όμως να ενδείκνυται για τη μεταφορά της διεργασίας σε μεγάλη κλίμακα. Προτείνεται η δοκιμή μίγματος αιθανόλης-νερού.

Η τελευταία φάση των πειραμάτων περιελάμβανε την παραγωγή σκόνης από το εκχύλισμα του πυρήνα με εγκλεισμένα τα φαινολικά συστατικά του. Η κονιοποίηση επετεύχθη μέσω υποβολής μίγματος εκχυλίσματος - φορέα ενθυλάκωσης σε ξήρανση με ψεκασμό. Οι φορείς ενθυλάκωσης είναι απαραίτητοι, καθώς παρέχουν προστασία στα ευαίσθητα φαινολικά συστατικά. Εγκλείοντάς τα στο εσωτερικό μικροκάψουλων, εμποδίζουν την αλληλεπίδρασή τους με το περιβάλλον. Έτσι είναι δυνατό να παραχθούν σκόνες αυξημένης σταθερότητας στις οποίες ευνοείται η διατήρηση του φαινολικού φορτίου σε υψηλές συγκεντρώσεις. Για την παρούσα μελέτη επιλέχθηκαν ως φορείς εγκλεισμού μαλτοδεξτρίνη (πολυμερές της γλυκόζης) και μίγμα μαλτοδεξτρίνης-αραβικού κόμμεος (φυσικό κόμμι – πολύπλοκο μίγμα πολυσακχαριτών και γλυκοπρωτεϊνών). Και οι δύο φορείς αποδείχθηκαν το ίδιο αποδοτικοί και αποτελεσματικοί ως εγκλειστικά μέσα πολυφαινολών, όμως η μαλτοδεξτρίνη παρουσίασε ελαφρώς υψηλότερη απόδοση στον εγκλεισμό των ανθοκυανών. Δεδομένου ότι η σκόνη προορίζεται για χρώση οπότε οι ανθοκυάνες είναι οι βασικές ενώσεις στόχευσης και επιπλέον, γνωρίζοντας ότι η μαλτοδεξτρίνη διαθέτει χαμηλότερη τιμή και υψηλότερη διαθεσιμότητα από το αραβικό κόμμι, συμπεραίνουμε ότι η προσθήκη αραβικού κόμμεος ήταν μάλλον περιττή. Για την ολοκλήρωση όμως της μελέτης, θα πρέπει σε μελλοντικό χρόνο οι κόνεις να υποβληθούν σε ανάλυση διατηρησιμότητας και να καταγραφούν τυχόν διαφορές στο ρυθμό υποβάθμισης των συστατικών τους. Επιπλέον, θα πρέπει να διερευνηθεί η παρασκευή κόνεων με μεγαλύτερες περιεκτικότητες σε συστατικά πυρήνα, που να παρέχουν αποδοτικότερη χρώση. Για την παρούσα έρευνα η αναλογία core:wall ήταν αρκετά χαμηλή (6,2 %) και επιπρόσθετα, μέρος του ποσοστού αυτού (1,6 %) οφειλόταν στο κιτρικό οξύ του διαλύτη της εκχύλισης. Συνοψίζοντας λοιπόν, για τη μεταφορά της διεργασίας σε μεγάλη κλίμακα, κρίνεται απαραίτητη η παραγωγή πυκνότερων σε φαινολικά συστατικά κόνεων (core: wall > 10 %), η μελέτη της διατηρησιμότητάς τους σε συνθήκες αποθήκευσης και φυσικά η δοκιμή εφαρμογής τους στα διάφορα τρόφιμα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ashurst, P. (2016). *The Stability and Shelf Life of Fruit Juices and Soft Drinks.* The Stability and Shelf Life of Food, 347–374.
2. Aysu, T., Zeynep, A., Nevzat, A. (2016). *Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization.* Journal of Biotechnology, Volume 239, Pages 23-33,
3. Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Omar, A. K. M. (2013). *Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review.* Journal of Food Engineering, 117(4), 426–436.
4. Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. (2006). *Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses.* Food Chemistry, 99, 191–203.
5. Baxter N., Khan L., Moir A., Haslam E., Davies A., Williamson M. (2002) *Polyphenol/Peptide Binding and Precipitation.* Journal of Agricultural and Food Chemistry 50 (6), 1593-1601
6. Bednarska, M.A., Janiszewska-Turak, E. (2020). *The influence of spray drying parameters and carrier material on the physico-chemical properties and quality of chokeberry juice powder*. J Food Sci Technol 57, 564–577.
7. Benvenuti S., Pellati F., Melegari M., Bertelli D. (2004). *Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of Rubus, Ribes, and Aronia.* J. Food Sci. 69:164–169.
8. Bicudo, M. O. P., Jó, J., Oliveira, G. A. de, Chaimsohn, F. P., Sierakowski, M. R., Freitas, R. A. de, & Ribani, R. H. (2014). *Microencapsulation of Juçara (Euterpe edulisM.) Pulp by Spray Drying Using Different Carriers and Drying Temperatures*. Drying Technology, 33(2), 153–161.
9. Boeing, J. S., Barizão, É. O., e Silva, B. C., Montanher, P. F., de Cinque Almeida, V., & Visentainer, J. V. (2014). *Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities from the berries: application of principal component analysis*. Chemistry Central Journal, 8(1).
10. Borycka, B., Stachowiak, J. *Relations between cadmium and magnesium and aronia fractional dietary fibre*. Food Chem. 2008, 107, 44–48.
11. Bräunlich M., Slimestad R., Wangensteen H., Brede C., Malterud KE., Barsett H. (2013). *Extracts, anthocyanins and procyanidins from Aronia melanocarpa as radical scavengers and enzyme inhibitors*. Nutrients. 5(3):663-78.
12. Bursac Kovacevic, D., Gajdoš Kljusuric, J., Putnik, P., Vukušic, T., Herceg, Z., Dragovic-Uzelac, V. (2016). *Stability of polyphenols in chokeberry juice treated with gas phase plasma*. Food Chem, 212, 323–331.
13. Cervenka, L. (2011). *Moisture adsorption characteristics of black currant (Ribes nigrum L.), black elderberry ˇ (Sambucus nigra L.) and chokeberry (Aronia melanocarpa, [minchx.] Ell.) samples at different temperatures.* J. Food Process. Eng., 34, 1419–1434
14. Chandrasekara, A. (2018). *Phenolic Acids*. Reference Module in Food Science.
15. Cocero, M.J., Martın, A., Mattea, F., Varona, S. (2009). *Encapsulation and co-precipitation processes with supercritical fluids: Fundamentals and applications*. The Journal of Supercritical Fluids, 47, 546–555.

16. Cravottoa, G., Boffaa, L., Mantegnaa, S., Peregob, P., Avogadrob, M., Cintasc, P. (2008). *Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves.* Ultrasonics Sonochemistry 15 (5), 898–902.
17. Ciriminna, R., Meneguzzo, F., Delisi, R. et al. (2017). *Citric acid: emerging applications of key biotechnology industrial product*. Chemistry Central Journal 11, 22.
18. Da Silva, F. C., da Fonseca, C. R., de Alencar, S. M., Thomazini, M., Balieiro, J. C. de C., Pittia, P., & Favaro-Trindade, C. S. (2013). *Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried propolis, a natural food additive, using gum Arabic and OSA starch-based carrier systems*. Food and Bioproducts Processing, 91(1), 28–36.
19. Daskalova, E., Delchev, S., Peeva, Y., Vladimirova-Kitova, L., Kratchanova, M., Kratchanov, C., Denev, P. (2015). *Antiatherogenic and cardioprotective effects of black chokeberry (Aronia melanocarpa) juice in aging rats*. Evid. Based Complement. Altern. Med., 717439.
20. Desai, K. G. H., & Jin Park, H. (2005). *Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients.* Drying Technology, 23(7), 1361–1394.
21. Djuric, M., Brkovic, D., Miloševic, D., Pavlovic, M., Curcic, S. (2015). *Chemical characterisation of the fruit of black chokeberry grown on different types of soil*. Rev. De Chim. 66, 178–181
22. Dobre, T. & M., Stroescu & Stoica, Anicuta & Draghici, E & Antohe, N. (2008*). Inulin Extraction and Encapsulation.* Chemical Bulletin of POLITEHNICA University of Timisoara. 53.
23. Dudonné S., Dubé P., Anhê F.F., Pilon G., Marette A., Lemire M., Harris C., Dewailly E., Desjardins Y. (2015) *Comprehensive analysis of phenolic compounds and abscisic acid profiles of twelve native canadian berries*. J. Food Compos. Anal., 44, 214–224.
24. Ekici, L., Simsek, Z., Ozturk, I. et al. (2014). *Effects of Temperature, Time, and pH on the Stability of Anthocyanin Extracts: Prediction of Total Anthocyanin Content Using Nonlinear Models*. Food Anal. Methods 7, 1328–1336
25. Eldon Everhart (2009): *Aronia – A new crop for Iowa*. Iowa State University website
26. Ge, X., Wan, Z., Song, N., Fan, A., Wu, R. (2009). *Efficient methods for the extraction and microencapsulation of red pigments from a hybrid rose*. Journal of Food Engineering, 94, 122–128.
27. Gibbs, F., Kermasha, S., Alli, I., Mulligan, C.N. (1999). *Encapsulation in the food industry: A review*. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 50, 213–224
28. Hagerman A. and Butler L. (1980) *Determination of protein in tannin-protein precipitates*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 28 (5), 944-947
29. Handeland, M., Grude, N., Torp, T., Slimestad, R. (2014). *Black chokeberry juice (Aronia melanocarpa) reduces incidences of urinary tract infection among nursing home residents in the long term- a pilot study*. Nutr. Res., 34, 518–525.
30. Harguindeguy, M., & Fissore, D. (2019). *On the effects of freeze-drying processes on the nutritional properties of foodstuff: A review*. Drying Technology, 1–23.
31. Houghton, J. D. & Hendry, G. A. F. (2012). *Natural food colorants*. Springer Science & Business Media.
32. Jafari, S.M., Assadpoor, E., He, Y., Bhandari, B. *Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying*. Drying Technology 2008, 26, 816–835
33. Jakobek, L., Drenjancevi´c, M., Jukic, V., Šeruga, M., Turalija, A., Milic, M. (2012). *Polyphenols, anthocyanins and antiradical activity of chokeberries.* Electron. J. Environ. Agric. Food Chem. (Ejeafche), 11, 76–84.
34. Jakobek L., Šeruga M., Krivak P. (2011). *The influence of interactions among phenolic compounds on the antiradical activity of chokeberries (Aronia melanocarpa).* International Journal of Food Sciences and Nutrition, 62(4): 345–352.

35. Jakobek, L., Šeruga, M., Medvidovic-Kosanovic, M., Novak, I. (2007) *Anthocyanin content and antioxidant activity of various red fruit juices*. Deutshe Lebensm. -Rundsch., 103, 58–64.
36. Jakobek L., Šeruga M., Medvidović-Kosanović M., Novak I. (2007). *Antioxidant activity and polyphenols of Aronia in comparison to other berry species*. Agric. Consp. Sci. 72:301–306.
37. Jiménez-Aguilar, D. M., Ortega-Regules, A. E., Lozada-Ramírez, J. D., Pérez-Pérez, M. C. I., Vernon-Carter, E. J., & Welti-Chanes, J. (2011). *Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material*. Journal of Food Composition and Analysis, 24(6),
38. Jurikova T., Mlcek J., Skrovankova S., Sumczynski D., Sochor J., Hlavacova I., Orsavova, J. (2017). *Fruits of Black Chokeberry Aronia melanocarpa in the Prevention of Chronic Diseases*. Molecules, 22(6), 944.
39. Kapci, B., Neradová, E., Cížková, H., Voldrich, M., Rajchl, A., Capanoglu, E. (2013). *Investigating the antioxidant potential of chokeberry (Aronia melanocarpa) products.* J. Food Nutr. Res., 52, 219–229.
40. Kardum, N., Milovanovic, B., Šavikin, K., Zdunic, G., Mutavdžin, S., Gligorijevic, T., Spasic, S. (2015). *Beneficial effects of polyphenol- rich chokeberry juice consumption on blood pressure level and lipid status in hypertensive subjects*. J. Med. Food, 18, 1231–1238.
41. Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). *Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits*. Food & Nutrition Research, 61(1), 1361779.
42. Krajka-Kuzniak, V., Szaefer, H., Ignatowicz, E., Adamska, T., Oszmianski, J., Baer-Dubowska, W. (2009). *Effect of chokeberry (Aronia melanocarpa) juice on the metabolic activation and detoxication of carcinogenic N-nitrosodiethylamine in rat liver*. J. Agric. Food Chem., 57, 5071–5077.
43. Kuang, S. S., Oliveira, J. C., & Crean, A. M. (2010). *Microencapsulation as a Tool for Incorporating Bioactive Ingredients into Food*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 50(10), 951–968.
44. Lancrajan, I. (2012). *Aronia melanocarpa a potential therapeutic agent*. Studia Universitatis "Vasile Goldis", Seria Stiin tele Vie tii (Life Sciences Series), 22, 389–394. 19.
45. Lang, Q., Wai, C.M., (2001). *Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies—a practical review*. Talanta 53 (4), 771–782.
46. López, N., Puértolas, E., Condón, S., Raso, J., Álvarez, I., (2009). *Enhancement of the extraction of betanine from red beetroot by pulsed electric fields*. Journal of Food Engineering 90 (1), 60–66
47. Mahdavi, S. A., Jafari, S. M., Ghorbani, M., & Assadpoor, E. (2014). *Spray-Drying Microencapsulation of Anthocyanins by Natural Biopolymers: A Review*. Drying Technology, 32(5), 509–518.
48. Martins, N., Roriz, C. L., Morales, P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). *Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices*. Trends in Food Science & Technology, 52, 1–15.
49. Mason, T.J., Paniwnyk, L., Lorimer, J.P., (1996). *The uses of ultrasound in food technology.* Ultrasonics Sonochemistry 3 (3), 253–260
50. Mattila, P., Hellström, J., Törrönen, R. (2006). *Phenolic acids in berries, fruits, and beverages*. J. Agric. Food Chem., 54, 7193–7199.
51. Mayer-Miebach E., Adamiuk M., Behsnilian D. (2012) *Stability of chokeberry bioactive polyphenols during juice processing and stabilization of a polyphenol-rich material from the by-product*. Agriculture, 2, 244–258.

52. Mikulic-Petkovsek, M., Slatnar, A., Stampar, F., Veberic, R. (2012). *HPLC-MSn identification and quantification of flavonol glycosides in 28 wild and cultivated berry species*. Food Chem., 135, 2138–2146.
53. Miletic, N., Popovic, B., Mitrovic, O., Kandic, M., Leposavic, A. (2014). *Phenolic compounds and antioxidant capacity of dried and candied fruits commonly consumed in Serbia*. Czech. J. Food Sci., 32, 360–368.
54. Mosquera, L. H., Moraga, G., & Martínez-Navarrete, N. (2012). *Critical water activity and critical water content of freeze-dried strawberry powder as affected by maltodextrin and arabic gum.* Food Research International, 47(2), 201–206.
55. Muhamad, I. I., Jusoh, Y. M. M., Nawi, N. M., Aziz, A. A., Padzil, A. M., & Lian, H. L. (2018). *Advanced Natural Food Colorant Encapsulation Methods: Anthocyanin Plant Pigment.* Natural and Artificial Flavoring Agents and Food Dyes, 495–526.
56. Murkovic, M. (2016). *Phenolic Compounds: Occurrence, Classes, and Analysis*. Encyclopedia of Food and Health, 346–351.
57. Murugesan, R., Orsat, V. (2011). *Spray drying of elderberry (Sambucus nigra L.) juice to maintain its phenolic content.* Drying Technology, 29, 1729–1740
58. Nawirska, A.; Uklanska, C. (2008). *Waste products from fruit and vegetable processing as potential sources for food enrichment in dietary fibre*. Acta Sci. Pol. Technol. Aliment., 7, 35–42.
59. Ochmian I., Grajkowski J., Smolik M. (2012) *Comparison of some morphological features, quality and chemical content of four cultivars of chokeberry fruits (Aronia melanocarpa)*. Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca, 40, 253–260.
60. Ochmian I., Oszmiański J., Skupień K. (2009). *Chemical composition, phenolics, and firmness of small black fruits.* J. Appl. Bot. Food Qual. 83:64–69.
61. Oprea, E., Manolescu, B.N., Fărcăsanu, I.C., Mladin, P., Mihele, D. (2014). *Studies concerning antioxidant and hypoglycaemic activity of Aronia melanocarpa fruits.* Farmacia 2014, 62, 254–263.
62. Oszmianski, J., Lachowicz, S. (2016). *Effect of the production of dried fruits and juice from chokeberry (Aronia melanocarpa L.) on the content and antioxidative activity of bioactive compounds.* Molecules, 21, 1098.
63. Oszmiański J., Wojdylo A. (2005). *Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity.* Eur. Food Res. Technol. 221:809–813.
64. Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). *Flavonoids: an overview*. Journal of Nutritional Science, 5.
65. Pan, X., Niu, G., Liu, H. (2003). *Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves*. Chemical Engineering and Processing 42 (2), 129–133.
66. Parr, A. J., & Bolwell, G. P. (2000). *Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80, 985–1012.
67. Pavlovic, A.N., Brcanovic, J.M., Veljkovic, J.N., Mitic, S.S., Tošic, S.B., Kalicanin, B.M., Kostic, D.A., Dordevic, M.S., Velimirovic, D.S. (2015). *Characterization of commercially available products of aronia according to their metal content*. Fruits, 70, 385–393.
68. Petković, M., Đurović, I., Miletić, N., & Radovanović, J. (2019). *Effect of Convective Drying Method of Chokeberry (Aronia melanocarpa L.) on Drying Kinetics, Bioactive Components and Sensory Characteristics of Bread with Chokeberry Powder*.
69. Piasek, A., Kusznierewicz, B., Grzybowska, I., Malinowska-Panczyk, E., Piekarska, A., Azqueta, A., Collins, A.R., Namiesnik, J., Bartoszek, A. (2011). *The influence of sterilization with EnbioJet®*

Microwave Flow Pasteurizer on composition and bioactivity of aronia and blue-berried honeysuckle juices. J. Food Compos. Anal., 24, 880–888.

70. Popovic, K., Pozderovic, A., Jakobek, L., Rukavina, J., Pichler, A. *Concentration of chokeberry (Aronia melanocarpa) juice by nanofiltration*. J. Food Nutr. Res., 55, 159–170.
71. Pozderovic, A., Popovic, K., Pichler, A., Jakobek, L. (2016). *Influence of processing parameters on permeate flow and retention of aroma and phenolic compounds in chokeberry juice concentrated by reverse osmosis.* Cyta – J. Food, 14, 382–390.
72. Puri, M., Sharma, D., Barrow, C.J. (2012). *Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants.* Trends in Biotechnology 30 (1), 37–44.
73. Razungles, A., Oszmianski, J., Sapis, J.C. (1989). *Determination of carotenoids in fruits of Rosa sp. (Rosa canina and Rosa rugosa) and of chokeberry (Aronia melanocarpa)*. J. Food Sci., 54, 774–775.
74. Rigon, R. T., & Zapata Noreña, C. P. (2015). *Microencapsulation by spray-drying of bioactive compounds extracted from blackberry (rubus fruticosus)*. Journal of Food Science and Technology, 53(3), 1515–1524.
75. Robbins, R. J. (2003). *Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology.* Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(10), 2866–2887.
76. Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J., Saenz, C. (2010). *Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (Punica granatum) by spray drying*. International Journal of Food Science & Technology, 45, 1386–1394.
77. Roda-Serrat, M. C., Andrade, T. A., Rindom, J., Lund, P. B., Norddahl, B., & Errico, M. (2020). *Optimization of the Recovery of Anthocyanins from Chokeberry Juice Pomace by Homogenization in Acidified Water*. Waste and Biomass Valorization.
78. Romani, A., Vignolini, P., Ieri, F., Heimler, D. (2016). *Polyphenols and volatile compounds in commercial chokeberry (Aronia melanocarpa) products*. Nat. Prod. Commun., 11, 99–102.
79. Rop O., Mlcek J., Jurikova T., Valsikova M., Sochor J., Reznicek V., Kramarova D. (2010). *Phenolic content, antioxidant capacity, radical oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibiting activities of extracts of five black chokeberry (Aronia melanocarpa (michx.) elliot) cultivars.* J. Med. Plants Res. 22:2432–2437.
80. Samoticha, J., Wojdyło, A., Lech, K. (2016). *The influence of different the drying methods on chemical composition and antioxidant activity in chokeberries*. Lwt – Food Sci. Technol., 66, 484–489.
81. Siahpoush A., Ghasemi N., Ardakani M.S., Asghari G. (2011) *Production of chlorogenic acid in Varthemia persica DC (var. persica) callus cultures. Research in Pharmaceutical Sciences.* 6(1):63-69. PMID: 22049279; PMCID: PMC3203274.
82. Siddiq, M., Dolan, K. D., Perkins-Veazie, P., & Collins, J. K. (2018). *Effect of pectinolytic and cellulytic enzymes on the physical, chemical, and antioxidant properties of blueberry (Vaccinium corymbosum L.) juice*. LWT, 92, 127–132.
83. Sieniawska, E., & Baj, T. (2017). *Tannins*. Pharmacognosy, 199–232.
84. Silva, L. V., Nelson, D. L., Drummond, M. F. B., Dufossé, L., & Glória, M. B. A. (2005). *Comparison of hydrodistillation methods for the deodorization of turmeric*. Food Research International, 38(8-9), 1087–1096.
85. Skupien K., Oszmianski J. (2007) *The effect of mineral fertilization on nutritive value and biological activity of chokeberry fruit*. Agric. Food Sci. 2007, 16, 46–55.
86. Slimestad, R., Torskangerpoll, K., Nateland, H.S., Johannessen, T., Giske, N.H. (2005). *Flavonoids from black chokeberries, Aronia melanocarpa*. J. Food Compos. Anal., 18, 61–68.
87. Šnebergrová J., Čížková H., Neradová E., Kapci B., Rajchl A., Voldřich M. (2014): *Variability of characteristic components of aronia.* Czech J. Food Sci., 32: 25–30.

88. Sosnowska, D., Podsedek, A., Kucharska, A.Z., Redzynia, M., Opchowska, M., Koziołkiewicz, M. (2016). *Comparison of in vitro anti-lipase and antioxidant activities, and composition of commercial chokeberry juices*. Eur. Food Res. Technol., 242, 505–515.
89. Stanisavljevic, N., Samardžic, J., Jankovic, T., Šavikin, K., Mojsin, M., Topalovic, V., Stevanovic, M. (2015). *Antioxidant and antiproliferative activity of chokeberry juice phenolics during in vitro simulated digestion in the presence of food matrix*. Food Chem., 175, 516–522.
90. Szopa, A., Ekiert, H., Muszynska, B. (2013). *Accumulation of hydroxybenzoic acids and other biologically active phenolic acids in shoot and callus cultures of Aronia melanocarpa (Michx.) Elliott (black chokeberry).* Plant. CellTissue Organ. Cult., 113, 323–329.
91. Szopa A., Kokotkiewicz A., Kubica P., Banaszczak P., Wojtanowska-Krośniak A., Krośniak M., Ekiert, H. (2017) *Comparative analysis of different groups of phenolic compounds in fruit and leaf extracts of Aronia sp.: A. melanocarpa, A. arbutifolia, and A. ×prunifolia and their antioxidant activities.* European Food Research and Technology, 243(9), 1645–1657.
92. Taheri, R., Connolly, B.A., Brand, M.H., Bolling, B.W. (2013). *Underutilized chokeberry (Aronia melanocarpa, Aronia arbutifolia, Aronia prunifolia) accessions are rich sources of anthocyanins, flavonoids, hydroxycinnamic acids, and proanthocyanidins*. J. Agric. Food Chem., 61, 8581–8588.
93. Tanaka, T., Tanaka, A. (2001). *Chemical components and characteristics of black chokeberry*. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 8, 606–610.
94. Tarko, T., Duda-Chodak, A., Sroka, P., Satora, P., Michalik, J. (2009). *Transformations of phenolic compounds in an in vitro model simulating the human alimentary tract*. Food Technol. Biotechnol., 47, 456–463.
95. Teleszko, M., Wojdyło, A. (2015). *Comparison of phenolic compounds and antioxidant potential between selected edible fruits and their leaves*. J. Funct. Foods, 14, 736–746.
96. Thi, N.D., Hwang, E.S. (2016). *Effects of drying methods on contents of bioactive compounds and antioxidant activities of black chokeberries (Aronia melanocarpa)*. Food Sci. Biotechnol., 1, 55–61.
97. Tian, Y., Liimatainen, J., Alanne, A.L., Lindstedt, A., Liu, P., Sinkkonen, J., Kallio, H., Yang, B. (2017). *Phenolic compounds extracted by acidic aqueous ethanol from berries and leaves of different berry plants*. Food Chem., 220, 266–281.
98. Tolic, M.T., Jurcevic, I.L., Krbavcic, I.P., Markovic, K., Vahcic, N. (2015). *Phenolic content, antioxidant capacity and quality of chokeberry (Aronia melanocarpa) products*. Food Technol. Biotechnol., 53, 171–179.
99. Tomic, M., Ignjatovic, D., Tovilovic-Kovacevic, G., Krstic-Miloševic, D., Rankovic, S., Popovic, T., Glibetic, M. (2016). *Reduction of anxiety-like and depression-like behaviors in rats after one month of drinking Aronia melanocarpa berry juice*. Food Funct., 7, 3111–3120.
100. Vagiri, M. & Jensen, M. (2017). *Influence of juice processing factors on quality of black chokeberry pomace as a future resource for colour extraction*. Food Chemistry, 217, 409–417.
101. Valcheva-Kuzmanova, S., Eftimov, M., Denev, P., Krachanova, M., Belcheva, A. (2013). *Effect of Aronia melanocarpa fruit juice on alcohol-induced depressive-like behavior in rats.* Scr. Sci. Med., 45, 7–13.
102. Veberic, R., Slatnar, A., Bizjak, J., Stampar, F., Mikulic-Petkovsek, M. (2015). *Anthocyanin composition of different wild and cultivated berry species.* Lwt- Food Sci. Technol., 60, 509–517.
103. Vidović S, Ramić M, Ambrus R, Vladić J, Szabó-Révész P, Gavarić A. (2019). *Aronia Berry Processing by Spray Drying: From Byproduct to High Quality Functional Powder*. Food Technol Biotechnol. 57(4):513-524.
104. Vlachojannis, C., Zimmermann, B.F., Chrubasik-Hausmann, S. (2015). *Quantification of anthocyanins in elderberry and chokeberry dietary supplements*. Phytother. Res., 29, 561–565.

105. Wangensteen, H., Bräunlich, M., Nikolic, V., Malterud, K.E., Slimestad, R., Barsett, H. (2014). *Anthocyanins, proanthocyanidins and total phenolics in four cultivars of aronia: Antioxidant and enzyme inhibitory effects*. J. Funct. Foods, 7, 746–752.
106. Wiczkowski, W., Romaszko, E., Piskula, M.K. (2010). *Bioavailability of cyanidin glycosides from natural chokeberry (Aronia melanocarpa) juice with dietary-relevant dose of anthocyanins in humans.* J. Agric. Food Chem., 58, 12130–12136.
107. Wilkes K., Howard L.R., Brownmiller C., Prior R.L. (2014) *Changes in chokeberry (Aronia melanocarpa L.) polyphenols during juice processing and storage*. J. Agric. Food Chem. 62, 4018–4025.
108. Wilkowska, A., Ambroziak, W., Adamiec, J., Czyzowska, A. (2017). *Preservation of antioxidant activity and polyphenols in chokeberry juice and wine with the use of microencapsulation*. J. Food Process. Preserv., 41, e12924.
109. Wu X., Gu L., Prior RL., McKay S. (2004). *Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and their antioxidant capacity.* J Agric Food Chem. 52(26):7846-56.
110. Ying-chang, L., Chun-mao, L., Xian-jun, M., Yong, M. (2010). *Study on the Microencapsulation of blueberry anthocyanins*. Food and Fermentation Industries, 6, 24–29
111. Zhang, L., Mou, D., Du, Y. (2007). *Procyanidins: Extraction and microencapsulation*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 87, 2192–2197
112. Zheng W., Wang SY. (2003) *Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries*. J Agric Food Chem. 51(2):502-9.
113. Zielinska, Agnieszka & Siudem, Paweł & Paradowska, Katarzyna & Gralec, Małgorzata & Kaźmierski, Sławomir & Wawer, Iwona. (2020). *Aronia melanocarpa Fruits as a Rich Dietary Source of Chlorogenic Acids and Anthocyanins: 1 H-NMR, HPLC-DAD, and Chemometric Studies*. Molecules. 25. 1-16.
114. Zygler, A., Słomińska, M., & Namieśnik, J. (2012). *Soxhlet Extraction and New Developments Such as Soxtec. Comprehensive Sampling and Sample Preparation*, 65–82. Gdansk University of Technology, Gdansk, Poland.
115. Velickovic, D., Milenovic, D., Ristic, M., & Veljkovic, V. (2006). *Kinetics of ultrasonic extraction of extractive substances from garden (L.) and glutinous (L.) sage*. Ultrasonics Sonochemistry, 13(2), 150–156.
116. Peppas, N. A., & Sahlin, J. J. (1989). *A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation*. International Journal of Pharmaceutics, 57(2), 169–172.
117. Μυλωνά Αικατερίνη-Ευαγγελία (2011) *Μελέτη μεταβολών των ποιοτικών χαρακτηριστικών κατά τη ζύμωση και ωρίμανση του οίνου (διπλωματική εργασία)*. Τομέας IV, Σχολή χημικών μηχανικών, ΕΜΠ, Αθήνα.
118. Τσιμογιάννης Δ. (2008), *Αντιοξειδωτική δράση φλαβονοειδών ενώσεων και εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών: Αναγωγή ελευθέρων ριζών και προστασία φυτικών ελαίων*, Διδακτορική διατριβή, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα.

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

AAE	Ascorbic Acid Equivalents
CA	Citric Acid
CE	Catechin Equivalents
CGE	Cyanidin-galactoside Equivalents
ChAE	Chlorogenic Acid Equivalents
CyE	Cyanidin Equivalents
DE	Dextrose equivalent
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
DW	Dry weight
FW	Fresh weight
GA	Gum Arabic
GAE	Gallic Acid Equivalents
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
IE	Isorhamnetin Equivalents
KE	Kaempferol Equivalents
MeCN	Ακετονιτρίλιο
MeOH	Methanol
MD	Maltodextrin
ME	Myricetin Equivalents
ND	Not detected
PCB2E	Procyanidin B2 Equivalents
PE	Pelargodin Equivalents
QE	Quercetin Equivalents
QGalE	Quercetin-galactoside Equivalents
QRE	Quercetin Rutinoside Equivalents
TAC	Total Antiradical Capacity
TAnth	Total Anthocyanins
TE	Trolox Equivalents
TF	Total Flavonols
TFA	Trifluoroacetic acid
TPA	Total Phenolic Acids
TPC	Total Phenolic Content
TR	Traces

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Σταθμικές αναλύσεις

Πίνακας 7-1. Περιεχόμενη υγρασία δειγμάτων που μελετήθηκαν (επί τοις εκατό περιεκτικότητα κατά βάρος)

Δείγμα	% περιεχόμενη υγρασία (w/w)
Φρέσκος καρπός αρώνιας (ολόκληρος)	76,7 ± 0,3
Φλοιός καρπού αρώνιας	67,6 ± 0,2
Εσωτερικό καρπού αρώνιας (σάρκα και κουκούτσια)	77,7 ± 0,4
Υπόλειμμα (παραπροϊόν) χυμοποίησης αρώνιας	66,7 ± 0,1
Εμπορικό προϊόν αποξηραμένου καρπού αρώνιας	14,4 ± 0,5

Πίνακας 5-2. Περιεχόμενο εκχυλισμάτων που παρασκευάσθηκαν εργαστηριακά σε ολικά στερεά. Όλες οι εκχυλίσεις πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. MeOH = μεθανόλη, TFA = trifluoroacetic acid, CA = citric acid. ND = not detected.

Εκχύλισμα	Τεχνική εκχύλισης	Αραίωση εκχύλισης (g:mL)	Διαλύτης	Μάζα ολικών στερεών ανά 100mL εκχυλίσματος (g)
Εμπορικού προϊόντος αποξηραμένου καρπού	Απλή ανάδευση	1:20	Νερό	2,9 ± 0,2
Φλοιών 1° διαδοχικό	Απλή ανάδευση	1:25	MeOH 0,5% TFA	0,83 ± 0,03
Φλοιών 2° διαδοχικό	Υποβοηθούμενη από υπερήχους	1:25	MeOH 0,5% TFA	0,12 ± 0,01
Φλοιών 3° διαδοχικό	Υποβοηθούμενη από υπερήχους	1:25	MeOH 0,5% TFA	0,05 ± 0,02
Αποφλοιωμένων καρπών 1° διαδοχικό	Υποβοηθούμενη από υπερήχους	1:20	MeOH 0,5% TFA	0,9 ± 0,05
Αποφλοιωμένων καρπών 2° διαδοχικό	Υποβοηθούμενη από υπερήχους	1:20	MeOH 0,5% TFA	0,021 ± 0,002
Αποφλοιωμένων καρπών 3° διαδοχικό	Υποβοηθούμενη από υπερήχους	1:20	MeOH 0,5% TFA	0,01
Υπολείμματος (παραπροϊόντος) χυμοποίησης	Με σταθερή κλίνη ημιδιαλείποντος έργου	1:17	Νερό 0,75% CA	2,3 ± 0,2

Πίνακας 7-3. Περιεχόμενο φυσικού χυμού αρώνιας σε ολικά στερεά.

Προέλευση φυσικού χυμού	Μάζα ολικών στερεών ανά 100mL φυσικού χυμού (g)
Εργαστηριακό παρασκεύασμα	19,7 ± 0,1
Εμπορικό προϊόν	17,84 ± 0,01

Πίνακας 7-4. Δοκιμές αποφλοίωσης καρπού και εξαγωγή % ποσοστών για τη σύστασή του. fw = fresh weight.

	1ος διαχωρισμος		2ος διαχωρισμος		% ποσοστό (μέση τιμή)
	Μάζα μερών (g_{fw})	% ποσοστό	Μάζα μερών (g_{fw})	% ποσοστό	
Καρπός	122,2	100	73,1	100	100
Σάρκα & κουκούτσια	105,8	86,6	62,5	85,5	86 ± 0,8
Φλοιος	16,4	13,4	10,6	14,5	14 ± 0,8

Πίνακας 7-5. Δοκιμές χυμοποίησης καρπού και εξαγωγή % ποσοστών για τον παραγόμενο χυμό (σε όγκο) και την παραγόμενο παραπροϊόν (σε μάζα). fw = fresh weight.

	Αρχική μάζα καρπού (g_{fw})	Προκύπτων χυμός (mL)	Υπόλειμμα χυμοποίησης (g_{fw})	% απόδοση χυμοποίησης (v/w)	% παραγόμενο παραπροϊόν (w/w)
1η Χυμοποίηση	87,86	41	43,31	46,7	0,49
2η Χυμοποίηση	72,75	32	37,74	44,0	0,52
Μέσος όρος				45,3 ± 1,9	0,51 ± 0,02

Φαινολικό περιεχόμενο και αντιριζική ικανότητα

Πίνακας 7-6. Ολικό φαινολικό περιεχόμενο των διαδοχικών εκχυλισμάτων φλοιών της αρώνιας. A,B = δείκτης πειραματικής δοκιμής, 1,2,3 = δείκτης διαδοχικής εκχύλισης

	Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC)		
	Συγκέντρωση στα διαδοχικά εκχυλίσματα $mg_{GAE}/L_{εκχυλίσματος}$		% απομάκρυνση TP ανά εκχύλιση
ΦΑ1	1448	1487 ± 56	76,0
ΦΒ1	1527		
ΦΑ2	341	335 ± 10	17,1
ΦΒ2	328		
ΦΑ3	104	134 ± 42	6,9
ΦΒ3	164		
Σύνολο			100

Πίνακας 7-7. Αντιριζική ικανότητα των διαδοχικών εκχυλισμάτων φλοιών της αρώνιας. A,B = δείκτης πειραματικής δοκιμής, 1,2,3 = δείκτης διαδοχικής εκχύλισης

	Αντιριζική ικανότητα (TAC)		
	Συγκέντρωση στα διαδοχικά εκχυλίσματα $mg_{TE}/L_{εκχυλίσματος}$		% απομάκρυνση TAC ανά εκχύλιση
ΦΑ1	1119	1131 ± 17	78,6
ΦΒ1	1143		
ΦΑ2	193	188 ± 7	13,1

ΦΒ2	183		
ΦΑ3	125	121 ± 6	8,4
ΦΒ3	116		
Σύνολο			100

Πίνακας 7-8. Ολικό φαινολικό περιεχόμενο των διαδοχικών εκχυλισμάτων αποφλοιωμένων καρπών αρώνιας. Α,Β = δείκτης πειραματικής δοκιμής, 1,2,3 = δείκτης διαδοχικής εκχύλισης

	Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC)		
	Συγκέντρωση στα διαδοχικά εκχυλίσματα $mg_{GAE}/L_{εκχυλίσματος}$		% απομάκρυνση TP ανά εκχύλιση
ΣΑ1	669	653 ± 22	73,7
ΣΒ1	638		
ΣΑ2	187	169 ± 25	19,1
ΣΒ2	151		
ΣΑ3	64	64	7,2
Σύνολο			100

Πίνακας 7-9. Φαινολικό περιεχόμενο με αντιριζική ικανότητα των διαδοχικών εκχυλισμάτων αποφλοιωμένων καρπών αρώνιας. Α,Β = δείκτης πειραματικής δοκιμής, 1,2,3 = δείκτης διαδοχικής εκχύλισης

	Φαινολικό περιεχόμενο με αντιριζική ικανότητα (TAC)		
	Συγκέντρωση στα διαδοχικά εκχυλίσματα $mg_{TE}/L_{εκχυλίσματος}$		% απομάκρυνση TP ανά εκχύλιση
ΣΑ1	438	436 ± 3	70,0
ΣΒ1	434		
ΣΑ2	146	152 ± 9	24,4
ΣΒ2	158		
ΣΑ3	35	35	5,6
Σύνολο			100

Πίνακας 7-10. Ολικό φαινολικό περιεχόμενο που προσδιορίσθηκε στο μούρο αρώνιας ανά μέρος του καρπού και συνολικά. fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (mg_{GAE}/z)
Νωπή μάζα φλοιών ($z=g_{φλοιοι(fw)}$)	49 ± 2
Ξηρή μάζα φλοιών ($z=g_{φλοιοι(dw)}$)	151 ± 5
Νωπή μάζα σάρκας ($z=g_{σάρκας\ (fw)}$)	17,6 ± 0,3
Ξηρή μάζα σάρκας ($z=g_{σάρκας\ (dw)}$)	79 ± 2
Νωπή μάζα καρπού ($z=g_{καρπού(fw)}$)	21,9 ± 0,4
Ξηρή μάζα καρπού ($z=g_{καρπού(dw)}$)	94 ± 2

Πίνακας 7-11. Αντιριζική ικανότητα σε TE (Trolox equivalents) που υπολογίσθηκε στο μούρο αρώνιας ανά μέρος του καρπού και συνολικά. fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Φαινολικό περιεχόμενο με αντιριζική ικανότητα - TAC

	(mg_{TE}/z)
Νωπή μάζα φλοιών ($z=g_{φλοιοι(fw)}$)	35,9 ± 0,5
Ξηρή μάζα φλοιών ($z=g_{φλοιοι(dw)}$)	111 ± 1
Νωπή μάζα σάρκας ($z=g_{σάρκας\ (fw)}$)	12,33 ± 0,09
Ξηρή μάζα σάρκας ($z=g_{σάρκας\ (dw)}$)	55,4 ± 0,4
Νωπή μάζα καρπού ($z=g_{καρπού(fw)}$)	15,6 ± 0,1
Ξηρή μάζα καρπού ($z=g_{καρπού(dw)}$)	67,1 ± 0,4

Πίνακας 7-12. Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) στο τελικό εκχύλισμα και στη μάζα του αποξηραμένου καρπού από την οποία προήλθε. fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC)			
	$mg_{GAE}/L_{εκχυλίσματος}$	$mg_{GAE}/g_{εκχυλίσματος(dw)}$	$mg_{GAE}/g_{αποξ.καρπού(fw)}$	$mg_{GAE}/g_{αποξ.καρπού(dw)}$
1η εκχύλιση	1165	41,6	23,3	27,2
2η εκχύλιση	1238	44,2	24,8	28,9
Μέση τιμή	1201 ± 52	42,9 ± 1,8	24,0 ± 1,0	28,0 ± 1,2

Πίνακας 7-13. Αντιριζική ικανότητα (TAC) στο ολικό εκχύλισμα και στη μάζα του αποξηραμένου καρπού από τον οποίο προήλθε. fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Αντιριζική ικανότητα (TAC)			
	$mg_{TE}/L_{εκχυλίσματος}$	$mg_{TE}/g_{εκχυλίσματος(dw)}$	$mg_{TE}/g_{αποξ.καρπού(fw)}$	$mg_{TE}/g_{αποξ.καρπού(dw)}$
1η εκχύλιση	1119	39,9	22,4	26,0
2η εκχύλιση	1089	38,9	21,8	25,3
Μέση τιμή	1104 ± 21	39,4 ± 0,75	22,07 ± 0,42	25,7 ± 0,5

Πίνακας 7-14. Ολικό φαινολικό περιεχόμενο του φυσικού χυμού αρώνιας που παρασκευάσθηκε εργαστηριακά. Για λόγους σύγκρισης, μετρήθηκε και το φαινολικό περιεχόμενο εμπορικού προϊόντος φυσικού χυμού βιολογικού καρπού. dw = dry weight.

		Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC)			
		Στο φρέσκο χυμό ($mg_{GAE}/L_{χυμού}$)		Στον ξηρό χυμό ($mg_{GAE}/g_{χυμού(dw)}$)	
Εργαστηριακός φυσικός χυμός	Δοκιμή Α	6343	6231 ± 159	33,4	31,7 ± 2,4
	Δοκιμή Β	6118		30,0	
Εμπορικό προϊόν φυσικού χυμού		2550 ± 83		14,9 ± 0,5	

Πίνακας 7-15. Αντιριζική ικανότητα σε TE (Trolox equivalents) του φυσικού χυμού αρώνιας που παρασκευάσθηκε εργαστηριακά. Για λόγους σύγκρισης, αναλύθηκε και το εμπορικό προϊόν φυσικού χυμού βιολογικού καρπού. dw = dry weight.

	Φαινολικό περιεχόμενο με αντιριζική ικανότητα (TAC)

		Στο φρέσκο χυμό ($mg_{TE}/L_{χυμού}$)		Στον ξηρό χυμό ($mg_{TE}/g_{χυμού(dw)}$)	
Εργαστηριακός φυσικός χυμός	Δοκιμή Α	4202	4265 ± 89	22,1	21,7 ± 0,6
	Δοκιμή Β	4328		21,2	
Εμπορικό προϊόν φυσικού χυμού		2257		12,7	

Πίνακας 7-16. Φαινολικό περιεχόμενο με αντιριζική ικανότητα σε TE (Trolox equivalents) που προσδιορίσθηκε στο εκχύλισμα του παραπροϊόντος της χυμοποίησης αρώνιας.. fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Αντιριζική ικανότητα (TAC)							
	Στο υγρό εκχύλισμα ($mg_{TE}/L_{εκχυλίσματος}$)		Στο ξηρό εκχύλισμα ($mg_{TE}/g_{εκχυλίσματος(dw)}$)		Στο ξηρό παραπροϊόν που εκχυλίσθηκε ($mg_{TE}/g_{παραπροϊόντος(dw)}$)		Στο νωπό παραπροϊόν ($mg_{TE}/g_{παραπροϊόντος(fw)}$)	
Δοκιμή Α	348	341 ± 10	13,0	13,8 ± 1,3	5,93	6,11 ± 0,25	1,97	2,03 ± 0,08
Δοκιμή Β	334		14,7		6,28		2,09	

Συγκεντρώσεις επιμέρους φαινολικών συστατικών

Πίνακας 7-17. Συγκεντρώσεις ανθοκυανών στα διαδοχικά εκχυλίσματα φλοιών αρώνιας. fw = fresh weight, dw = dry weight, TR = Traces (ίχνη αδύνατον να ποσοτικοποιηθούν), ND = Not detected (δεν εντοπίσθηκε).

	3-*O*-γαλακτοζίτης της κυανιδίνης						
	1η διαδοχική εκχύλιση		2η διαδοχική εκχύλιση		3η διαδοχική εκχύλιση		
	ΦΑ1	ΦΒ1	ΦΑ2	ΦΒ2	ΦΑ3	ΦΒ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στο εκχύλισμα (ppm CyE)	494,4	530,9	26,2	25,1	2,3	1,8	-
Μέση τιμή (ppm CyE)	512 ± 25		25,7 ± 0,8		2,1 ± 0,4		-
Συγκέντρωση στο φρέσκο φλοιό ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(fw)}$)	12,34	13,25	0,65	0,63	0,058	0,046	-
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(fw)}$)	12,80 ± 0,64		0,64 ± 0,02		0,052 ± 0,009		13,49 ± 0,64
Συγκέντρωση στον ξηρό φλοιό ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(dw)}$)	38,08	40,85	2,02	1,93	0,18	0,14	-
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(dw)}$)	39,46 ± 1,96		1,97 ± 0,06		0,161 ± 0,027		41,60 ± 1,96
	3-*O*-γλυκοζίτης της κυανιδίνης						
	1η διαδοχική εκχύλιση		2η διαδοχική εκχύλιση		3η διαδοχική εκχύλιση		
	ΦΑ1	ΦΒ1	ΦΑ2	ΦΒ2	ΦΑ3	ΦΒ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στο	44,5	43,3	1,6	1,6	ND	ND	-

εκχύλισμα (ppm CyE)							
Μέση τιμή (ppm CyE)	43,9 ± 0,9		1,59 ± 0,02		-		-
Συγκέντρωση στο φρέσκο φλοιό ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(fw)}$)	1,11	1,08	0,040	0,039	-	-	-
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(fw)}$)	1,10 ± 0,02		0,040 ± 0,001		-		1,14 ± 0,02
Συγκέντρωση στον ξηρό φλοιό ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(dw)}$)	3,43	3,33	0,12	0,12	-	-	-
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(dw)}$)	3,38 ± 0,07		0,12 ± 0,00		-		3,50 ± 0,07
	3-*O*-αραβινοζίτης της κυανιδίνης						
	1η διαδοχική εκχύλιση		2η διαδοχική εκχύλιση		3η διαδοχική εκχύλιση		
	ΦΑ1	ΦΒ1	ΦΑ2	ΦΒ2	ΦΑ3	ΦΒ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στο εκχύλισμα (ppm CyE)	187,7	200,1	9,5	9,0	1,10	0,83	-
Μέση τιμή (ppm CyE)	193,2 ± 8,8		9,21 ± 0,33		0,961 ± 0,191		-
Συγκέντρωση στο φρέσκο φλοιό ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(fw)}$)	4,69	5,00	0,24	0,22	0,027	0,021	-
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(fw)}$)	4,84 ± 0,22		0,23 ± 0,01		0,024 ± 0,005		5,09 ± 0,22
Συγκέντρωση στον ξηρό φλοιό ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(dw)}$)	14,46	15,40	0,73	0,69	0,027	0,021	-
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(dw)}$)	14,93 ± 0,67		0,71 ± 0,03		0,024 ± 0,005		15,66 ± 0,67
	3-*O*-ξυλοζίτης της κυανιδίνης						
	1η διαδοχική εκχύλιση		2η διαδοχική εκχύλιση		3η διαδοχική εκχύλιση		
	ΦΑ1	ΦΒ1	ΦΑ2	ΦΒ2	ΦΑ3	ΦΒ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στο εκχύλισμα (ppm CyE)	28,0	31,8	1,7	1,6	ND	ND	-
Μέση τιμή (ppm CyE)	29,9 ± 2,6		1,66 ± 0,05		-		-
Συγκέντρωση στο φρέσκο φλοιό ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(fw)}$)	0,70	0,79	0,042	0,041	-	-	-
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(fw)}$)	0,75 ± 0,07		0,041 ± 0,001		-		0,79 ± 0,07
Συγκέντρωση στον ξηρό φλοιό ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(dw)}$)	2,16	2,44	0,131	0,125	-	-	-

Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(dw)}$)	2,30 ± 0,20		0,128 ± 0,004		-		2,43 ± 0,20
	Ολικές ανθοκυάνες (TAn)						
	1η διαδοχική εκχύλιση		2η διαδοχική εκχύλιση		3η διαδοχική εκχύλιση		
	ΦΑ1	ΦΒ1	ΦΑ2	ΦΒ2	ΦΑ3	ΦΒ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στο φρέσκο φλοιό ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(fw)}$)	18,83	20,12	0,97	0,93	0,086	0,067	-
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(fw)}$)	19,48 ± 0,91		0,95 ± 0,03		0,076 ± 0,014		20,51 ± 0,91
Συγκέντρωση στον ξηρό φλοιό ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(dw)}$)	58,12	62,03	3,00	2,86	0,20	0,16	-
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{φλοιού(dw)}$)	60,1 ± 2,7		2,93 ± 0,09		0,185 ± 0,032		63,2 ± 2,8

Πίνακας 7-18. Συγκεντρώσεις ανθοκυανών στα διαδοχικά εκχυλίσματα αποφλοιωμένων καρπών αρώνιας. fw = fresh weight, dw = dry weight, ND = Not detected (δεν εντοπίσθηκε).

	3-*O*-γαλακτοζίτης της κυανιδίνης					
	1η διαδοχική εκχύλιση		2η διαδοχική εκχύλιση		3η διαδοχική εκχύλιση	
	ΣΑ1	ΣΒ1	ΣΑ2	ΣΒ2	ΣΑ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στο εκχύλισμα (ppm CyE)	38,63	36,52	3,09	2,41	0,64	-
Μέση τιμή (ppm CyE)	37,6 ± 1,5		2,7 ± 0,5		0,64	-
Συγκέντρωση στη φρέσκια σάρκα ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(fw)}$)	0,76	0,72	0,06	0,05	0,01	-
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(fw)}$)	0,74 ± 0,03		0,05 ± 0,01		0,01	0,81 ± 0,03
Συγκέντρωση στην ξηρή σάρκα ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(dw)}$)	3,42	3,24	0,27	0,21	0,06	-
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(dw)}$)	3,33 ± 0,13		0,24 ± 0,04			3,63 ± 0,14
	3-*O*-γλυκοζίτης της κυανιδίνης					
	1η διαδοχική εκχύλιση		2η διαδοχική εκχύλιση		3η διαδοχική εκχύλιση	
	ΣΑ1	ΣΒ1	ΣΑ2	ΣΒ2	ΣΑ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στο εκχύλισμα (ppm CyE)	2,13	2,10	0,503	0,582	ND	-
Μέση τιμή (ppm CyE)	2,12 ± 0,03		0,543 ± 0,055		-	-
Συγκέντρωση στη	0,042	0,042	0,010	0,012	-	-

φρέσκια σάρκα ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(fw)}$)						
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(fw)}$)	0,042 ± 0,000		0,011 ± 0,001		-	0,053 ± 0,001
Συγκέντρωση στην ξηρή σάρκα ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(dw)}$)	0,19	0,19	0,04	0,05	-	-
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(dw)}$)	0,187 ± 0,002		0,048 ± 0,005		-	0,235 ± 0,005
	3-*O*-αραβινοζίτης της κυανιδίνης					
	1η διαδοχική εκχύλιση		2η διαδοχική εκχύλιση		3η διαδοχική εκχύλιση	
	ΣΑ1	ΣΒ1	ΣΑ2	ΣΒ2	ΣΑ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στο εκχύλισμα (ppm CyE)	13,72	13,00	1,34	1,06	0,473	-
Μέση τιμή (ppm CyE)	13,37 ± 0,5		1,20 ± 0,20		0,473	-
Συγκέντρωση στη φρέσκια σάρκα ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(fw)}$)	0,27	0,26	0,026	0,021	0,009	-
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(fw)}$)	0,26 ± 0,01		0,024 ± 0,004		0,009	0,30 ± 0,01
Συγκέντρωση στην ξηρή σάρκα ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(dw)}$)	1,22	1,15	0,12	0,10	0,04	-
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(dw)}$)	1,18 ± 0,05		0,11 ± 0,01		0,04	1,33 ± 0,05
	3-*O*-ξυλοζίτης της κυανιδίνης					
	1η διαδοχική εκχύλιση		2η διαδοχική εκχύλιση		3η διαδοχική εκχύλιση	
	ΣΑ1	ΣΒ1	ΣΑ2	ΣΒ2	ΣΑ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στο εκχύλισμα (ppm CyE)	2,20	2,10	0,602	0,562	ND	-
Μέση τιμή (ppm CyE)	2,15 ± 0,07		0,582 ± 0,029		-	-
Συγκέντρωση στη φρέσκια σάρκα ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(fw)}$)	0,043	0,042	0,012	0,011	-	-
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(fw)}$)	0,042 ± 0,001		0,012 ± 0,001		-	0,054 ± 0,001
Συγκέντρωση στην ξηρή σάρκα ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(dw)}$)	0,19	0,19	0,053	0,050	-	
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(dw)}$)	0,19 ± 0,01		0,052 ± 0,003		-	0,242 ± 0,007
	Ολικές ανθοκυάνες (TAn)					
	1η διαδοχική εκχύλιση		2η διαδοχική εκχύλιση		3η διαδοχική εκχύλιση	

	ΣΑ1	ΣΒ1	ΣΑ2	ΣΒ2	ΣΑ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στη φρέσκια σάρκα ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(fw)}$)	1,11	1,07	0,109	0,092	0,022	-
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(fw)}$)	1,09 ± 0,04		0,101 ± 0,012		0,022	1,21 ± 0,04
Συγκέντρωση στην ξηρή σάρκα ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(dw)}$)	5,022	4,759	0,490	0,412	0,099	-
Μέση τιμή ($mg_{CyE}/g_{σάρκας(dw)}$)	4,890 ± 0,186		0,451 ± 0,055		0,099	5,44 ± 0,19

Πίνακας 7-19. Συγκέντρωση ανθοκυανών που υπολογίσθηκε στο μούρο αρώνιας βάσει των εκχυλίσεων των μερών του καρπού. fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Ολικές ανθοκυάνες (mg_{CyE}/z)				
	3-*O*-γαλακτοζίτης της κυανιδίνης	3-*O*-γλυκοζίτης της κυανιδίνης	3-*O*-αραβινοζίτης της κυανιδίνης	3-*O*-ξυλοζίτης της κυανιδίνης	Σύνολο
Νωπή μάζα καρπού – λόγω φλοιού ($z=g_{καρπού(fw)}$)	1,89 ± 0,09	0,16 ± 0,00	0,71 ± 0,03	0,11 ± 0,01	2,91 ± 0,13
Νωπή μάζα καρπού – λόγω σάρκας ($z=g_{καρπού\ (fw)}$)	0,69 ± 0,02	0,045 ± 0,001	0,25 ± 0,01	0,04 ± 0,00	1,04 ± 0,03
Νωπή μάζα καρπού ($z=g_{καρπού(fw)}$)	2,58 ± 0,09	0,20 ± 0,00	0,97 ± 0,03	0,15 ± 0,01	3,92 ± 0,10
Ξηρή μάζα καρπού ($z=g_{καρπού(dw)}$)	11,10 ± 0,40	0,87 ± 0,01	4,15 ± 0,14	0,67 ± 0,04	16,78 ± 0,42

Πίνακας 7-20. Συγκεντρώσεις των επιμέρους και ολικών ανθοκυανών στο φυσικό χυμό που παρασκευάσθηκε στο εργαστήριο. Για λόγους σύγκρισης, παρατίθενται και οι αντίστοιχες μετρήσεις φυσικού χυμού του εμπορίου. dw = dry weight.

	Α δοκιμή χυμοποίησης	Β δοκιμή χυμοποίησης	Μέση τιμή χυμών Α,Β	Εμπορικό προϊόν
	3-*O*-γαλακτοζίτης της κυανιδίνης			
Συγκέντρωση στο νωπό χυμό (ppm CyE)	625,1	637,2	631 ± 8	30,38
Συγκέντρωση στον ξηρό χυμό ($mg_{CyE}/g_{χυμού(dw)}$)	3,173	3,235	3,20 ± 0,04	0,171
	3-*O*-γλυκοζίτης της κυανιδίνης			
Συγκέντρωση στο νωπό χυμό (ppm CyE)	37,1	31,9	34,5 ± 3,6	1,32
Συγκέντρωση στον ξηρό χυμό ($mg_{CyE}/g_{χυμού(dw)}$)	0,188	0,162	0,18 ± 0,02	0,007
	3-*O*-αραβινοζίτης της κυανιδίνης			
Συγκέντρωση στο νωπό χυμό (ppm CyE)	193,5	200,7	197 ± 5	5,5
Συγκέντρωση στον ξηρό χυμό ($mg_{CyE}/g_{χυμού(dw)}$)	0,982	1,019	1,00 ± 0,03	0,031
	3-*O*-ξυλοζίτης της κυανιδίνης			
Συγκέντρωση στο νωπό χυμό (ppm CyE)	28,2	29,7	29,0 ± 1,1	-
Συγκέντρωση στον ξηρό χυμό ($mg_{CyE}/g_{χυμού(dw)}$)	0,143	0,151	0,147 ± 0,006	

	Ολικές ανθοκυάνες (TAn)			
Συγκέντρωση στο νωπό χυμό (ppm CyE)	884,0	900,0	892 ± 11	37,2
Συγκέντρωση στον ξηρό χυμό ($mg_{CyE}/g_{χυμού(dw)}$)	4,49	4,57	4,53 ± 0,06	0,21

Πίνακας 7-21. Συγκέντρωση ολικών ανθοκυανών που διαβιβάστηκαν από τον καρπό στο φυσικό χυμό αρώνιας μέσω της εργαστηριακής χυμοποίησης. fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Συγκέντρωση ανθοκυανών που διαβιβάστηκαν στο χυμό (mg_{CyE}/z)		
	Α δοκιμή χυμοποίησης	Β δοκιμή χυμοποίησης	Μέση τιμή χυμών Α,Β
Νωπή μάζα πλήρους καρπού ($z=g_{καρπού(fw)}$)	0,413	0,396	0,404 ± 0,011
Ξηρή μάζα πλήρους καρπού ($z=g_{καρπού(dw)}$)	1,770	1,698	1,734 ± 0,051

Πίνακας 7-22. Ανθοκυάνες που παρελήφθησαν από την εκχύλιση του παραπροϊόντος της χυμοποίησης αρώνιας σε CyE (Cyanidin Equivalents). fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Α εκχύλιση	Β εκχύλιση	Μέση τιμή Α,Β
	3-*O*-γαλακτοζίτης της κυανιδίνης		
Συγκέντρωση στο νωπό εκχύλισμα (ppm CyE)	153,9	145,5	149,7 ± 6,0
Συγκέντρωση στο ξηρό υπόλειμμα ($mg_{CyE}/g_{υπολείμματος(dw)}$)	2,76	2,61	2,68 ± 0,11
Συγκέντρωση στο νωπό υπόλειμμα ($mg_{CyE}/g_{υπολείμματος(fw)}$)	0,918	0,868	0,893 ±0,036
	3-*O*-γλυκοζίτης της κυανιδίνης		
Συγκέντρωση στο νωπό εκχύλισμα (ppm CyE)	8,4	7,8	8,1 ± 0,3
Συγκέντρωση στο ξηρό υπόλειμμα ($mg_{CyE}/g_{υπολείμματος(dw)}$)	0,138	0,129	0,134 ± 0,006
Συγκέντρωση στο νωπό υπόλειμμα ($mg_{CyE}/g_{υπολείμματος(fw)}$)	0,046	0,043	0,044 ± 0,002
	3-*O*-αραβινοζίτης της κυανιδίνης		
Συγκέντρωση στο νωπό εκχύλισμα (ppm CyE)	45,6	43,9	44,7 ± 1,2
Συγκέντρωση στο ξηρό υπόλειμμα ($mg_{CyE}/g_{υπολείμματος(dw)}$)	0,752	0,724	0,738 ± 0,020
Συγκέντρωση στο νωπό υπόλειμμα ($mg_{CyE}/g_{υπολείμματος(fw)}$)	0,250	0,241	0,246 ± 0,007
	3-*O*-ξυλοζίτης της κυανιδίνης		
Συγκέντρωση στο νωπό εκχύλισμα (ppm CyE)	7,3	7,0	7,1 ± 0,2
Συγκέντρωση στο ξηρό υπόλειμμα ($mg_{CyE}/g_{υπολείμματος(dw)}$)	0,120	0,115	0,117 ± 0,003
Συγκέντρωση στο νωπό υπόλειμμα ($mg_{CyE}/g_{υπολείμματος(fw)}$)	0,040	0,038	0,039 ± 0,001
	Ολικές ανθοκυάνες (TAn)		
Συγκέντρωση στο νωπό εκχύλισμα (ppm CyE)	215	204	209 ± 8
Συγκέντρωση στο ξηρό υπόλειμμα ($mg_{CyE}/g_{υπολείμματος(dw)}$)	3,77	3,58	3,67 ± 0,14
Συγκέντρωση στο νωπό υπόλειμμα ($mg_{CyE}/g_{υπολείμματος(fw)}$)	1,254	1,190	1,222 ± 0,045

Πίνακας 7-23. Συγκέντρωση ολικών φαινολικών οξέων που διαβιβάστηκαν από τον καρπό στο εκχύλισμα του παραπροϊόντος της χυμοποίησης αρώνιας. fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Συγκέντρωση ανθοκυανών που διαβιβάστηκαν στο εκχύλισμα του υπολείμματος (mg_{CyE}/z)

	Α εκχύλιση	Β εκχύλιση	Μέση τιμή Α,Β
Νωπή μάζα πλήρους καρπού ($z=g_{καρπού(fw)}$)	0,640	0,607	0,623 ± 0,023
Ξηρή μάζα πλήρους καρπού ($z=g_{καρπού(dw)}$)	1,547	1,468	1,51 ± 0,06

Πίνακας 7-24. Συγκεντρώσεις φαινολικών οξέων στο εμπορικό προϊόν αποξηραμένου καρπού αρώνιας. fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Συγκέντρωση φαινολικών οξέων (mgChAE/z)		
	Νεοχλωρογενικό οξύ	Χλωρογενικό οξύ	Ολικά φαινολικά Οξέα (TPA)
Νωπή μάζα προϊόντος αποξηραμένου καρπού ($z=g_{αποξ.καρπού(fw)}$)	0,466 ± 0,007	0,630 ± 0,014	1,096 ± 0,007
Ξηρή μάζα προϊόντος αποξηραμένου καρπού ($z=g_{αποξ.καρπού(dw)}$)	0,542 ± 0,008	0,733 ± 0,016	1,275 ± 0,008

Πίνακας 7-25. Συγκεντρώσεις φαινολικών οξέων στα διαδοχικά εκχυλίσματα φλοιών αρώνιας. fw = fresh weight, dw = dry weight, TR = Traces (ίχνη αδύνατον να ποσοτικοποιηθούν), ND = Not detected (δεν εντοπίσθηκε).

	Νεοχλωρογενικό οξύ						
	1η διαδοχική εκχύλιση		2η διαδοχική εκχύλιση		3η διαδοχική εκχύλιση		
	ΦΑ1	ΦΒ1	ΦΑ2	ΦΒ2	ΦΑ3	ΦΒ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στο εκχύλισμα (ppm ChAE)	13,392	12,840	2,637	2,873	ND	ND	-
Μέση τιμή (ppm ChAE)	13,1 ± 0,4		2,8 ± 0,2		-		-
Συγκέντρωση στο φρέσκο φλοιό ($mg_{ChAE}/g_{φλοιού(fw)}$)	0,334	0,3202	0,0658	0,0716	-	-	-
Μέση τιμή ($mg_{ChAE}/g_{φλοιού(fw)}$)	0,327 ± 0,010		0,069 ± 0,004		-		0,396 ± 0,011
Συγκέντρωση στον ξηρό φλοιό ($mg_{ChAE}/g_{φλοιού(dw)}$)	1,031	0,989	0,203	0,221	-	-	-
Μέση τιμή ($mg_{ChAE}/g_{φλοιού(dw)}$)	1,01 ± 0,03		0,121 ± 0,013		-		1,22 ± 0,01
	Χλωρογενικό οξύ						
	1η διαδοχική εκχύλιση		2η διαδοχική εκχύλιση		3η διαδοχική εκχύλιση		
	ΦΑ1	ΦΒ1	ΦΑ2	ΦΒ2	ΦΑ3	ΦΒ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στο εκχύλισμα (ppm ChAE)	25,913	30,732	3,399	4,196	ND	ND	-
Μέση τιμή (ppm ChAE)	28,32 ± 3,41		3,80 ± 0,56		-		-
Συγκέντρωση στο	0,646	0,766	0,085	0,105	-	-	-

φρέσκο φλοιό ($mg_{ChAE}/g_{φλοιού(fw)}$)							
Μέση τιμή ($mg_{ChAE}/g_{φλοιού(fw)}$)	0,706 ± 0,085		0,095 ± 0,014		-		0,801 ± 0,086
Συγκέντρωση στον ξηρό φλοιό ($mg_{ChAE}/g_{φλοιού(dw)}$)	2,00	2,37	0,261	0,323	-	-	-
Μέση τιμή ($mg_{ChAE}/g_{φλοιού(dw)}$)	2,18 ± 0,26		0,292 ± 0,043		-		2,47 ± 0,27
	Ολικά φαινολικά οξέα (TPA)						
	1η διαδοχική εκχύλιση		2η διαδοχική εκχύλιση		3η διαδοχική εκχύλιση		
	ΦΑ1	ΦΒ1	ΦΑ2	ΦΒ2	ΦΑ3	ΦΒ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στο φρέσκο φλοιό ($mg_{ChAE}/g_{φλοιού(fw)}$)	0,980	1,087	0,151	0,176	-	-	-
Μέση τιμή ($mg_{ChAE}/g_{φλοιού(fw)}$)	1,033 ± 0,075		0,163 ± 0,018		-		1,197 ± 0,077
Συγκέντρωση στον ξηρό φλοιό ($mg_{ChAE}/g_{φλοιού(dw)}$)	3,027	3,356	0,465	0,545	-	-	-
Μέση τιμή ($mg_{ChAE}/g_{φλοιού(dw)}$)	3,191 ± 0,232		0,505 ± 0,056		-		3,697 ± 0,239

Πίνακας 7-26. Συγκεντρώσεις φαινολικών οξέων στα διαδοχικά εκχυλίσματα εσωτερικών αρώνιας. fw = fresh weight, dw = dry weight, TR = Traces (ίχνη αδύνατον να ποσοτικοποιηθούν), ND = Not detected (δεν εντοπίσθηκε).

	Νεοχλωρογενικό οξύ					
	1η διαδοχική εκχύλιση		2η διαδοχική εκχύλιση		3η διαδοχική εκχύλιση	
	ΣΑ1	ΣΒ1	ΣΑ2	ΣΒ2	ΣΑ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στο εκχύλισμα (ppm ChAE)	10,02	9,64	2,54	2,40	TR	-
Μέση τιμή (ppm ChAE)	9,83 ± 0,27		2,47 ± 0,10		-	-
Συγκέντρωση στη φρέσκια σάρκα ($mg_{ChAE}/g_{σάρκας(fw)}$)	0,198	0,190	0,050	0,047	-	-
Μέση τιμή ($mg_{ChAE}/g_{σάρκας(fw)}$)	0,194 ± 0,005		0,049 ± 0,002		-	0,243 ± 0,006
Συγκέντρωση στην ξηρή σάρκα ($mg_{ChAE}/g_{σάρκας\ (dw)}$)	0,891	0,857	0,225	0,213	-	-
Μέση τιμή ($mg_{ChAE}/g_{σάρκας\ (dw)}$)	0,874 ± 0,024		0,219 ± 0,009		-	1,09 ± 0,03
	Χλωρογενικό οξύ					
	1η διαδοχική		2η διαδοχική		3η διαδοχική	

	εκχύλιση		εκχύλιση		εκχύλιση	
	ΦΑ1	ΦΒ1	ΦΑ2	ΦΒ2	ΣΑ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στο εκχύλισμα (ppm ChAE)	19,20	20,10	3,20	3,11	TR	-
Μέση τιμή (ppm ChAE)	19,65 ± 0,64		3,15 ± 0,16		-	-
Συγκέντρωση στη φρέσκια σάρκα ($mg_{ChAE}/g_{σάρκας(fw)}$)	0,379	0,396	0,063	0,061	-	-
Μέση τιμή ($mg_{ChAE}/g_{σάρκας(fw)}$)	0,388 ± 0,013		0,062 ± 0,001		-	0,450 ± 0,013
Συγκέντρωση στην ξηρή σάρκα ($mg_{ChAE}/g_{σάρκας\ (dw)}$)	1,70	1,78	0,284	0,277	-	-
Μέση τιμή ($mg_{ChAE}/g_{σάρκας\ (dw)}$)	1,75 ± 0,06		0,280 ± 0,05		-	2,027 ± 0,057
	Ολικά φαινολικά οξέα (TPA)					
	1η διαδοχική εκχύλιση		2η διαδοχική εκχύλιση		3η διαδοχική εκχύλιση	
	ΦΑ1	ΦΒ1	ΦΑ2	ΦΒ2	ΣΑ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στη φρέσκια σάρκα ($mg_{ChAE}/g_{σάρκας(fw)}$)	0,576	0,587	0,113	0,109	-	-
Μέση τιμή ($mg_{ChAE}/g_{σάρκας(fw)}$)	0,581 ± 0,018		0,111 ± 0,003		-	0,692 ± 0,018
Συγκέντρωση στην ξηρή σάρκα ($mg_{ChAE}/g_{σάρκας\ (dw)}$)	2,60	2,64	0,507	0,490	-	-
Μέση τιμή ($mg_{ChAE}/g_{σάρκας\ (dw)}$)	2,62 ± 0,03		0,500 ± 0,014		-	3,121 ± 0,035

Πίνακας 7-27. Συγκέντρωση φαινολικών οξέων που υπολογίσθηκε στο μούρο αρώνιας βάσει των εκχυλίσεων των μερών του καρπού. fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Ολικά φαινολικά οξέα (mg_{ChAE}/z)		
	Νεοχλωρογενικό οξύ	Χλωρογενικό οξύ	Σύνολο
Νωπή μάζα καρπού – λόγω φλοιού ($z=g_{καρπού(fw)}$)	0,056 ± 0,003	0,112 ± 0,006	0,168 ± 0,010
Νωπή μάζα καρπού – λόγω σάρκας ($z=g_{καρπού\ (fw)}$)	0,208 ± 0,004	0,387 ± 0,007	0,595 ± 0,008
Νωπή μάζα καρπού ($z=g_{καρπού(fw)}$)	0,265 ± 0,005	0,501 ± 0,009	0,765 ± 0,01
Ξηρή μάζα καρπού ($z=g_{καρπού(dw)}$)	1,13 ± 0,02	2,14 ± 0,04	3,27 ± 0,05

Πίνακας 7-28. Συγκεντρώσεις των επιμέρους και ολικών φαινολικών οξέων στο φυσικό χυμό που παρασκευάσθηκε στο εργαστήριο. Για λόγους σύγκρισης, πρατίθενται και οι αντίστοιχες μετρήσεις φυσικού χυμού του εμπορίου. Στα Ολικά φαινολικά οξέα (TPA) έχουν συνυπολογισθεί και οι δευτερεύουσες κορυφές. dw = dry weight.

	Α δοκιμή χυμοποίησης	Β δοκιμή χυμοποίησης	Μέση τιμή χυμών Α,Β	Εμπορικό προϊόν
	Νεοχλωρογενικό οξύ			
Συγκέντρωση στο νωπό χυμό (ppm ChAE)	435	442	438 ± 5	127
Συγκέντρωση στον ξηρό χυμό ($mg_{ChAE}/g_{χυμού(dw)}$)	2,28	2,32	2,30 ± 0,03	0,67
	Χλωρογενικό οξύ			
Συγκέντρωση στο νωπό χυμό (ppm ChAE)	601	655	628 ± 37	161
Συγκέντρωση στον ξηρό χυμό ($mg_{ChAE}/g_{χυμού(dw)}$)	3,15	3,43	3,30 ± 0,19	1,83
	Ολικά φαινολικά οξέα (TPA)			
Συγκέντρωση στο νωπό χυμό (ppm ChAE)	1085	1148	1116 ± 45	654
Συγκέντρωση στον ξηρό χυμό ($mg_{ChAE}/g_{χυμού(dw)}$)	5,69	6,02	5,85 ± 0,24	3,66

Πίνακας 7-29. Συγκέντρωση ολικών φαινολικών οξέων που διαβιβάστηκαν από τον καρπό στο φυσικό χυμό αρώνιας μέσω της εργαστηριακής χυμοποίησης. fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Συγκέντρωση φαινολικών οξέων που διαβιβάστηκαν στο χυμό (mgChAE/z)		
	Α δοκιμή χυμοποίησης	Β δοκιμή χυμοποίησης	Μέση τιμή χυμών Α,Β
Νωπή μάζα πλήρους καρπού ($z=g_{καρπού(fw)}$)	0,535	0,505	0,521 ± 0,021
Ξηρή μάζα πλήρους καρπού ($z=g_{καρπού(dw)}$)	2,30	2,17	2,23 ± 0,09

Πίνακας 7-30. Φαινολικά οξέα που παρελήφθησαν από την εκχύλιση του παραπροϊόντος της χυμοποίησης αρώνιας σε ChAE (Chlorogenic Acid Equivalents). fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Α εκχύλιση	Β εκχύλιση	Μέση τιμή Α,Β
	Νεοχλωρογενικό οξύ		
Συγκέντρωση στο νωπό εκχύλισμα (ppm ChAE)	37,8	34,1	35,9 ± 2,6
Συγκέντρωση στο ξηρό υπόλειμμα ($mg_{ChAE}/g_{υπολείμματος(dw)}$)	0,623	0,669	0,646 ± 0,032
Συγκέντρωση στο νωπό υπόλειμμα ($mg_{ChAE}/g_{υπολείμματος(fw)}$)	0,207	0,223	0,215 ± 0,011
	Χλωρογενικό οξύ		
Συγκέντρωση στο νωπό εκχύλισμα (ppm ChAE)	57,4	52,0	54,7 ± 3,8
Συγκέντρωση στο ξηρό υπόλειμμα ($mg_{ChAE}/g_{υπολείμματος(dw)}$)	0,946	1,019	0,982 ± 0,051
Συγκέντρωση στο νωπό υπόλειμμα ($mg_{ChAE}/g_{υπολείμματος(fw)}$)	0,315	0,339	0,327 ± 0,017
	Ολικά φαινολικά οξέα (TPA)		
Συγκέντρωση στο νωπό εκχύλισμα (ppm ChAE)	93,1	84,0	88,5 ± 6,0
Συγκέντρωση στο ξηρό υπόλειμμα ($mg_{ChAE}/g_{υπολείμματος(dw)}$)	1,57	1,68	1,62 ± 0,08
Συγκέντρωση στο νωπό υπόλειμμα ($mg_{ChAE}/g_{υπολείμματος(fw)}$)	0,522	0,562	0,542 ± 0,025

Πίνακας 7-31. Συγκέντρωση ολικών φαινολικών οξέων που διαβιβάστηκαν από τον καρπό στο εκχύλισμα του παραπροϊόντος της χυμοποίησης αρώνιας. fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Συγκέντρωση φαινολικών οξέων που διαβιβάστηκαν στο εκχύλισμα του υπολείμματος (mgChAE/z)		
	Α εκχύλιση	Β εκχύλιση	Μέση τιμή Α,Β
Νωπή μάζα πλήρους καρπού ($z=g_{καρπού(fw)}$)	0,266	0,286	0,276 ± 0,014
Ξηρή μάζα πλήρους καρπού ($z=g_{καρπού(dw)}$)	1,143	1,229	1,18 ± 0,06

Πίνακας 7-32. Συγκεντρώσεις φλαβονολών που παρελήφθησαν από τις διαδοχικές εκχυλίσεις φλοιών αρώνιας. QRE = Quercetin Rutinoside Equivalents, fw = fresh weight, dw = dry weight

	Ολικές φλαβονόλες (TF)						
	1η διαδοχική εκχύλιση		2η διαδοχική εκχύλιση		3η διαδοχική εκχύλιση		
	ΦΑ1	ΦΒ1	ΦΑ2	ΦΒ2	ΦΑ3	ΦΒ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στο φρέσκο φλοιό ($mg_{QRE}/g_{φλοιού(fw)}$)	1,68	1,62	0,124	0,123	TR	TR	-
Μέση τιμή ($mg_{QRE}/g_{φλοιού(fw)}$)	1,65 ± 0,04		0,124 ± 0,001		-		1,78 ± 0,04
Συγκέντρωση στον ξηρό φλοιό ($mg_{QRE}/g_{φλοιού(dw)}$)	5,20	5,00	0,383	0,380	-	-	-
Μέση τιμή ($mg_{QRE}/g_{φλοιού(dw)}$)	5,10 ± 0,14		0,382 ± 0,002		-		5,48 ± 0,14

Πίνακας 7-33. Συγκεντρώσεις φλαβονολών που παρελήφθησαν από τις διαδοχικές εκχυλίσεις αποφλοιωμένων καρπών αρώνιας. QRE = Quercetin Rutinoside Equivalents, fw = fresh weight, dw = dry weight

	Ολικές φλαβονόλες (TF)					
	1η διαδοχική εκχύλιση		2η διαδοχική εκχύλιση		3η διαδοχική εκχύλιση	
	ΣΑ1	ΣΒ1	ΣΑ2	ΣΒ2	ΣΑ3	Σύνολο
Συγκέντρωση στη φρέσκια σάρκα ($mg_{QRE}/g_{σάρκας(fw)}$)	0,296	0,292	0,47	0,045	-	-
Μέση τιμή ($mg_{QRE}/g_{σάρκας(fw)}$)	0,294 ± 0,003		0,046 ± 0,002		-	0,339 ± 0,003
Συγκέντρωση στην ξηρή σάρκα ($mg_{QRE}/g_{σάρκας\ (dw)}$)	1,33	1,31	0,21	0,20	-	-
Μέση τιμή ($mg_{QRE}/g_{σάρκας\ (dw)}$)	1,32 ± 0,01		0,21 ± 0,01		-	1,52 ± 0,01

Πίνακας 7-34. Συγκέντρωση φλαβονολών που υπολογίσθηκε στο μούρο αρώνιας βάσει των εκχυλίσεων των μερών του καρπού. QRE = Quercetin Rutinoside Equivalents, fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Ολικές φλαβονόλες - TF (mg_{QRE}/z)
Νωπή μάζα καρπού – λόγω φλοιού ($z=g_{καρπού(fw)}$)	0,249 ± 0,006
Νωπή μάζα καρπού – λόγω σάρκας ($z=g_{καρπού\ (fw)}$)	0,292 ± 0,003
Νωπή μάζα καρπού ($z=g_{καρπού(fw)}$)	0,541 ± 0,007
Ξηρή μάζα καρπού ($z=g_{καρπού(dw)}$)	2,32 ± 0,002

Πίνακας 7-35. Συγκέντρωση των ολικών φλαβονολών στο φυσικό χυμό που παρασκευάσθηκε στο εργαστήριο. Για λόγους σύγκρισης, παρατίθενται και οι αντίστοιχες μετρήσεις φυσικού χυμού του εμπορίου. QRE = Quercetin Rutinoside Equivalents, dw = dry weight.

	Α δοκιμή χυμοποίησης	Β δοκιμή χυμοποίησης	Μέση τιμή χυμών Α,Β	Εμπορικό προϊόν
	Ολικές φλαβονόλες (TF)			
Συγκέντρωση στο νωπό χυμό (ppm RE)	277	260	269 ± 12	57,4
Συγκέντρωση στον ξηρό χυμό ($mg_{QRE}/g_{χυμού(dw)}$)	1,41	1,32	1,37 ± 0,06	0,322

Πίνακας 7-36. Συγκέντρωση ολικών φλαβονολών που διαβιβάστηκαν από τον καρπό στο φυσικό χυμό αρώνιας μέσω της εργαστηριακής χυμοποίησης. QRE = Quercetin Rutinoside Equivalents, fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Συγκέντρωση φλαβονολών που διαβιβάστηκαν στο χυμό (mg_{QRE}/z)		
	Α δοκιμή χυμοποίησης	Β δοκιμή χυμοποίησης	Μέση τιμή χυμών Α,Β
Νωπή μάζα πλήρους καρπού ($z=g_{καρπού(fw)}$)	0,130	0,114	0,122 ± 0,011
Ξηρή μάζα πλήρους καρπού ($z=g_{καρπού(dw)}$)	0,556	0,491	0,524 ± 0,046

Πίνακας 7-37. Φλαβονόλες που παρελήφθησαν από την εκχύλιση του παραπροϊόντος της χυμοποίησης αρώνιας σε QRE (Quercetin Rutinoside Equivalents). fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Α εκχύλιση	Β εκχύλιση	Μέση τιμή Α,Β
	Ολικές φλαβονόλες (TF)		
Συγκέντρωση στο νωπό εκχύλισμα (ppm QRE)	87,7	80,6	84,1 ± 5,0
Συγκέντρωση στο ξηρό υπόλειμμα ($mg_{QRE}/g_{υπολείμματος(dw)}$)	1,445	1,579	1,512 ± 0,095
Συγκέντρωση στο νωπό υπόλειμμα ($mg_{QRE}/g_{υπολείμματος(fw)}$)	0,481	0,526	0,503 ± 0,032

Πίνακας 7-38. Συγκέντρωση ολικών φλαβονολών που διαβιβάστηκαν από τον καρπό στο εκχύλισμα του παραπροϊόντος της χυμοποίησης αρώνιας. QRE = Quercetin Rutinoside Equivalents, fw = fresh weight, dw = dry weight.

	Συγκέντρωση φλαβονολών που διαβιβάστηκαν στο εκχύλισμα του υπολείμματος (mg_{QRE}/z)		
	Α εκχύλιση	Β εκχύλιση	Μέση τιμή Α,Β
Νωπή μάζα πλήρους καρπού ($z=g_{καρπού(fw)}$)	0,245	0,268	0,257 ± 0,016
Ξηρή μάζα πλήρους καρπού ($z=g_{καρπού(dw)}$)	0,593	0,648	0,621 ± 0,039

Πίνακας 7-39. Συγκεντρώσεις ταννινών (προανθοκυανιδινών) στο φυσικό χυμό της αρώνιας. dw = dry weight

	Α δοκιμή χυμοποίησης	Β δοκιμή χυμοποίησης	Μέση τιμή χυμών Α,Β	Εμπορικό προϊόν
	Ολικές ταννίνες (TPr)			
Συγκέντρωση στο νωπό χυμό (ppm GAE)	2111	2268	2190 ± 108	27,9
Συγκέντρωση στον ξηρό χυμό ($mg_{GAE}/g_{χυμού(dw)}$)	10,71	11,51	11,12 ± 0,57	0,157

Πίνακας 7-40. Αναγωγικά σάκχαρα φυσικού χυμού αρώνιας. dw = dry weight

	Α δοκιμή χυμοποίησης	Β δοκιμή χυμοποίησης	Μέση τιμή χυμών Α,Β	Εμπορικό προϊόν
	Ολικά αναγωγικά σάκχαρα			
Συγκέντρωση στο νωπό χυμό (g/100mL)	5,336	5,272	5,304 ± 0,045	5,683
Συγκέντρωση στον ξηρό χυμό ($g/g_{χυμού(dw)}$)	0,271	0,268	0,269 ± 0,0023	0,319

Στατιστική ανάλυση

Πίνακας 7-41. Συσχέτιση μεταξύ των κατά βάρος στερεών/φλοιό και των φαινολών/φλοιό (σε ξηρή βάση) με ανάλυση Pearson (IBM SPSS Statistics)

Correlations

		solids_dryskin	TPC_dryskin
solids_dryskin	Pearson Correlation	1	,998*
	Sig. (2-tailed)		,036
	N	3	3
TPC_dryskin	Pearson Correlation	,998*	1
	Sig. (2-tailed)	,036	
	N	3	3

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Πίνακας 7-42. Συσχέτιση μεταξύ των κατά βάρος στερεών/σάρκα και των φαινολών/στερεά (σε ξηρή βάση) με ανάλυση Pearson (IBM SPSS Statistics)

Correlations

		solids_dryflesh	TPC_dryflesh
solids_dryflesh	Pearson Correlation	1	,988
	Sig. (2-tailed)		,098

	N	3	3
TPC_dryflesh	Pearson Correlation	,988	1
	Sig. (2-tailed)	,098	
	N	3	3

Πίνακας 7-43. Συσχέτιση μεταξύ της παραλαβής ανθοκυανών από τη σάρκα και το φλοιό (σε ξηρή βάση) με ανάλυση Pearson (IBM SPSS Statistics)

Correlations

		tanth_skin	tanth_flesh
TAnth_dryskin	Pearson Correlation	1	1,000*
	Sig. (2-tailed)		,017
	N	3	3
TAnth_dryflesh	Pearson Correlation	1,000*	1
	Sig. (2-tailed)	,017	
	N	3	3

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Πίνακας 7-44. Συσχέτιση κινητικών ανάκτησης πολυφαινολών και ουσιών με αντιριζική δράση από τον αποξηραμένο καρπό (σε ξηρή βάση) με ανάλυση Pearson (IBM SPSS Statistics)

Correlations

		TPC_apox_dry	TAC_apox_dry
TPC_apox_dry	Pearson Correlation	1	,998**
	Sig. (2-tailed)		<,001
	N	10	10
TAC_apox_dry	Pearson Correlation	,998**	1
	Sig. (2-tailed)	<,001	
	N	10	10

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).