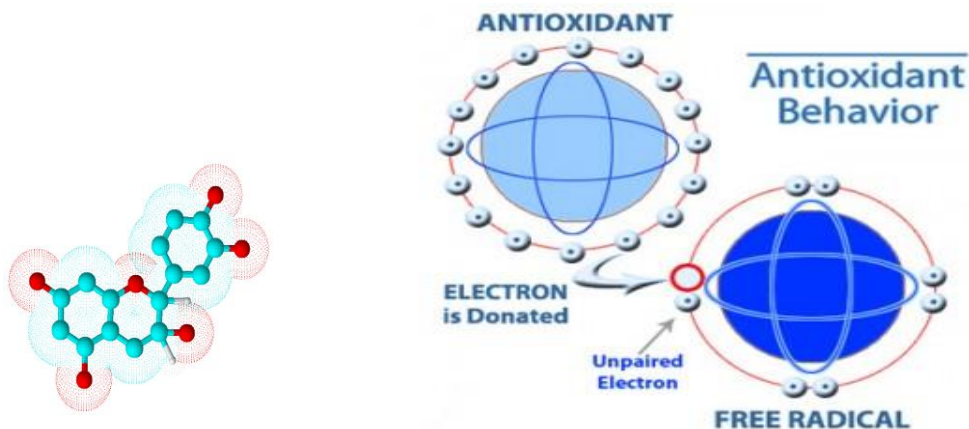




**ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ**  
**ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ**  
*Τομέας IV: Σύνθεσης και Ανάπτυξης Βιομηχανικών Διαδικασιών*  
*Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων*

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

# **ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΣΕ ΕΔΩΔΙΜΑ ΕΛΑΙΑ**



**ΒΑΓΕΝΑ ΕΛΕΝΗ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΩΡΑΙΟΠΟΥΛΟΥ ΒΑΣΙΛΙΚΗ**

**ΑΘΗΝΑ 2013**



*Στους γονείς μου,  
Μαγδαληνή και Ιωάννη*

## **ΠΡΟΛΟΓΟΣ - ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Η πραγματοποίηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας έλαβε χώρα στο εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του τομέα Σύνθεσης και Ανάπτυξης Βιομηχανικών Διεργασιών της σχολής Χημικών Μηχανικών του Ε.Μ.Π. Η ανάθεση και επίβλεψη του θέματος έγινε από την καθηγήτρια Ωραιοπούλου Βασιλική, ενώ στην τριμελή εξεταστική επιτροπή συμμετείχαν επίσης και οι καθηγητές Τζια Κωνσταντίνα και Ταούκης Πέτρος.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την κα. Βασιλική Ωραιοπούλου για την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος της διπλωματικής εργασίας, καθώς και για την συνεχή επίβλεψη και συστηματική καθοδήγησή της κατά τη διάρκεια εκπόνησής της.

Επίσης, θα θελα να ευχαριστήσω τον διδάκτορα κ. Δημήτρη Τσιμογιάννη καθώς και την υποψήφια διδάκτορα Ιωάννα Παπαδάκη για την πολύτιμη βοήθειά τους και την αμέριστη συμπαράστασή τους σε αυτή μου την προσπάθεια. Η συμβολή τους στην πραγματοποίηση της παρούσας εργασίας ήταν σημαντική και η διάθεση και επιμονή τους να με καθοδηγήσουν σωστά σε κάθε βήμα, με βοήθησε όχι μόνο στην επίτευξη του στόχου μου, αλλά και ψυχολογικά.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω το προσωπικό του Οριζόντιου Εργαστηρίου για τη βοήθεια του κατά την πραγματοποίηση των αναλύσεων στο φασματοόμετρο μάζας ICP-MS.

Φυσικά, δεν θα μπορούσα να παραλείψω να ευχαριστήσω το προσωπικό του εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων για τη διάθεσή του να μου προσφέρει την βοήθειά του όποτε τη χρειαζόμουν, αλλά και για το ευχάριστο κλίμα συνεργασίας που πάντα φρόντιζε να υπάρχει.

Τέλος, θα θελα να ευχαριστήσω από καρδιάς την οικογένειά μου, καθώς και τους Κορίνα Αντωνιάδου και Βασίλη Μπούτση που με στήριξαν ψυχολογικά σε αυτήν την προσπάθεια και βρίσκονταν πάντα εκεί για να μου δώσουν κουράγιο να συνεχίσω μέχρι τελικά να πετύχω το στόχο μου.



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τελευταία χρόνια, τα φυσικά φαινορικά αντιοξειδωτικά κερδίζουν ολοένα και περισσότερο ενδιαφέρον λόγω της δυνατότητάς τους να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την οξείδωση που υφίστανται τα τρόφιμα. Λιπιδιακά υποστρώματα, όπως είναι τα έλαια, είναι επιρρεπή στην οξείδωση, η έκταση της οποίας εξαρτάται από παράγοντες όπως το περιεχόμενο των ελαίων σε ακόρεστα κυρίως λιπαρά οξέα, καθώς και σε τοκοφερόλες και μέταλλα. Η κατεχίνη, η κερκετίνη και το ροσμαρινικό οξύ είναι φαινορικά συστατικά τα οποία απαντώνται στη φύση και έχει αποδειχτεί η ικανότητα που έχουν να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες και έτσι αναμένεται να μπορούν να προστατεύουν τα λίπη από την οξειδωτική υποβάθμιση και να αυξάνουν τη διάρκεια ζωής των προϊόντων που περιέχουν λίπη. Σε αυτήν τη μελέτη εκτιμήθηκε η σταθερότητα που μπορούν να προσδώσουν σε διάφορα έλαια τα συγκεκριμένα αντιοξειδωτικά και συσχετίστηκε με το περιεχόμενό τους σε λιπαρά οξέα, μέταλλα και τοκοφερόλες. Τα έλαια τα οποία μελετήθηκαν ήταν το σογιέλαιο, το ηλιέλαιο, το αραβοσιτέλαιο, το βαμβακέλαιο και το ιχθυέλαιο.

Αρχικά αξιολογήθηκε η δράση των αντιοξειδωτικών μέσω της ικανότητάς τους να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες DPPH. Στη συνέχεια, τα αντιοξειδωτικά προστέθηκαν στα διάφορα έλαια, τα οποία υποβλήθηκαν σε επιταχυνόμενη οξείδωση στους 60°C για 3 βδομάδες. Ακολούθησε ανάλυση του περιεχομένου τους σε τοκοφερόλες και μέταλλα με τη βοήθεια της Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης (HPLC) και της Φασματομετρίας Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (ICP-MS) αντίστοιχα και προέκυψαν συγκριτικά αποτελέσματα για τα διάφορα αντιοξειδωτικά σε σχέση με το περιεχόμενο του κάθε ελαίου σε λιπαρά οξέα, τοκοφερόλες και μέταλλα. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως το αραβοσιτέλαιο ήταν το πιο σταθερό έλαιο από τα σπορέλαια, ενώ ακολούθησε το βαμβακέλαιο, το σογιέλαιο και το ηλιέλαιο. Το καλύτερο αντιοξειδωτικό φάνηκε να είναι το ροσμαρινικό οξύ, πιθανόν λόγω της ικανότητάς του να προστατεύει, ως φαινολικό οξύ, την α τοκοφερόλη, ενώ η κερκετίνη και η κατεχίνη εμφάνισαν στις περισσότερες περιπτώσεις ανταγωνιστική συμπεριφορά με την α τοκοφερόλη. Το ιχθυέλαιο οξειδώθηκε αρκετά γρήγορα και μόνο η κερκετίνη και το ροσμαρινικό οξύ φάνηκε να είναι αποτελεσματικά, ενώ η κατεχίνη δεν του παρείχε προστασία από την οξείδωση.

Τέλος, λόγω της υψηλής αντιοξειδωτικής ικανότητας που προσέφερε το ροσμαρινικό οξύ στα περισσότερα έλαια, έγινε προσπάθεια απομόνωσής του από αιθανολικά εκχυλίσματα και

---

καταφέραμε να ανακτήσουμε περίπου το 60% της αρχικής διαθέσιμης ποσότητας ροσμαρινικού οξέως.

---

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελίδα

<b>A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	5
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΛΙΠΙΔΙΑ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΣΗ</b> .....	5
1.1 Μηχανισμός οξείδωσης.....	6
1.2 Ρυθμοί οξείδωσης λιπαρών οξέων.....	8
1.3 Κινητική αντίδρασης οξείδωσης.....	11
1.4 Περιεχόμενο ελαίων σε λιπαρά οξέα.....	12
1.5 Οξειδωτική σταθερότητα ελαίων με βάση το περιεχόμενό τους σε λιπαρά οξέα.....	18
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ</b> .....	21
2.1 Γενικά.....	21
2.2 Τοκοφερόλες.....	25
2.2.1 Γενικά - Δομή.....	25
2.2.2 Δραστικότητα τοκοφερολών.....	26
2.2.3 Περιεχόμενο ελαίων σε τοκοφερόλες.....	29
2.3 Φλαβονοειδή.....	32
2.3.1 Γενικά - Δομικά χαρακτηριστικά φλαβονοειδών.....	32
2.3.2 Κατεχίνη. Δομή και δράση σε έλαια.....	35
2.3.3 Κερκετίνη. Δομή και δράση σε έλαια.....	39
2.4 Φαινολικά οξέα: Ροσμαρινικό οξύ.....	43
2.4.1 Δομή και δράση σε έλαια.....	43



2.5 Δράση φαινολικών αντιοξειδωτικών με τοκοφερόλες.....	45
2.5.1 Κατεχίνη – Τοκοφερόλες.....	45
2.5.2 Κερκετίνη – Τοκοφερόλες.....	47
2.5.3 Ροσμαρινικό οξύ – Τοκοφερόλες.....	48
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΤΟ ΡΥΘΜΟ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΗ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ.....</b>	<b>49</b>
3.1 Τα μέταλλα ως υποκινητές .....	51
3.2 Σύμπλοκα μετάλλων από φλαβονοειδή.....	51
3.2.1 Σύμπλοκα σιδήρου.....	52
3.2.2 Σύμπλοκα χαλκού.....	55
3.2.3 Σύμπλοκα ψευδαργύρου.....	56
3.3 Σύμπλοκα μετάλλων - ροσμαρινικού οξέως.....	57
<b>B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>58</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....</b>	<b>58</b>
4.1 Σκοπός.....	58
4.2 Σχεδιασμός πειραμάτων.....	58
4.3 Πρώτες ύλες – Αντιδραστήρια.....	59
4.4 Συσκευές.....	60
4.5 Πειραματικές τεχνικές.....	60
4.5.1 Δοκιμή δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH.....	60
4.5.2 Πειράματα οξείδωσης ελαίων και προσδιορισμός δράσης αντιοξειδωτικών.....	62

4.5.3 Μέθοδος ανάκτησης ροσμαρινικού οξέως με HPLC.....	63
4.5.4 Προσδιορισμός περιεχομένου τοκοφερολών.....	65
4.5.5 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης βαρέων μετάλλων.....	65
4.5.6 Ανάκτηση ροσμαρινικού οξέως.....	66
<b>Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>67</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ.....</b>	<b>67</b>
5.1 Δοκιμή δέσμευσης ρίζας DPPH.....	67
5.2 Οξειδωση ελαίων.....	70
5.3 Περιεχόμενο ελαίων σε βαρέα μέταλλα.....	81
5.4 Περιεχόμενο ελαίων σε λιπαρά οξέα.....	82
5.5 Περιεχόμενο ελαίων σε τοκοφερόλες.....	83
5.6 Ποσοτικός προσδιορισμός ροσμαρινικού οξέως σε αιθανολικά εκχυλίσματα και ανάκτησή του.....	89
<b>Δ. ΜΕΡΟΣ: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>93</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ.....</b>	<b>93</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>95</b>
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....</b>	<b>111</b>



# **A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## **1. ΛΙΠΙΔΙΑ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΣΗ**

Με τον όρο οξείδωση των λιπιδίων εννοούμε την αντίδραση των λιπιδίων με το οξυγόνο, η οποία έχει σαν αποτέλεσμα την αποδόμησή τους και κατά συνέπεια οδηγεί στην ποιοτική υποβάθμιση των λιπαρών υλών. Η οξείδωση πραγματοποιείται μέσω αλυσιδωτών αντιδράσεων ελευθέρων ριζών (αυτοοξείδωση- autoxidation) και οι παράγοντες που συμβάλλουν σε αυτή είναι η ηλιακή ή θερμική ενέργεια, η κατάλυση από μέταλλα ή ενζυμικά συστήματα ή ρίζες οξυγόνου. Η οξείδωση των φυτικών ελαίων επηρεάζει αρνητικά τα λιπίδια και τις λιποδιαλυτές βιταμίνες προκαλώντας άσχημη γεύση, απώλεια θρεπτικής αξίας, αποχρωματισμό και παραγωγή δυνητικά τοξικών ενώσεων. Η έκταση αυτών των μεταβολών εξαρτάται από τη φύση της τροφής (σύνθεση λιπαρών οξέων, τη θέση, τον αριθμό, τη γεωμετρία και τη σύζευξη των διπλών δεσμών, τα προοξειδωτικά, τις χηλικές ενώσεις και τα αντιοξειδωτικά) και από το φυσικοχημικό περιβάλλον δηλ. το οξυγόνο, την υγρασία, τη θερμότητα και το φως κατά την επεξεργασία, τη συσκευασία και την αποθήκευση. Η παρατεταμένη έκθεση των φυτικών ελαίων σε ατμοσφαιρικό οξυγόνο υπό την παρουσία καταλυτών όπως μεταλλικά ιόντα έχει σαν αποτέλεσμα την εκτεταμένη φθορά τους. Η πλήρης εξάλειψη του οξυγόνου είναι αδύνατη, επειδή μπορεί να είναι ήδη στο έλαιο επαρκές οξυγόνο ώστε να προωθήσει την οξειδωτική του υποβάθμιση.

Η αυτοοξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων περιλαμβάνει την παραγωγή ελευθέρων ριζών μέσω μιας αντίδρασης που καταλύεται από τους παραπάνω παράγοντες (θερμότητα, φως, ίχνη μετάλλων ή ένζυμα). Οι ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται διαδίδουν την αυτοοξείδωση καθώς αντιδρούν με οξυγόνο προκειμένου να σχηματίσουν υδροϋπεροξειδία, τα οποία χρησιμοποιούνται για την παραγωγή άλλων νέων ελευθέρων ριζών. Η αντίδραση τερματίζεται με το σχηματισμό σταθερών ενώσεων μέσω διμερισμού των ελευθέρων ριζών. Τα υδροϋπεροξειδία που σχηματίζονται μπορούν να μετρηθούν με μεθόδους τιτλοδοτήσεως και η συγκέντρωσή τους χρησιμοποιείται σαν μέτρο έκτασης της οξείδωσης και αποτελεί τη βάση της δοκιμής υπεροξειδίων (peroxide test).

Τα επίπεδα των υπεροξειδίων ωστόσο εξαρτώνται από την θερμοκρασία [1] και διάφορες μελέτες έδειξαν την αύξηση του σχηματισμού των υδροϋπεροξειδίων με την αύξηση της θερμοκρασίας και της δόσης ακτινοβολίας σε διάφορα φυτικά έλαια όπως το ηλιέλαιο, σογιέλαιο, φοινικέλαιο και άλλα [2,3].

Παρακάτω παρουσιάζεται αναλυτικά ο μηχανισμός οξειδωσης.

### 1.1 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ

Θεωρητικά η οξειδωση των λιπιδίων είναι μια αλυσιδωτή αντίδραση ελευθέρων ριζών μεταξύ ακόρεστων λιπών και οξυγόνου.

Ο συνολικός μηχανισμός της οξειδωσης των λιπιδίων περιλαμβάνει τρία στάδια:

#### A) Την έναρξη και το σχηματισμό των ελευθέρων ριζών.

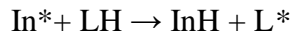
Ως ελεύθερη ρίζα ορίζεται κάθε είδος ατόμου ή χημικής ένωσης που έχει την ικανότητα ανεξάρτητης (ελεύθερης) ύπαρξης και μπορεί να περιέχει ένα ή και περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Οι περισσότερες ελεύθερες ρίζες είναι ασταθείς ενώσεις, οι οποίες οξειδώνουν συγκεκριμένο μόριο-στόχο, κυρίως μακρομόριο. Ο μηχανισμός δράσης των ελευθέρων ριζών στηρίζεται στην ακόλουθη αρχή: Πρώτα δημιουργείται η ελεύθερη ρίζα που αποτελεί ισχυρό οξειδωτικό παράγοντα (έναρξη). Η δημιουργία ελευθέρων ριζών πιθανόν να οφείλεται και σε μοριακό μηχανισμό από το οξυγόνο απλής διεγερμένης κατάστασης. Το τελευταίο σχηματίζεται με την παρουσία φωτός και φωτοευαισθητοποιητή π.χ. χλωροφύλλης. Επίσης, κάποια μέταλλα όπως ο σίδηρος και ο χαλκός προκαλούν το σχηματισμό νέων ριζών και έτσι δρουν ως προοξειδωτικά.

B) Τη διάδοση με τις αλυσιδωτές αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών. Από την αντίδραση των ελευθέρων ριζών με μη ριζικά μόρια προκύπτουν νέες ελεύθερες ρίζες. Έτσι με αυτόν τον τρόπο οι αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών τείνουν να είναι αλυσιδωτές, αναγεννώντας συνεχώς νέα άτομα ή ενώσεις με ασύζευκτα ηλεκτρόνια .

Γ) Τον τερματισμό και το σχηματισμό μη ριζικών προϊόντων. Η αντίδραση σταματάει όταν όλες οι ελεύθερες ρίζες αντιδράσουν προς προϊόντα που δεν περιέχουν πλέον νέες ελεύθερες ρίζες.

Παρακάτω συνοψίζεται ένα απλό σχήμα για το μηχανισμό των ελευθέρων ριζών [4].

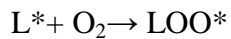
Έναρξη:



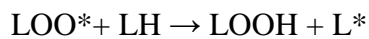
*In\**: (εκκινητής, π.χ.  $\text{O}_2$ )

*L\**: (αλκυλο-ρίζα)

Διάδοση:

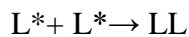
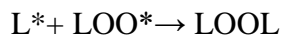
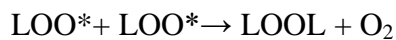


*LOO\**: (περοξυλική ρίζα)



*LOOH*: (υδροϋπεροξειδίο λιπιδίου)

Τερματισμός:



Στο **στάδιο έναρξης**, μία ρίζα λιπαρού οξέος, γνωστή ως αλκυλο-ρίζα ( $\text{L}^*$ ) σχηματίζεται από την αφαίρεση ενός υδρογόνου από ένα λιπαρό οξύ υπό την παρουσία ενός εκκινητή ( $\text{In}^*$ ). Μόλις σχηματιστεί η αλκυλο-ρίζα, το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο μπορεί να μεταφερθεί πάνω από το διπλό δεσμό με αποτέλεσμα την μετατόπιση του διπλού δεσμού και στην περίπτωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων σχηματίζονται συζευγμένοι διπλοί δεσμοί. Στα λάδια η ευκολία σχηματισμού ριζών αλκυλίου σε λιπαρά οξέα αυξάνεται με την αύξηση της ακορεστότητας.

Το πρώτο βήμα της διάδοσης περιλαμβάνει την προσθήκη οξυγόνου στην αλκυλο-ρίζα με αποτέλεσμα τον σχηματισμό υπεροξυδικής ρίζας ( $\text{LOO}^*$ ) η οποία έχει υψηλότερη ενέργεια από το αλκύλιο. Έτσι η υπεροξυδική ρίζα μπορεί να αφαιρέσει υδρογόνο από ένα άλλο ακόρεστο λιπαρό οξύ και να παράγει ένα υδροϋπεροξειδίο λιπιδίου ( $\text{LOOH}$ ) και μία νέα ρίζα αλκυλίου.

Η αλληλεπίδραση των δύο ελεύθερων ριζών για το σχηματισμό μη ριζικών ειδών **ολοκληρώνει τη διεργασία**. Αυτό το βήμα δεν είναι τόσο σημαντικό σε πολλά τρόφιμα, όπως η έναρξη και η

διάδοση, δεδομένου ότι τα τρόφιμα είναι ήδη ταγγισμένα πριν σημαντικές αντιδράσεις τερματισμού λάβουν χώρα [4].

## 1.2 ΡΥΘΜΟΙ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ

Οι περισσότερες μελέτες ισχυρίζονται πως η οξειδωτική αστάθεια των διαφόρων λιπαρών οξέων αυξάνει με τον αριθμό των διπλών δεσμών στο κάθε μόριο [6,30,31,32,33]. Έτσι, η σειρά οξειδωτικής αστάθειας των λιπαρών οξέων αυξάνεται ως εξής:

Παλμιτικό και στεατικό οξύ (κορεσμένα) < ελαϊκό οξύ (ένας διπλός δεσμός) < λινελαϊκό οξύ (δύο διπλοί δεσμοί) < λινολενικό οξύ (τρεις διπλοί δεσμοί)

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται η αναλογία των ρυθμών οξείδωσης των τριών λιπαρών οξέων (ελαϊκό οξύ (C18:1):λινελαϊκό οξύ (C18:2):λινολενικό οξύ (C18:3)) που παρατηρήθηκε σε διάφορες θερμοκρασίες σε διάφορες μελέτες.

Πίνακας 1.1: Αναλογία ρυθμών οξείδωσης ελαϊκού οξέως/λινελαϊκού οξέως/λινολενικού οξέως

A/A	(C18:1):(C18:2):(C18:3)	Είδος ρυθμού	T(°C)	πηγή
1	1:12:25	Ρυθμός σχηματισμού υπεροξειδίων	~100	32, 34
2	1:10:16	Ρυθμός απορρόφησης οξυγόνου	100	35
3	1/12-1/15:1:2	Ρυθμός σχηματισμού υπεροξειδίων	~100	36
4	1:40-50:100	Ρυθμός κατανάλωσης οξυγόνου	300	37
5	1:1,8:2,6	Ρυθμός κατανάλωσης οξυγόνου	έως 100	38

Σε χαμηλές θερμοκρασίες, ακόμα και της τάξεως των 20°C, το οξυγόνο αρχίζει να αντιδρά με τις μεθυλικές ομάδες για να σχηματίσει υδροϋπεροξειδία. Όταν η θερμοκρασία φτάσει γύρω στους 55-85°C η αντίδραση της οξείδωσης γίνεται πιο έντονη και τα υδροϋπεροξειδία αυξάνονται με μεγαλύτερο ρυθμό. Σε αυτές τις θερμοκρασίες, η οξείδωση χαρακτηρίζεται από μία περίοδο επώασης [36]. Καθώς η θερμοκρασία αυξάνεται και προσεγγίζει τους 120 °C η περίοδος επώασης τείνει να εξαφανιστεί εντελώς και σχηματίζονται καρβονυλικές ομάδες, διοξειδίο του άνθρακα και πολυμερή. Σε υψηλότερες θερμοκρασίες πραγματοποιείται η αποικοδόμηση των λιπαρών οξέων. Συγκεκριμένα, στο θερμοκρασιακό διάστημα 200-380°C λαμβάνει χώρα η αποσύνθεση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, ενώ από 380-480°C γίνεται αποσύνθεση των μονοακόρεστων. Τέλος, ακολουθεί η αποσύνθεση κορεσμένων λιπαρών οξέων ( 480-600 °C) [24].

Συγκρίνοντας τις τιμές του πίνακα 1.1, προκύπτει ότι ο ρυθμός οξείδωσης των λιπαρών οξέων, όσον αφορά το σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων, εξετάζεται μέχρι τη θερμοκρασία των 100°C και είναι διαφορετικός για το κάθε λιπαρό οξύ. Συγκεκριμένα, ο αντίστοιχος ρυθμός του λινολενικού οξέως είναι σχεδόν διπλάσιος από αυτόν του λινελαϊκού, ο οποίος με τη σειρά του είναι περίπου δώδεκα φορές μεγαλύτερος από τον ρυθμό οξείδωσης του ελαϊκού. Σε αυτά τα αποτελέσματα κατέληξε πρώτος ο Labuza [32] και ακολούθησαν και άλλοι ερευνητές που τα επιβεβαίωσαν [34,37,39, 40,41]. Οι Min and Akoh [34] εξήγησαν το συγκεκριμένο αποτέλεσμα με βάση το γεγονός, πως το λινολενικό οξύ έχει δύο πενταδιενυλικές ομάδες στο μόριο, συγκρινόμενο με το λινελαϊκό οξύ που έχει μόνο μία. Όπως παρατηρούμε, λοιπόν από τα αποτελέσματα των ρυθμών οξείδωσης των λιπαρών οξέων, είναι γεγονός, πως η κύρια αιτία της αυτοοξείδωσης των ελαίων σχετίζεται με τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και λιγότερο με τα μονοακόρεστα και ειδικά σε περιπτώσεις που η θερμοκρασία είναι υψηλή και προσεγγίζει τους 100 °C. Σύμφωνα με τον Swern [36], όταν οι διπλοί δεσμοί στα λιπαρά οξέα διαχωρίζονται από περισσότερες από μία μεθυλικές ομάδες, ο ρυθμός αντίδρασης για κάθε διπλό δεσμό φτάνει αυτόν των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων. Ο Frankel [42] επίσης, ανέφερε ότι χαμηλά επίπεδα λινολενικών υδροϋπεροξειδίων μπορούν ίσως να καταλύσουν την οξείδωση του λινολεϊκού οξέως και ως εκ τούτου να παραχθούν περισσότερα υδροϋπεροξειδία κατά τη διάρκεια της μακροπρόθεσμης αποθήκευσης των ελαίων.



Από την άλλη, οι διάφορες μελέτες που έχουν γίνει σχετικά με το ρυθμό κατανάλωσης οξυγόνου για τα παραπάνω λιπαρά οξέα έχουν δώσει διαφορετικά αποτελέσματα.

Οι Verzelloni et al. [35] έδειξαν πως σε θερμοκρασία 100°C, η αναλογία του ρυθμού απορρόφησης οξυγόνου του στεατικού οξέως : ελαϊκού οξέως : λινελαϊκού οξέως : λινολενικού οξέως είναι 1:11:114:179.

Ο Frankel [37] βρήκε πως η αναλογία οξείδωσης ελαϊκού:λινελαϊκού:λινολενικού οξέως ήταν 1:40–50:100 όσον αφορά την κατανάλωση οξυγόνου.

Οι Doleiden et al. [38] από την άλλη, ανέφεραν τους ρυθμούς αντίδρασης του απλού οξυγόνου με το ελαϊκό, λινελαϊκό και λινολενικό οξύ, οι οποίοι ήταν  $0,74 * 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ,  $1,3 * 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , και  $1,9 * 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  αντίστοιχα, και είναι ανάλογοι με τον αριθμό των διπλών δεσμών στα μόρια. Αυτή η αναλογία ρυθμών οξείδωσης από το οξυγόνο (1:1,8:2,6) διαφέρει αρκετά από τις προηγούμενες [35,37] και πιθανώς να σχετίζεται με τη θερμοκρασία στην οποία πραγματοποιήθηκε η κάθε έρευνα. Οι Doleiden et al. [38] μελέτησαν τον ρυθμό σε διάφορες θερμοκρασίες έως 100 °C, οι Verzelloni et al. στους 100 °C [35] και ο Frankel στους 300 °C [37]. Από τα αποτελέσματα αυτά μπορούμε να καταλάβουμε πως όσο αυξάνεται η θερμοκρασία, τόσο αυξάνεται και ο ρυθμός με τον οποίο καταναλώνεται το οξυγόνο από τα λιπαρά οξέα.

Άλλοι, πάλι, μελετητές προσπάθησαν να προσεγγίσουν το ρυθμό οξείδωσης με βάση την αναλογία λινελαϊκού-στεατικού οξέως. Συγκεκριμένα, οι Augustin et al. [43] κατέληξαν στο γεγονός ότι οι διαφορές στην αναλογία C18:2/C16:0 είναι μία αξιόπιστη παράμετρος εκτίμησης της οξείδωσης των λαδιών σε υψηλές θερμοκρασίες. Καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία οξείδωσης, η αναλογία C18:2/C16:0 μειώνεται. Επίσης, βρέθηκε πως καθώς η θερμοκρασία αυξάνεται, υπάρχει μια συνεχόμενη μείωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, ειδικά του λινελαϊκού οξέως, το οποίο είναι πιο επιρρεπές στην οξείδωση σε υψηλές θερμοκρασίες. Αυτό είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση της αναλογίας ελαϊκού οξέως/λινελαϊκού. Ο ρυθμός οξείδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων αυξάνεται ανάλογα με το βαθμό πολυακορεστότητας, ο οποίος είναι 100:1 και 1200:1 στους 20 °C για ελαϊκό/στεατικό οξύ και λινελαϊκό/στεατικό οξύ αντίστοιχα [41, 44].

Ενδιαφέρουσα φαίνεται να είναι και η έρευνα των Adachi et al. [45], οι οποίοι συσχέτισαν την οξείδωση του λινελαϊκού οξέως στους 65°C με βάση την αναλογία βάρους λινελαϊκού οξέως/

λαυρικού οξέως και βρήκαν πως όσο μικρότερη είναι η συγκεκριμένη αναλογία, τόσο το λινελαϊκό οξύ οξειδώνεται με μικρότερο ρυθμό. Η σταθερά του ρυθμού για την έκφραση της κινητικής της οξείδωσης του μείγματος λινελαϊκού οξέως-λαυρικού οξέως, ήταν ανάλογη με το κλάσμα του λινελαϊκού οξέως στο μείγμα. Δηλ. το λινελαϊκό οξύ οξειδώθηκε πιο αργά σε χαμηλότερες αναλογίες κλάσματος λινελαϊκού οξέως/λαυρικού. Η εξάρτηση αυτή είναι λογική μιας και η έκφραση του ρυθμού προέρχεται από την παραδοχή ότι ο ρυθμός οξείδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων είναι ανάλογος με τις συγκεντρώσεις και των οξειδωμένων και των μη οξειδωμένων υποστρωμάτων.

### 1.3 ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ

Σύμφωνα με τους Adachi et al. [45], η εξίσωση που χαρακτηρίζει την οξείδωση των ω-6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (συμπεριλαμβανομένων του λινελαϊκού οξέως και του γ λινολενικού οξέως) είναι η ακόλουθη:  $dY/dt = -kY(1-Y)$ , όπου Y είναι το κλάσμα του μη οξειδωμένου υποστρώματος, t είναι ο χρόνος και k η σταθερά ρυθμού. Επίσης, η εξίσωση αυτή θα μπορούσε να περιγράψει το πρώτο μισό της οξείδωσης και των ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (συμπεριλαμβανομένου του α λινολενικού οξέως). Το δεύτερο μισό θα μπορούσε να περιγραφεί με κινητική πρώτης τάξης.

Από την άλλη, σύμφωνα με τον Colakoglu [46], η κινητική που θα μπορούσε να περιγράψει με ένα γενικό τρόπο την οξείδωση των λιπιδίων είναι :

$$r = -d[O_2]/dt = k[O_2]^n$$

(n ο βαθμός της αντίδρασης)

[O<sub>2</sub>]: η συγκέντρωση του O<sub>2</sub> στην ατμόσφαιρα και k η σταθερά του ρυθμού

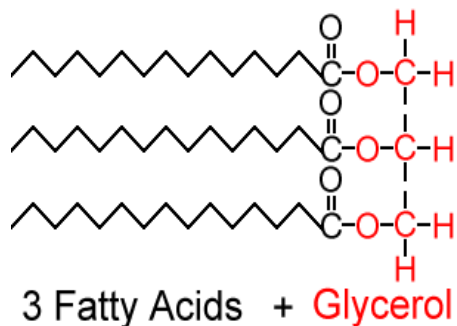
Η οξείδωση των εδωδιμων ελαίων, όπως αναφέρει η ίδια μελέτη, έχει βρεθεί ότι ακολουθεί κινητική 1/2 τάξης ως προς τη συγκέντρωση του O<sub>2</sub>. Παρ' όλα αυτά, η παρουσία προοξειδωτικών και άλλων ουσιών, αλλάζει συχνά την τάξη της αντίδρασης [32, 47].

Η μελέτη φυτικών ελαίων σε θερμοκρασίες τηγανίσματος [24] παρουσίασε πολύ πιο συγκεκριμένα αποτελέσματα σχετικά με την τάξη της αντίδρασης ανάλογα με τη φάση της οξείδωσης. Σύμφωνα με αυτή, λοιπόν, στα αρχικά στάδια της οξείδωσης λαμβάνει χώρα η αποσύνθεση των πολυακόρεστων λιπιδίων και η αντίδραση οξείδωσης όσον αφορά τη συγκέντρωση των λιπαρών οξέων παρατηρήθηκε πως προσέγγιζε την πρώτη τάξη για όλα τα φυτικά έλαια που εξετάστηκαν δηλ. το αραβοσιτέλαιο, το σογιέλαιο, το βαμβακέλαιο και το ηλιέλαιο. Στο επόμενο στάδιο της οξείδωσης, όπου συμβαίνει αποσύνθεση των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων, καθώς και στο τρίτο στάδιο που αποσυντίθενται τα κορεσμένα λιπαρά οξέα, η τάξη της αντίδρασης προσέγγισε το 2.

Τα αποτελέσματα των Torallar et al. [48] συμφωνούν με τα προηγούμενα αποτελέσματα για το πρώτο στάδιο, μιας και αυτοί παρατήρησαν ότι η αυτοοξείδωση του αναγεννημένου ηλιελαίου όταν αυτό κρατείται σε εντελώς ανοιχτούς χώρους αποθήκευσης και είναι ανοιχτό σε ατμοσφαιρικές συνθήκες, εξαρτάται από τη συγκέντρωση των υδροϋπεροξειδίων (όπως εκτιμάται μέσω του αριθμού υπεροξειδίων) και ακολουθεί κινητική α' τάξης μετά την περίοδο επώασης.

#### 1.4 ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΕΛΑΙΩΝ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ - ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Όπως είναι γνωστό, τα φυτικά έλαια έχουν δομή τριγλυκεριδίων. Χημικά, όλα τα λίπη και έλαια είναι εστέρες γλυκερόλης και λιπαρών οξέων. Παρ' όλα αυτά οι φυσικές ιδιότητες των ελαίων διαφέρουν αρκετά. Αυτό έχει σχέση με το ποσοστό των ελαίων σε λιπαρά οξέα και τη σύνθεση των τριγλυκεριδίων σε κάθε έλαιο. Η γλυκερόλη έχει τρεις υδροξυλομάδες στις οποίες μπορεί να συνδεθεί ένα λιπαρό οξύ. Όλα τα τριγλυκερίδια έχουν το ίδιο μόριο γλυκερόλης, συνεπώς η διαφορά τους έγκειται στο λιπαρό οξύ. Έτσι, το μόριο του τριγλυκεριδίου μπορεί να είναι πλήρως κορεσμένο, μονοακόρεστο, διακόρεστο ή τριακόρεστο. Τα δύο πιο κοινά κορεσμένα λιπαρά οξέα στα φυτικά έλαια είναι το παλμιτικό και το στεατικό οξύ. Το ελαϊκό οξύ είναι μονοακόρεστο οξύ, το λινελαϊκό είναι διακόρεστο οξύ και το λινολενικό είναι τριακόρεστο οξύ [103].



Σχήμα 1.1: Δομή τριγλυκεριδίων

### ΣΟΓΙΕΛΑΙΟ

Το σογιέλαιο έχει υψηλό περιεχόμενο σε ακόρεστα λιπαρά οξέα και ειδικά σε λινελαϊκό οξύ και χαμηλότερο περιεχόμενο σε λινολενικό οξύ (αλλά υψηλότερο από των υπόλοιπων ελαίων). Αυτά τα λιπαρά οξέα είναι σημαντικά για τη διατροφή του ανθρώπου, αλλά αποτελούν σε μεγάλο βαθμό τους λόγους της οξειδωτικής αστάθειας των ελαίων [5] .

### ΗΛΙΕΛΑΙΟ

Το ηλιέλαιο περιέχει μεγάλη ποσότητα σε λινελαϊκό οξύ [5,6]. Αυτή η ποσότητα μπορεί να διαφέρει ανάμεσα στα ηλιέλαια, αλλά οι περισσότερες ποικιλίες περιέχουν περίπου 65-70% λινελαϊκό οξύ. Υπάρχουν όμως και ποικιλίες ηλιέλαιου με υψηλή περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ (>80% ελαϊκό οξύ και μόνο 5-9% λινελαϊκό οξύ) και οι ποικιλίες μεσαίας περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ ( 55-75% ελαϊκό οξύ και 15-35% λινελαϊκό οξύ).

### ΒΑΜΒΑΚΕΛΑΙΟ

Το βαμβακέλαιο περιέχει συνήθως λινελαϊκό οξύ, λινολενικό και ελαϊκό οξύ σε ποσοστό περίπου 75% των συνολικών λιπαρών οξέων (εκ των οποίων, συνήθως, το 22% είναι ελαϊκό οξύ, το 52% λινελαϊκό οξύ και μικρότερο από 1% λινολενικό οξύ). Το παλμιτικό οξύ, που είναι κορεσμένο λιπαρό οξύ, ανέρχεται σε ποσοστό περίπου 24%. Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα, στεατικό και μυριστικό, βρίσκονται μόνο σε μικρές ποσότητες. Σύμφωνα με τους Nakhlawy et al. [7], όμως, το βαμβακέλαιο έχει υψηλό περιεχόμενο σε

παλμιτικό και στεατικό οξύ σε σχέση με τα υπόλοιπα έλαια που συνήθως εμφανίζουν μικρότερα ποσοστά και σε αντίθεση με τον Gustone [5], ο πρώτος, ισχυρίζεται πως μαζί με το σογιέλαιο και το ηλιέλαιο έχουν χαμηλό περιεχόμενο σε ελαϊκό οξύ.

### ΑΡΑΒΟΣΙΤΕΛΑΙΟ

Το αραβοσιτέλαιο έχει χαρακτηριστεί ως το λάδι με το υψηλότερο περιεχόμενο [5] σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, λόγω κυρίως του υψηλού περιεχομένου του σε λινελαϊκό οξύ. Περιέχει χαμηλά επίπεδα κορεσμένων λιπαρών οξέων (<15%) και πολύ χαμηλά επίπεδα λινολενικού οξέως, το οποίο είναι αρκετά επιρρεπές στην οξείδωση. Επίσης παρουσιάζει υψηλή οξειδωτική σταθερότητα σε μεγάλες θερμοκρασίες και έτσι είναι κατάλληλο και για τηγάνισμα.

### ΙΧΘΥΕΛΑΙΟ

Η σύνθεση του ιχθυελαίου είναι αρκετά διαφορετική από τη σύνθεση των άλλων ελαίων, λόγω του μοναδικού περιεχομένου του σε ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (C20:5 n-3,) και σε εικοσιπεντανοϊκό οξύ (C22:6 n-3) [8,9], τα οποία έχουν βρεθεί ότι έχουν αρκετά θετικά οφέλη για την ανθρώπινη υγεία [10, 11, 12]. Για τα ω-3 λιπαρά οξέα, ο πρώτος ακόρεστος δεσμός άνθρακα εμφανίζεται στον τρίτο άνθρακα από το μεθυλικό άκρο. Ομοίως συμβαίνει και για τα ω-6 και ω-9 λιπαρά οξέα που ο πρώτος ακόρεστος δεσμός άνθρακα εμφανίζεται στον 6<sup>ο</sup> και 9<sup>ο</sup> αντίστοιχα άνθρακα από το άκρο του μεθυλίου [13]. Λόγω του υψηλού περιεχομένου του σε ακόρεστα λιπαρά οξέα, το ιχθυέλαιο είναι επιρρεπές στην οξείδωση. Ο ρυθμός της οξείδωσής του είναι αρκετά ταχύτερος από αυτόν στα υπόλοιπα έλαια και εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από το περιεχόμενό του σε λιπαρά οξέα και τις συνθήκες αποθήκευσης [14].

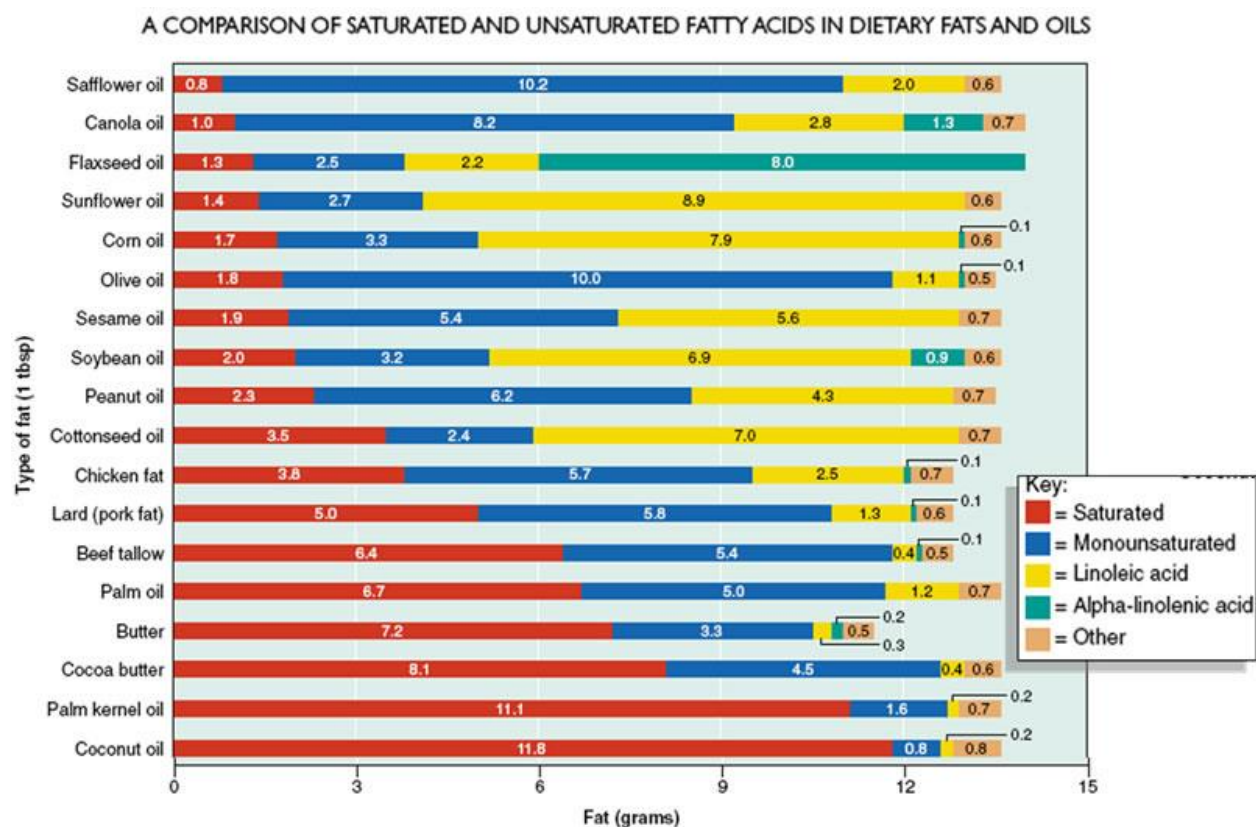
Σύμφωνα, λοιπόν, με τα παραπάνω και με τη βοήθεια αρκετών μελετών που έχουν προσδιορίσει το περιεχόμενο διαφόρων ελαίων σε λιπαρά οξέα, κατασκευάσαμε τον παρακάτω πίνακα για το περιεχόμενό τους σε λιπαρά οξέα του αραβοσιτελαίου, σογιελαίου, βαμβακελαίου και ηλιελαίου.

Πίνακας 1.2: Περιεκτικότητα φυτικών ελαίων στα κυριότερα λιπαρά οξέα

ΕΛΑΙΟ	ΠΑΛΜΙΤΙΚΟ(%)	ΣΤΕΑΤΙΚΟ(%) )	ΕΛΑΪΚΟ(%)	ΛΙΝΕΛΑΪΚΟ(%)	ΛΙΝΟΛΕΝΙΚΟ(%)	ΠΗΓΗ
ΑΡΑΒΟΣΙ- ΤΕΛΑΙΟ	10- 13	2-2,3	26-46	42-58	0-1,7	5,6,15,16,1 7,18,19
ΣΟΓΙΕΛΑΙΟ	10-26,4	2-3,3	8,6-50  20-25(συνήθως)	40-58,6	1,7-8	6,15,17,20, 21
ΣΟΓΙΕΛΑΙΟ Υψηλής περιεκτικότη ας σε ελαϊκό οξύ			79-80			22,23
ΒΑΜΒΑ- ΚΕΛΑΙΟ	17-29	1-2,6	13-44	33-58	0,1-2,1	5,6,17,19
ΗΛΙΕΛΑΙΟ	6-7.4	3-4,2	18-30	60-70	0-1	6,15,16,17, 19
ΗΛΙΕΛΑΙΟ Υψηλής περιεκτικότη ς σε ελαϊκό οξύ			80-90	5-9		5

Ο παρακάτω πίνακας (πίνακας 1.3) ενσωματώνει τόσο τις παραπάνω πληροφορίες, όσο και πληροφορίες από άλλες μελέτες [6, 15, 24] και παραθέτει συγκριτικά στοιχεία σχετικά με το περιεχόμενο του αραβοσιτελαίου, του σογιέλαιου, του ηλιέλαιου και του βαμβακέλαιου σε κορεσμένα/ακόρεστα λιπαρά οξέα και την περιεκτικότητά τους σε λινελαϊκό και λινολενικό οξύ, που θεωρούνται τα δύο βασικότερα λιπαρά οξέα που οδηγούν στην ταχύτερη οξείδωση των ελαίων:

Πίνακας 1.3: Περιεχόμενο διαφόρων ελαίων σε κορεσμένα και ακόρεστα λιπαρά οξέα [25]



Σύμφωνα με τον πίνακα 1.3, το ποσοστό των κορεσμένων λιπαρών οξέων αυξάνεται με βάση τη σειρά: ηλιέλαιο < αραβοσιτέλαιο < σογιέλαιο < βαμβακέλαιο .

Η αντίστοιχη σειρά για τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα είναι:

βαμβακέλαιο < ηλιέλαιο < σογιέλαιο < αραβοσιτέλαιο.

Με βάση το περιεχόμενο σε λινελαϊκό οξύ: σογιέλαιο<βαμβακέλαιο<αραβοσιτέλαιο<ηλιέλαιο

Με βάση την περιεκτικότητα σε λινολενικό οξύ:

ηλιέλαιο=βαμβακέλαιο~0 < αραβοσιτέλαιο < σογιέλαιο

Για το ιχθυέλαιο, ο αντίστοιχος συγκεντρωτικός πίνακας που αναφέρεται στο ποσοστό της συγκέντρωσης των λιπαρών οξέων είναι ο εξής:

Πίνακας 1.4: Περιεχόμενο ιχθυέλαιου σε λιπαρά οξέα

ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (%)
ΠΑΛΜΙΤΙΚΟ (C16:0)	12-27
ΣΤΕΑΤΙΚΟ (C18:0)	2-15
ΕΛΑΪΚΟ (C18:1)	8-33
ΛΙΝΕΛΑΪΚΟ (C18:2)	0,6-3,5
ΕΙΚΟΣΕΝΟΪΚΟ (C20:1)	1,2-18
ΛΙΝΟΛΕΝΙΚΟ (C18:3)	0-2
ΕΙΚΟΣΑΔΙΕΝΙΚΟ (C20:2)	0-2,6
ΕΡΑ C20:5	4-19,7
ΔΗΑ C22:6	5-38



Από τα κορεσμένα λιπαρά οξέα, το παλμιτικό οξύ κυμαίνεται συνήθως γύρω στο 20-25%, ενώ το στεατικό περίπου στο 2-3%. Οι πιο συνηθισμένες τιμές που συναντάμε στο ελαιικό είναι 17-27%, ενώ στο λινελαϊκό απαντώνται συνήθως πολύ μικρές ποσότητες της τάξεως του 2-3%. Το εικοσενοϊκό οξύ βρίσκεται συχνά σε ποσότητες 5-10%, ενώ για το DHA οι περισσότερες βιβλιογραφικές πηγές δίνουν τιμές που προσεγγίζουν το 20% [26,27,28].

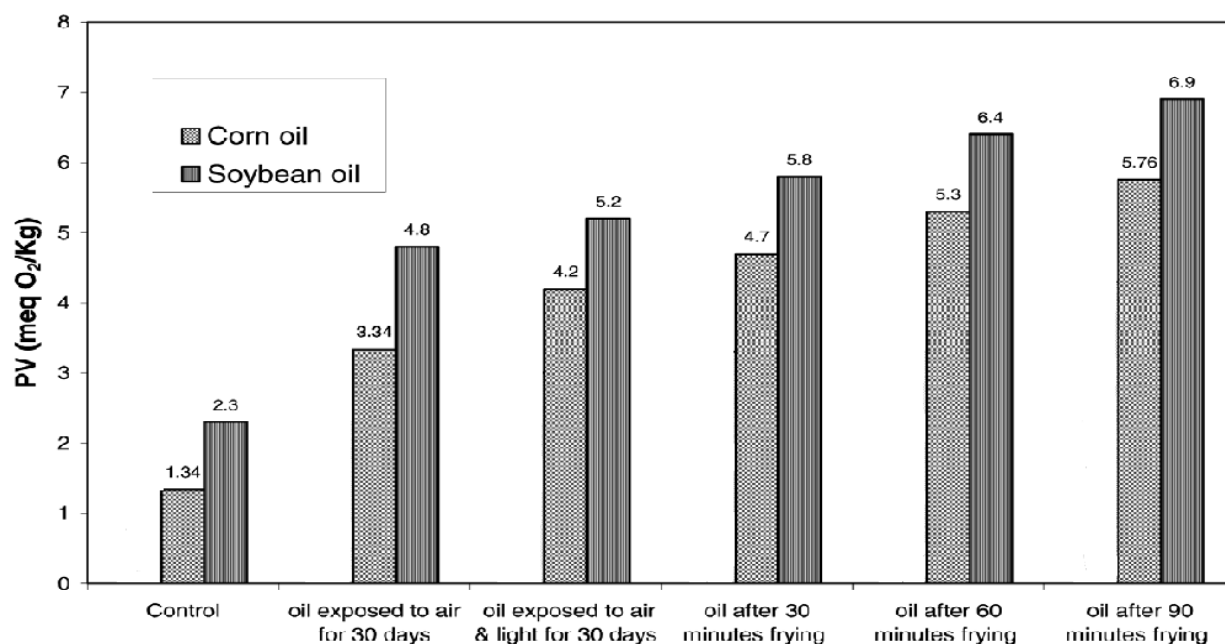
### 1.5 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΕΛΑΙΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΟΥΣ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

Από τον πίνακα 1.2, με βάση το ποσοστό των ελαίων σε λινολενικό οξύ, συμπεραίνουμε πως το σογιέλαιο θα είναι αρκετά επιρρεπές στην οξειδωση αφού εμφανίζει συνήθως μεγαλύτερο ποσοστό σε λινολενικό οξύ σε σχέση με τα υπόλοιπα έλαια, κάτι το οποίο έρχεται σε συμφωνία και με τα αποτελέσματα του πίνακα 1.3. Εξετάζοντας, όμως, και τα ποσοστά του λινελαϊκού οξέως στα παραπάνω έλαια, το οποίο εμφανίζει επίσης ταχείς ρυθμούς οξειδωσης, βλέπουμε πως το ηλιέλαιο εμφανίζει μεγαλύτερο ποσοστό λινελαϊκού οξέως σε σχέση με τα υπόλοιπα έλαια.

Ένα πρώτο συμπέρασμα, λοιπόν, θα μπορούσε να είναι πως τόσο το ηλιέλαιο (εξαιτίας του αισθητά μεγαλύτερου ποσοστού του σε λινελαϊκό οξύ) όπως και το σογιέλαιο, φαίνεται να είναι πιο ασταθή έλαια από πλευράς λιπαρών οξέων, σε σχέση με το αραβοσιτέλαιο και το βαμβακέλαιο, μιας και τα δύο τελευταία εμφανίζουν παραπλήσιο περιεχόμενο σε λινελαϊκό και λινολενικό οξύ και μικρότερο από το ηλιέλαιο και το σογιέλαιο. Σε συμφωνία με το παραπάνω συμπέρασμα έρχεται και η άποψη του Gustone [5] ο οποίος αναφέρει πως το ηλιέλαιο, το σογιέλαιο και το κραμβέλαιο είναι από τα πιο ασταθή έλαια στην οξειδωση και μάλιστα, το αραβοσιτέλαιο φαίνεται να είναι αρκετά πιο σταθερό σε σχέση με το σογιέλαιο, μιας και διατηρεί υψηλά επίπεδα τοκοφερολών, κάτι το οποίο θα αναλυθεί σε επόμενο κεφάλαιο. Οι Souza et al. [6] αναφέρουν ότι μικρότερη τάση οξειδωσης παρατηρείται για το αραβοσιτέλαιο, ενώ ακολουθούν το βαμβακέλαιο, το ηλιέλαιο και το σογιέλαιο. Ο δείκτης σχετικής δραστηριότητας στην οξειδωτική υποβάθμιση, όπως προέκυψε από τη συγκεκριμένη μελέτη είναι για το αραβοσιτέλαιο: 1.43, για το βαμβακέλαιο: 1.60, για το σογιέλαιο: 1.90 και για το ηλιέλαιο 1.85. Το σογιέλαιο και το ηλιέλαιο, λοιπόν, αναμένεται να είναι πιο επιρρεπή στην οξειδωτική

υποβάθμιση. Οι Marinova et al. [15] αναφέρουν πως μεταξύ των ακόρεστων ελαίων, το αραβοσιτέλαιο και το σογιέλαιο είναι τα πιο σταθερά έλαια, μιας και το σογιέλαιο εμφάνισε ίδια οξειδωτική σταθερότητα με το αραβοσιτέλαιο, ενώ το ηλιέλαιο μικρότερη, κάτι το οποίο έρχεται σε αντίθεση με την προηγούμενη μελέτη. Η κατάταξη αυτή, καθώς και η διαφορά στην οξειδωτική σταθερότητα που παρουσίασε το αραβοσιτέλαιο σε σχέση με το σογιέλαιο ανάμεσα στις δύο μελέτες, οφείλεται σε παράγοντες όπως η αναλογία των λιπαρών οξέων στα συγκεκριμένα έλαια, και το περιεχόμενό τους σε τοκοφερόλες και ειδικά στη γ, κάτι το οποίο, όμως, θα αναλυθεί στη συνέχεια. Με βάση την αναλογία των λιπαρών οξέων στα παραπάνω έλαια, οι προαναφερθείσες διαφορές φαίνονται λογικές, μιας και στην μελέτη των Marinova et al, το σογιέλαιο που χρησιμοποιήθηκε φαίνεται να είχε παραπλήσια περιεκτικότητα σε λινελαϊκό οξύ με το αντίστοιχο αραβοσιτέλαιο. Σε συμφωνία με τους Souza et al. [6] βρίσκονται και οι Santos et al. [24], οι οποίοι κατέληξαν πως το αραβοσιτέλαιο είναι αρκετά σταθερό έλαιο και ακολουθεί το σογιέλαιο και το ηλιέλαιο.

Οι Naz et al. [29] έρχονται και αυτοί με τη σειρά της να επιβεβαιώσουν την οξειδωτική σταθερότητα του αραβοσιτελαίου έναντι του σογιέλαιου, όταν αυτά υποβλήθηκαν σε διάφορες οξειδωτικές συνθήκες όπως φαίνεται και στο παρακάτω σχήμα:



Σχήμα 1.2: Αριθμός υπεροξειδίων σογιέλαιου-αραβοσιτέλαιου σε αερόβιες συνθήκες και σε συνθήκες τηγανίσματος

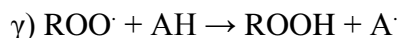
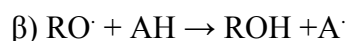
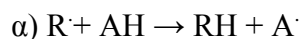
Όλα τα παραπάνω αποτελέσματα σχετικά με την οξειδωτική σταθερότητα των ελαίων είχαν άμεση σχέση με το περιεχόμενό τους σε λιπαρά οξέα και οι διαφορές που παρουσιάστηκαν ανάμεσα στις ίδιες κατηγορίας λάδια σε διαφορετικές μελέτες, είχαν σχέση με τη διαφορετική αναλογία λιπαρών οξέων που παρουσίαζε το κάθε έλαιο στην εκάστοτε μελέτη.

## **2. ANΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ**

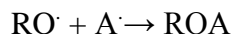
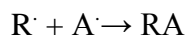
### **2.1 ΓΕΝΙΚΑ**

Τα αντιοξειδωτικά είναι χημικές ενώσεις, οι οποίες χρησιμοποιούνται για τη διατήρηση των ελαίων και για την προστασία τους από την υποβάθμισή, μιας και μπορούν να καθυστερήσουν την έναρξη της οξείδωσης, αναστέλλοντας το σχηματισμό ελεύθερων ριζών αλκυλίου ή να επιβραδύνουν το ρυθμό οξείδωσης των λιπιδίων σε συστήματα τροφίμων. Η δημιουργία συμπλόκων μετάλλων με τα αντιοξειδωτικά, καθιστά τα πρώτα αδύνατα να δράσουν ως υποκινητές της αντίδρασης οξείδωσης, ενώ η διάδοση της αλυσιδωτής αντίδρασης της οξείδωσης μπορεί να ελαχιστοποιηθεί με τη δωρεά ενός ατόμου υδρογόνου από τα αντιοξειδωτικά [49].

Η άμεση αντίδραση του αντιοξειδωτικού (AH) μ' ένα υπόστρωμα ελεύθερης ρίζας R, δίνεται από τις εξής αντιδράσεις :



Η ρίζα του αντιοξειδωτικού στη συνέχεια μπορεί να αντιδράσει ξανά με τα υποστρώματα ριζών και να οδηγήσει τελικά στα παρακάτω προϊόντα:



Τα κύρια αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται σήμερα σε τέτοιου είδους συστήματα είναι οι μονοϋδροξυ ή πολυδροξυ- φαινολικές ενώσεις με διάφορους υποκαταστάτες. Αυτές οι ενώσεις έχουν χαμηλή ενέργεια ενεργοποίησης, ώστε να μπορούν να δωρίσουν υδρογόνο, με αποτέλεσμα να καθυστερεί η διάδοση της οξείδωσης ή να γίνεται αυτή με χαμηλότερο ρυθμό, μιας και η προκύπτουσα αντιοξειδωτική ρίζα δεν υπόκειται σε ταχεία οξείδωση λόγω της σταθερότητάς της [49].

Τα λάδια που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση, μπορούν να δεχθούν μόνο λίγα συγκεκριμένα αντιοξειδωτικά, τα οποία πρέπει να πληρούν τις παρακάτω προϋποθέσεις [51]:

1. Αποτελεσματικότητα σε χαμηλές συγκεντρώσεις (0.001mg-0.01mg)
2. Απουσία ανεπιθύμητων επιπτώσεων στο χρώμα
3. Απουσία αλλαγής της οσμής, της γεύσης και των υπόλοιπων χαρακτηριστικών του τροφίμου
4. Συμβατότητα με το τρόφιμο
5. Σταθερότητα κάτω από συνθήκες επεξεργασίας ή αποθήκευσης του τροφίμου
6. Η ένωση που χρησιμοποιείται σαν αντιοξειδωτικό και τα προϊόντα οξείδωσής της πρέπει να είναι μη τοξικά ακόμα και σε δόσεις μεγαλύτερες από εκείνες που προσλαμβάνονται με την τροφή

Τα αντιοξειδωτικά ταξινομούνται σε πέντε τύπους.

1. Πρωτογενή αντιοξειδωτικά
2. Δεσμευτές οξυγόνου
3. Βιολογικά αντιοξειδωτικά
4. Παράγοντες συμπλοκοποίησης
5. Δευτερογενή αντιοξειδωτικά

Η κατάταξη αυτή είναι πλήρης αλλά δεν διακρίνει τα συνεργιστικά αντιοξειδωτικά και έχει αρκετές επικαλύψεις. Τα συνεργιστικά είναι ενώσεις που όταν χρησιμοποιούνται μόνες τους έχουν μικρή ή καμία επίδραση στην οξείδωση των λιπιδίων. Γενικά, μπορούμε να πούμε ότι έχουμε συνέργεια όταν δύο ή περισσότερα συστατικά που συνεργάζονται μπορούν να παράγουν ένα αποτέλεσμα που δεν μπορεί να ληφθεί με οποιονδήποτε από τους δύο παράγοντες όταν δρουν ανεξάρτητα ο ένας από τον άλλο [52,53].

Τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά είναι ενώσεις που τερματίζουν τη διάδοση της αλυσίδας της οξείδωσης [54]. Οι δεσμευτές οξυγόνου είναι ενώσεις που απομακρύνουν το οξυγόνο από τα κλειστά συστήματα. Το ασκορβικό οξύ, τα παράγωγά του και τα ισομερή του είναι τα καλύτερα παραδείγματα αυτής της κατηγορίας. Το ασκορβικό οξύ μπορεί επίσης να ενεργεί ως συνεργιστικό στην αναγέννηση των πρωτογενών αντιοξειδωτικών. Τα βιολογικά αντιοξειδωτικά περιλαμβάνουν διάφορα ένζυμα όπως για παράδειγμα τη γλυκοζιδάση, την οξειδάση, την καταλάση. Αυτά μπορούν να απομακρύνουν το οξυγόνο και δραστηρικά συστατικά από τα τρόφιμα. Επίσης οι βιταμίνες A, C, E θα μπορούσαν να συμπεριληφθούν σε αυτήν την κατηγορία, μιας και είναι φυσικά συστατικά των λαχανικών, των φρούτων και των φυτών. Αυτές οι ενώσεις μπορούν να συγκαταλεγούν και στα πρωτογενή αντιοξειδωτικά ή/και στα συνεργιστικά [55,56,57].

Οι παράγοντες συμπλοκοποίησης σχηματίζουν σύμπλοκα με μεταλλικά ιόντα (κυρίως σίδηρο και χαλκό) που καταλύουν τη λιπιδιακή οξείδωση. Τα δευτερογενή αντιοξειδωτικά επιβραδύνουν την αυτοοξείδωση καθώς σχηματίζουν χηλικές ενώσεις με τα προοξειδωτικά μέταλλα, παρέχουν υδρογόνα στα πρωτογενή αντιοξειδωτικά και αποσυνθέτουν τα υδροϋπεροξειδία που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια του σταδίου της διάδοσης [1]. Μπορούν επίσης να απενεργοποιήσουν ένα μονήρες οξυγόνο και να απορροφήσουν την υπεριώδη ακτινοβολία. Τα δευτερογενή αντιοξειδωτικά μπορούν να δράσουν συνεργιστικά με τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά προκειμένου να αυξηθεί η αντιοξειδωτική δράση των τελευταίων. Παραδείγματα ενώσεων που δρουν συχνά ως συνεργιστικά ή δευτερογενή αντιοξειδωτικά περιλαμβάνουν τα κιτρικό οξύ, λεκιθίνη, ασκορβικό οξύ, ορισμένες φαινολικές ενώσεις και το τρυγικό οξύ.

Διάφορα υλικά φυτικής και ζωικής προέλευσης έχουν μελετηθεί εκτενώς ως αντιοξειδωτικά τροφίμων. Πολλά φαινολικά συστατικά αυτών, συμπεριλαμβανομένων των φλαβονοειδών, έχει επίσης αποδειχθεί ότι έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες.

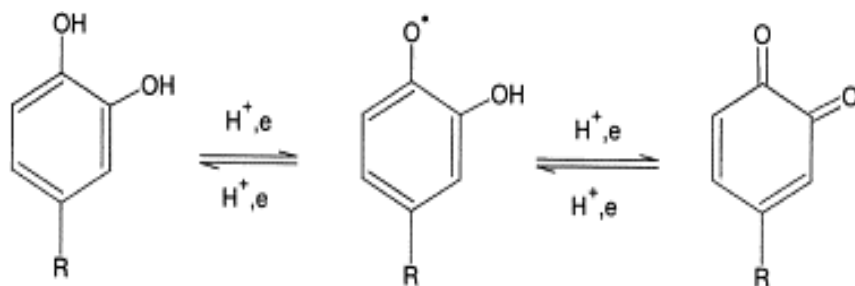
Φαινόλες ονομάζονται τα υδροξυλιωμένα παράγωγα των αρωματικών υδρογονανθράκων τα οποία περιέχουν ένα ή περισσότερα OH σε αντικατάσταση ισάριθμων υδρογόνων, συνδεδεμένων με τα άτομα άνθρακα του βενζολικού δακτυλίου. Αντίθετα τα βενζολικά παράγωγα που περιέχουν υδροξύλιο σε αντικατάσταση υδρογόνου πλευρικής αλύσου όπως η βενζυλαλκοόλη ονομάζονται αρωματικές αλκοόλες και όχι φαινόλες. Όπως είναι φανερό οι

φαινόλες παρουσιάζουν αναλογία με τις αλκοόλες αλειφατικής σειράς. Ωστόσο παρουσιάζουν διαφορές που οφείλονται στο γεγονός ότι οι ιδιότητες του φαινολικού υδροξυλίου έχουν ριζικά μεταβληθεί λόγω της ύπαρξης του βενζολικού δακτυλίου [58, 59].

Τα φαινολικά αντιοξειδωτικά που εμφανίζουν μεγάλη δραστηριότητα έχουν δύο ομάδες υδροξυλίου (κατεχολική δομή) σε ορθο ή παρα θέση. Αυτές οι ενώσεις είναι αποτελεσματικές σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις, ενώορισμένες χάνουν την αποτελεσματικότητά τους, καθώς η συγκέντρωσή τους αυξάνεται. Σε υψηλή συγκέντρωση μερικές μπορούν να επιταχύνουν το ρυθμό της αυτοοξειδωσης [60].

Τα φαινολικά αντιοξειδωτικά προστατεύουν τα διάφορα τρόφιμα στα οποία προστίθενται, όχι μόνο επειδή δρουν ως πρωτογενή αντιοξειδωτικά, αλλά και λόγω της ικανότητάς τους να αντιδρούν τόσο με τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, όσο και με τα διάφορα μέταλλα που μπορεί να προϋπάρχουν σε αυτά.

Οι φαινολικές ενώσεις που έχουν ορθοκατεχολική δομή, όπως η κερκετίνη και η κατεχίνη, οξειδώνονται όπως φαίνεται στο σχήμα 1.3:

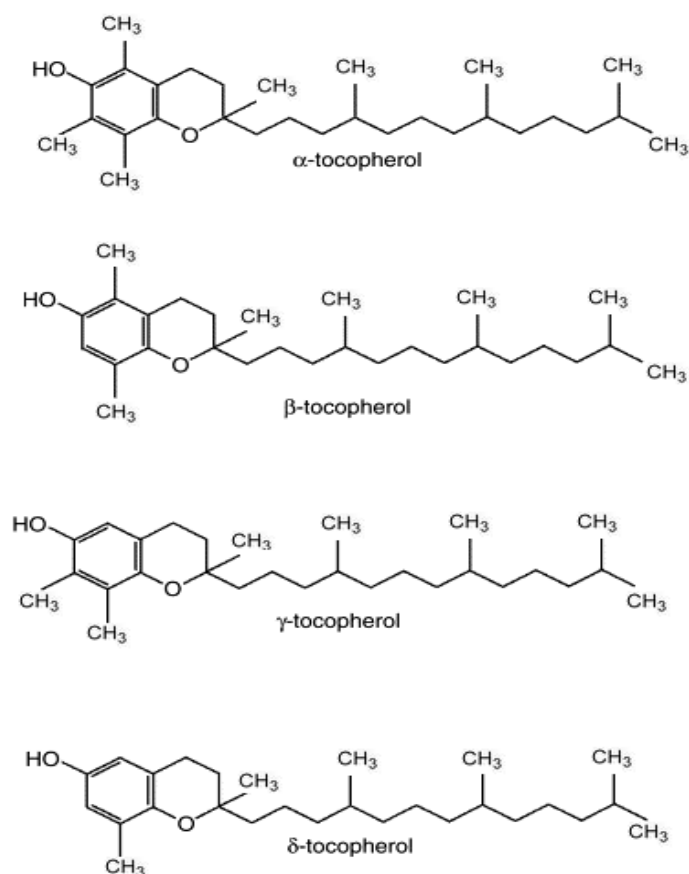


Σχήμα 1.3: Οξείδωση ορθοκατεχολικών αντιοξειδωτικών

## 2.2 ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΕΣ

### 2.2.1 ΓΕΝΙΚΑ-ΔΟΜΗ

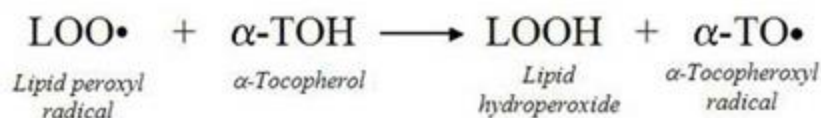
Οι τοκοφερόλες ανήκουν στα πρωτογενή αντιοξειδωτικά και είναι φυσικές φαινολικές ενώσεις που βρίσκονται σε πολλά τρόφιμα φυτικής προέλευσης. Διακρίνονται τέσσερις διαφορετικές ενώσεις των οποίων η δομή παρουσιάζεται στο σχήμα 1.4. Έχουν μεγάλο ενδιαφέρον επειδή προϋπάρχουν σε πολλά τρόφιμα και σπόρους, όπως και στα έλαια. Η αντιοξειδωτική δράση των τοκοφερολών οφείλεται κυρίως στην ικανότητά τους να δωρίζουν τα φαινολικά υδρογόνα τους προς τις ελεύθερες ρίζες των λιπιδίων. Μπορούν όμως να συμμετέχουν σε παράπλευρες αντιδράσεις που οδηγούν σε προ-οξειδωτική δραστηριότητα, οι οποίες εξαρτώνται από παράγοντες όπως η συγκέντρωση της τοκοφερόλης, η δομή της και η θερμοκρασία.



Σχήμα 1.4: Δομή των τεσσάρων ειδών τοκοφερολών



Κατά την αυτοοξειδωση των λιπιδίων, οι τοκοφερόλες μπορούν να λειτουργήσουν ως αντιοξειδωτικά δεσμεύοντας τις ελεύθερες ρίζες και αναστέλλοντας κατά αυτόν τον τρόπο την έναρξη ή τη διάδοση της οξειδωτικής διαδικασίας [61]. Οι τοκοφερόλες μεταφέρουν εύκολα ένα άτομο υδρογόνου από την υδροξυλική τους ομάδα στον δακτύλιο χρωμανόλης, στις λιπιδιακές περοξυλικές ρίζες (LOO<sup>•</sup>), που οδηγεί στο σχηματισμό λιπιδιακών υπεροξειδίων (LOOH) και τοκοφεροξυλικών ριζών (TO<sup>•</sup>). Οι τοκοφεροξυλικές ρίζες σταθεροποιούνται εντός του δακτυλίου της χρωμανόλης και συνεπώς δεν διαδίδουν συνήθως την αλυσίδα οξείδωσης [62].



Σχήμα 1.5: Αντίδραση τοκοφερόλης με λιπιδική υπεροξειδική ρίζα

Το κατά πόσο οι τοκοφερόλες δρουν ως αντιοξειδωτικά ή προοξειδωτικά εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως από τη μέθοδο αξιολόγησης, από το σύστημα στο οποίο μελετάται η δράση τους, από το βαθμό κορεσμού του λιπαρού οξέως, τη θερμοκρασία, το στάδιο οξείδωσης τις συγκεντρώσεις τους και την ύπαρξη ή όχι άλλων αντιοξειδωτικών.

### 2.2.2 ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΩΝ

Παρά το γεγονός ότι, η ικανότητα προσφοράς υδρογόνων για τις τοκοφερόλες είναι της τάξης  $\alpha > \gamma > \delta$ , η ισχύς όσον αφορά την αντιοξειδωτική τους δράση, φαίνεται να ακολουθεί αντίστροφη σειρά όπως έχουν δείξει τα περισσότερα πειράματα σε λίπη, έλαια και λιποπρωτεΐνες. Συγκεκριμένα, η σειρά δραστηριότητας που προτείνεται από τις διάφορες έρευνες είναι η εξής:  $\delta > \gamma > \alpha$  [65,66,67]. Μάλιστα, οι Braunrath et al. [61] αναφέρουν χαρακτηριστικά πως η  $\alpha$  τοκοφερόλη δεν κατάφερε να μειώσει ιδιαίτερα το σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων στο κραμβέλαιο, ενώ η  $\gamma$  και η  $\delta$  τοκοφερόλη μείωσαν τον αντίστοιχο αριθμό περισσότερο από 30%. Πολλές έρευνες συμφωνούν πως η  $\delta$  τοκοφερόλη είναι δραστικότερη της  $\gamma$  και αυτή με τη σειρά της αποτελεσματικότερη της  $\alpha$ , εκτός από την περίπτωση που η  $\alpha$  τοκοφερόλη βρίσκεται σε

συγκεντρώσεις μικρότερες των 100ppm, που εμφανίζεται να είναι αποτελεσματικότερη όλων [1, 63, 64, 65,66].

Υπάρχουν όμως και μελέτες στις οποίες έχει αναφερθεί και προοξειδωτική συμπεριφορά των τοκοφερολών [68]. Πάνω από τις βέλτιστες συγκεντρώσεις, οι μεμονωμένες τοκοφερόλες και τα μείγματα τοκοφερολών έδειξαν προοξειδωτική συμπεριφορά [63]. Για τη μεν α τοκοφερόλη η βέλτιστη συγκέντρωση κυμαίνεται από 100 ppm έως 250 ppm και για την γ τοκοφερόλη 300ppm – 500ppm. Γενικά, η αντιοξειδωτική συμπεριφορά των τοκοφερολών είναι μεγαλύτερη σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις και μειώνεται ή εμφανίζεται προοξειδωτική συμπεριφορά σε υψηλότερες συγκεντρώσεις. Οι βέλτιστες συγκεντρώσεις για μείγματα τοκοφερολών (όπως προσδιορίστηκαν σε σογιέλαιο) είναι συνολικά 500-750 ppm. Η ίδια μελέτη έδειξε ότι η οξείδωση στους 40, 50 και 60°C μειώθηκε όταν το έλαιο περιείχε συγκεντρώσεις συνολικών φαινολών 340-660 ppm. Αντίθετα, η οξείδωση του ελαίου ήταν εντονότερη όταν το περιεχόμενο σε ολικές τοκοφερόλες αυξήθηκε πέραν από 720-1090 ppm.

Η μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα των τοκοφερολών σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 660 ppm είναι πιθανό να έχει σχέση με τα επίπεδα των μεμονωμένων τοκοφερολών. Οι Evans et al. [63] αναφέρουν επίσης ότι έστω και μία από τις τοκοφερόλες να έχει συγκέντρωση μεγαλύτερη από τη βέλτιστη, τότε μπορεί να μειώνεται αισθητά η αντιοξειδωτική ικανότητα.

Οι Huang et al. [69], οι οποίοι μελέτησαν το αραβοσιτέλαιο, αναφέρουν πως τα μείγματα τοκοφερολών δρουν ως αντιοξειδωτικά ή προοξειδωτικά ανάλογα με τη συγκέντρωση της α τοκοφερόλης στο μείγμα. Η συγκεκριμένη μελέτη επιβεβαιώνει τα αποτελέσματα της προηγούμενης όσον αφορά τις βέλτιστες συγκεντρώσεις της α και γ τοκοφερόλης, οι οποίες είναι για τη μεν πρώτη τα 100 ppm και για τη δεύτερη τα 250-500 ppm. Η α τοκοφερόλη έδειξε ότι σε συγκέντρωση μεγαλύτερη των 250 ppm εμφανίζει προοξειδωτική συμπεριφορά. Για μείγματα με αναλογία α:γ τοκοφερόλης 1:1, ο ρυθμός σχηματισμού των υδροϋπεροξειδίων ήταν σχεδόν γραμμικός και δεν παρουσιάστηκε περίοδος επώασης για 6 μέρες. Ο ρυθμός παραγωγής των υδροϋπεροξειδίων αυξήθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης των τοκοφερολών. Αντίθετα, για μείγματα με την ίδια αναλογία σε 250 ppm, ο σχηματισμός των υπεροξειδίων εμποδίστηκε, ειδικά μετά τις 2 πρώτες μέρες.

Οι Lampi et al. [64], μελέτησαν το κραμβέλαιο και έδειξαν πως η α τοκοφερόλη σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 100 μg/g είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση του σχηματισμού

των υδροϋπεροξειδίων παράλληλα με την κατανάλωση της  $\alpha$  τοκοφερόλης, πράγμα το οποίο συμφωνεί με τις προηγούμενες μελέτες, όσον αφορά τη βέλτιστη συγκέντρωση της  $\alpha$  τοκοφερόλης. Σε μείγμα  $\alpha$  και  $\gamma$  τοκοφερόλης σε αναλογία 1:1 για 5  $\mu\text{g/g}$  και 10 $\mu\text{g/g}$  τα αποτελέσματα έδειξαν πως η  $\alpha$  τοκοφερόλη προστατεύει την  $\gamma$  τοκοφερόλη αλλά δεν παρατηρείται συνεργιστική δράση. Σε συγκεντρώσεις των 500  $\mu\text{g/g}$  και στην ίδια αναλογία, τα αποτελέσματα έδειξαν πως η  $\alpha$  τοκοφερόλη ήταν λιγότερο σταθερή, αφού γενικά, σύμφωνα με την ίδια μελέτη, η  $\alpha$  τοκοφερόλη σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 200 ppm εμφανίζεται να είναι φτωχότερο αντιοξειδωτικό.

Επίσης, στην ίδια έρευνα αναφέρεται πως σε μείγμα  $\alpha$  και  $\gamma$  τοκοφερόλης, το περιεχόμενο της  $\gamma$  τοκοφερόλης παραμένει σταθερό μέχρι την κατανάλωση της  $\alpha$  τοκοφερόλης. Οπότε θα μπορούσαμε να θεωρήσουμε πως η  $\gamma$  τοκοφερόλη είναι πιο σταθερή σε σχέση με την  $\alpha$ , στην περίπτωση των μειγμάτων. Σε μείγματα όμως με αναλογία 1:1 και με συγκέντρωση τοκοφερόλης μικρότερη των 10 ppm, η  $\alpha$  τοκοφερόλη ήταν πιο αντιοξειδωτική σε σχέση με την  $\gamma$  τοκοφερόλη είτε όταν εμφανίζονταν μόνες τους είτε σε μείγμα.

Οι Ohm et al. [70] συμφωνούν με τους προηγούμενους ερευνητές όσον αφορά τη βέλτιστη συγκέντρωση της  $\alpha$  τοκοφερόλης (100 ppm) και την αύξηση της παρεμποδιστικής δράσης μέχρι αυτή τη συγκέντρωση. Μέχρι τη συγκέντρωση των 250 ppm δεν εμφανίζονται βελτιωμένα αποτελέσματα, αλλά για συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από αυτή, αυξάνεται ο ρυθμός παραγωγής των υδροϋπεροξειδίων.

Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε πως για να εμφανίζουν οι τοκοφερόλες ή τα μείγματα τους αντιοξειδωτική δράση (ή τουλάχιστον να μην εμφανίζουν προοξειδωτική), θα πρέπει να πληρούνται με την ακόλουθη σειρά οι εξής παράγοντες:

A) Οι συνολικές τοκοφερόλες να βρίσκονται σε συγκέντρωση 500-750 ppm και σε καμία περίπτωση να μην υπερβαίνουν κατά πολύ το ανώτατο όριο, διότι παρατηρείται συχνά προοξειδωτική δράση.

B) Οι συγκεντρώσεις για την  $\alpha$  και  $\gamma$  τοκοφερόλη να είναι 100-250 ppm και 250-500 ppm αντίστοιχα. Σε περίπτωση που οι συγκεντρώσεις που παρατηρούνται είναι μικρότερες από τις προαναφερθείσες, συνήθως δεν παρουσιάζεται συνεργιστική δράση μεταξύ τους, αλλά ούτε και

προοξειδωτική. Μόνο στην περίπτωση που υπερβαίνουν οι τοκοφερόλες τις παραπάνω συγκεντρώσεις είναι πιθανό να παρατηρηθεί προοξειδωτική συμπεριφορά.

Επίσης, από τις παραπάνω μελέτες καταλήγουμε στο συμπέρασμα πως υψηλή συγκέντρωση τοκοφερολών δεν σημαίνει απαραίτητα και αυξημένη αντιοξειδωτική ικανότητα, καθώς και πως η γ τοκοφερόλη είναι πιο σταθερή σε σχέση με την α, με αποτέλεσμα η τελευταία να προστατεύει την πρώτη και έτσι να καταναλώνεται πρώτα η α τοκοφερόλη και μετά η γ. Μόνο όταν η α τοκοφερόλη βρίσκεται σε συγκέντρωση μικρότερη των 10 ppm είναι πιο σταθερή σε σχέση με την γ και καταναλώνεται μετά από αυτή.

### 2.2.3 ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΕΛΑΙΩΝ ΣΕ ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΕΣ

Το περιεχόμενο σε τοκοφερόλες διαφέρει από έλαιο σε έλαιο τόσο ως προς τις ολικές τοκοφερόλες όσο και ως προς τα διαφορετικά είδη τους (α-β-γ-δ) και εξαρτάται και από τη διεργασία στην οποία έχει υποβληθεί το έλαιο μέχρι την τελική του μορφή (π.χ. ακατέργαστο, εξευγενισμένο, αποσμησμένο) [71]. Παρακάτω παρουσιάζεται ένας συγκεντρωτικός πίνακας του περιεχομένου των διαφορετικών ειδών ελαίων σε τοκοφερόλες.

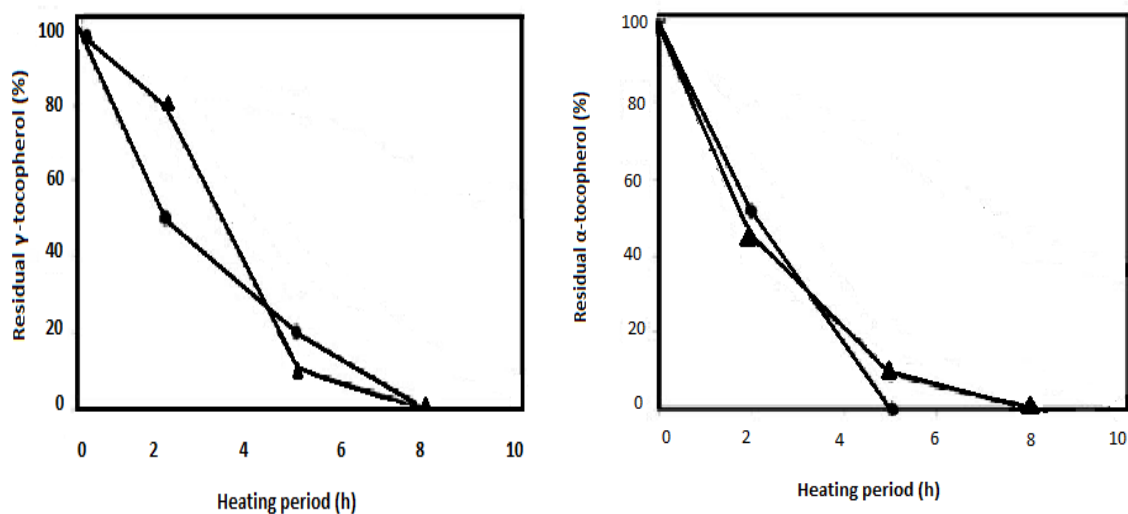
Πίνακας 1.1: Περιεκτικότητα ελαίων σε τοκοφερόλες. Πηγή: 13, 54, 72-80

ΕΛΑΙΟ	ΟΛΙΚΕΣ ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΕΣ (ppm)	α- toc (ppm)	β- toc (ppm)	γ- toc(ppm)	δ – toc (ppm)
ΣΟΓΙΕΛΑΙΟ	605-1400	61-242	traces	600-1300	
ΑΡΑΒΟΣΙΤΕΛΑΙΟ	295-1167	47-236	traces	158-1100	
ΗΛΙΕΛΑΙΟ	271-628	271-628	traces		
ΒΑΜΒΑΚΕΛΑΙΟ	344-900	230-434	~ 0	144-572	~ 0
ΙΧΘΥΕΛΑΙΟ	50-700	50-700	traces		

Όσον αφορά στο ιχθυέλαιο που παρουσιάζεται στον παραπάνω πίνακα, η τοκοφερόλη που συναντάται κυρίως είναι η α τοκοφερόλη, ενώ η β, γ και δ τοκοφερόλη βρίσκονται συνήθως σε μικρές ποσότητες. Οι ποσότητες α τοκοφερόλης που συναντάμε στο ιχθυέλαιο κυμαίνονται συνήθως από 50-350 ppm, αλλά ανάλογα με την πηγή προέλευσής του μπορεί η συγκέντρωσή της να φτάσει τα 700 ppm [13].

Οι τοκοφερόλες φαίνεται να ευνοούν την οξειδωτική σταθερότητα των πιο κορεσμένων ελαίων, σύμφωνα με τους Gunstone et al. [54], ενώ τα δείγματα που ήταν γυμνά σε τοκοφερόλες οξειδώθηκαν πιο γρήγορα. Η ολική αφαίρεση των τοκοφερολών από τα δείγματα είχε αντίκτυπο στην οξειδωτική σταθερότητα των ελαίων αυτών καταδεικνύοντας την μεγάλη επίδραση που μπορούν να έχουν τα φυσικά αντιοξειδωτικά στην οξείδωση.

Η μελέτη οξείδωσης βαμβακελαίου [71] έδειξε ότι στα δείγματα τα οποία δεν περιείχαν ή περιείχαν μικρή ποσότητα τοκοφερολών, η ανάπτυξη των διμερών και των πολυμερών ήταν πολύ μεγαλύτερη σε σχέση με τα δείγματα που περιείχαν μεγαλύτερη ποσότητα, μέσα σε ελάχιστο χρονικό διάστημα (2 ώρες). Τα παρακάτω διαγράμματα αφορούν το μη επεξεργασμένο βαμβακέλαιο και το μερικώς υδρογονοποιημένο και δείχνουν πως σε θερμοκρασία 180°C, οι τοκοφερόλες μέσα σε 5 ώρες έχουν καταναλωθεί κατά το μεγαλύτερο μέρος και εντός 8 ωρών 100% και στα δύο είδη βαμβακέλαιου.



Διάγραμμα 1.1: Κατανάλωση α και γ τοκοφερόλης σε ακατέργαστο (●) και μερικώς υδρογονοποιημένο βαμβακέλαιο (▲)

Επίσης, οι Yuki και Ishikawa [81] αναφέρουν ότι οι τοκοφερόλες χάνονται πιο γρήγορα στα κορεσμένα λίπη σε σχέση με τα ακόρεστα, σε θερμοκρασίες τηγανίσματος. Οι Barrera-Arellano et al. [82] έχουν ήδη παρατηρήσει τη διαφορά στο ρυθμό καταστροφής της  $\alpha$  και  $\gamma$  τοκοφερόλης σε υψηλές θερμοκρασίες εδώ και αρκετά χρόνια και η παραπάνω μελέτη έρχεται να επιβεβαιώσει τη διαφορά αυτή, μιας και τα παραπάνω διαγράμματα δείχνουν ότι η υποβάθμιση της  $\alpha$  τοκοφερόλης είναι πιο γρήγορη από την υποβάθμιση της  $\gamma$  τοκοφερόλης στο βαμβακέλαιο. Οι Warner et al. [83] συνέκριναν την οξειδωτική σταθερότητα του σογιέλαιου με το ηλιέλαιο στο σκοτάδι, στους 60° C και βρήκαν ότι το σογιέλαιο ήταν πιο σταθερό από το ηλιέλαιο, παρ' όλο που το σογιέλαιο περιέχει 8-9% λινολενικό οξύ, που είναι το λιπαρό οξύ που είναι περισσότερο επιρρεπές στην οξείδωση, ενώ το ηλιέλαιο δεν περιέχει σχεδόν καθόλου λινολενικό. Αντίθετα, το ηλιέλαιο έχει μεγαλύτερη οξειδωτική σταθερότητα στο φως από ότι το σογιέλαιο. Τα παραπάνω αποτελέσματα πιθανόν να σχετίζονται με το γεγονός ότι το σογιέλαιο είναι πολύ χαμηλό σε περιεκτικότητα σε  $\alpha$  τοκοφερόλη και αρκετά υψηλό σε  $\gamma$  τοκοφερόλη. Αντίθετα, το ηλιέλαιο περιέχει σχεδόν αποκλειστικά  $\alpha$  τοκοφερόλη και μόνο σε ίχνη περιέχει  $\gamma$  και  $\delta$  τοκοφερόλη.

Η Warner [84] μελέτησε περαιτέρω τη σταθερότητα στο φως και σε σκοτάδι στους 60°C των δύο ελαίων (ηλιέλαιο, σογιέλαιο). Συγκεκριμένα, πρόσθεσε το περιεχόμενο του ηλιελαίου σε τοκοφερόλες, σε σογιέλαιο απαλλαγμένο από τοκοφερόλες και το περιεχόμενο του σογιέλαιου σε τοκοφερόλες, σε ηλιέλαιο απαλλαγμένο από τοκοφερόλες. Τα δυο αυτά δείγματα τα συνέκρινε τόσο μεταξύ τους όσο και με τα αρχικά έλαια (σογιέλαιο, ηλιέλαιο) με το αρχικό τους περιεχόμενο σε τοκοφερόλες. Αρχικά όλα τα δείγματα είχαν χαμηλό αριθμό υπεροξειδίων. Μετά από δύο και τέσσερις μέρες αποθήκευσης στο σκοτάδι, το σογιέλαιο που περιείχε τις αρχικές του τοκοφερόλες είχε αισθητά χαμηλότερο αριθμό υπεροξειδίων από τα υπόλοιπα δείγματα, ενώ το ηλιέλαιο με την αρχική του ποσότητα σε τοκοφερόλες είχε το μεγαλύτερο. Η προσθήκη των τοκοφερολών του ηλιελαίου στο σογιέλαιο είχε σαν αποτέλεσμα την αισθητή αύξηση του αριθμού των υπεροξειδίων στις δύο και τέσσερις μέρες σε σχέση με το σογιέλαιο που περιείχε τις αρχικές του τοκοφερόλες. Αντίθετα, η προσθήκη των τοκοφερολών του σογιέλαιου στο ηλιέλαιο μείωσε αισθητά τον αριθμό υπεροξειδίων σε σχέση με το ηλιέλαιο που περιείχε τις αρχικές του τοκοφερόλες. Στο σκοτάδι, τα έλαια που περιείχαν τις τοκοφερόλες του σογιέλαιου

είχαν καλύτερη οξειδωτική σταθερότητα από τα έλαια με περιεχόμενο σε τοκοφερόλες αυτό του ηλιέλαιου.

Τέλος, όσον αφορά την οξειδωτική σταθερότητα του ιχθυελαίου σε σχέση με τη συγκέντρωση της  $\alpha$  τοκοφερόλης, ο Chol Su Pak [13] κατέδειξε την αντιοξειδωτική ικανότητα της  $\alpha$  τοκοφερόλης όταν αυτή προστίθεται σε ιχθυέλαιο στο οποίο δεν προϋπάρχει το συγκεκριμένο αντιοξειδωτικό. Συγκεκριμένα, ενώ το ιχθυέλαιο χωρίς τοκοφερόλη παρουσίασε στις 42 μέρες αποθήκευσης αριθμό υπεροξειδίων 14 meq/kg, με τη χρήση τοκοφερόλης σε ποσότητες 0,05% και 0,1% ο αριθμός υπεροξειδίων που μετρήθηκε έφτασε τα 10 και 8 meq/kg αντίστοιχα, δηλ. περίπου 14% βελτίωση της οξειδωτικής σταθερότητάς του. Παρ' όλα αυτά, οι διαφορές στο ρυθμό οξείδωσης εμφανίστηκαν από την τρίτη βδομάδα και μετά. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η προσθήκη της  $\alpha$  τοκοφερόλης σε συγκέντρωση 0,05% είναι η βέλτιστη και πως δεν εμφανίζεται περαιτέρω αξιοσημείωτη αντιοξειδωτική δράση με την προσθήκη της στο ιχθυέλαιο σε μεγαλύτερη συγκέντρωση. Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξε και ο Frankel [85], σύμφωνα με τον οποίο η βέλτιστη συγκέντρωση  $\alpha$  τοκοφερόλης είναι 400-600  $\mu\text{g/g}$ .

Οι Zuta et al. [1] προσέθεσαν  $\alpha$  τοκοφερόλη σε συγκέντρωση 50, 100, 250, 500 ppm σε ιχθυέλαιο, στους 30, 4 και  $-40^{\circ}\text{C}$  και τα αποτελέσματα έδειξαν πως η τοκοφερόλη στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις (250 και 500 ppm) ήταν λιγότερο αποτελεσματική στον έλεγχο της οξείδωσης του ιχθυελαίου σε σχέση με τις μικρότερες συγκεντρώσεις της. Τα 50 και 100 ppm δεν έδειξαν κάποια ουσιαστική διαφορά μεταξύ τους στην οξείδωση του ιχθυελαίου αλλά τα 50 ppm θεωρήθηκε η καλύτερη συγκέντρωση  $\alpha$  τοκοφερόλης για τον έλεγχο της οξείδωσης.

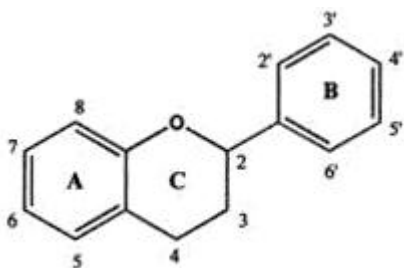
## 2.3 ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ

### 2.3.1 ΓΕΝΙΚΑ-ΔΟΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ

Τα φλαβονοειδή ή βιοφλαβονοειδοίδη είναι μία ομάδα πολυφαινολικών ουσιών οι οποίες είναι παρούσες στα περισσότερα φυτά, συμπυκνωμένες στους σπόρους, στο δέρμα ή στο φλοιό φρούτων και σε λουλούδια. Περισσότερα από 4000 διαφορετικά φλαβονοειδή έχουν εντοπιστεί μέχρι σήμερα καθιστώντας τα τη μεγαλύτερη ομάδα χημικών ουσιών στα φυτά. Πολλά φρούτα και λαχανικά όπως το μήλο και το κρεμμύδι είναι πηγές πλούσιες σε φλαβονοειδή. Επίσης κύρια

πηγή πρόσληψης φλαβονοειδών είναι και ποτά που παρασκευάζονται από φυτικά εκχυλίσματα, όπως η μπύρα, το κρασί και ο χυμός φρούτων [49].

Τα άτομα άνθρακα στα φλαβονοειδή μόρια σχηματίζουν δύο αρωματικούς δακτυλίους, συνήθως συμβολίζονται ως A και B, οι οποίοι συνδέονται με μία γέφυρα τριών ανθράκων C6-C3-C6 σχηματίζοντας έτσι μια διφαινυλο-προπανική δομή με την κεντρική μονάδα να είναι μία βενζο-γ-πυρόνη (χρωμόνη, δακτύλιος A και C).



Σχήμα 1.6: Βασική δομή φλαβονοειδούς

Ανάλογα με τους υποκαταστάτες του ετεροκυκλικού δακτυλίου, τα φλαβονοειδή ταξινομούνται σε φλαβόνες, φλαβανόλες, φλαβονόλες, φλαβανόνες ή ισοφλαβόνες. Στο σχήμα 1.7 παρουσιάζεται η δομή τους.

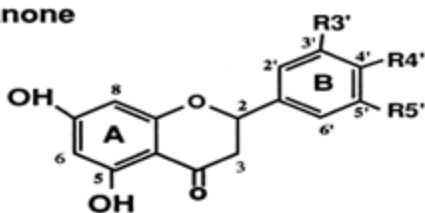
Όντας χρωστικές είναι υπεύθυνες για το χρώμα των φύλλων και των πετάλων. Τα φλαβονοειδή απορροφούν έντονα την υπεριώδη ακτινοβολία UV, συνεπώς η φασματοσκοπία UV-Vis παραμένει το κύριο εργαλείο για την δομική ανάλυση των φλαβονοειδών. Λόγω της ειδικής χημικής τους δομής, τα φλαβονοειδή μπορούν εύκολα να χηλικοποιήσουν μεταλλικά ιόντα και να δημιουργήσουν σύμπλοκες ενώσεις [49].

Δύο από τα πιο γνωστά φλαβονοειδή, τα οποία μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία είναι η κατεχίνη και η κεκρκετίνη και το φαινολικό οξύ: ροσμαρινικό οξύ. Το κάθε ένα από αυτά έχει διαφορετική αντιοξειδωτική δράση, η οποία σχετίζεται με την ικανότητα που έχουν τα φαινολικά αντιοξειδωτικά να δρουν ως δεσμευτές ελευθέρων ριζών, με την ικανότητα που εμφανίζουν να σχηματίζουν σύμπλοκα με μέταλλα μετάπτωσης που δρουν ως υποκινητές της οξείδωσης και να καταστέλλουν τη δράση τους, καθώς και με την δυνατότητα που έχουν να δρουν συνεργιστικά ή όχι με τις τοκοφερόλες, οι οποίες είναι φυσικά αντιοξειδωτικά και απαντώνται στα έλαια. Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει πως η ομάδα που είναι κυρίως

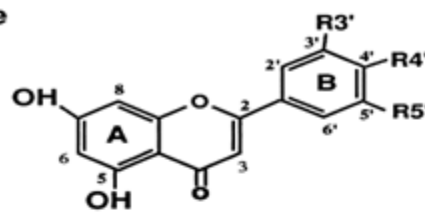


υπεύθυνη για την αντιοξειδωτικότητα των φαινολικών ουσιών είναι το κατεχολικό τμήμα στον B δακτύλιο [53,60]. Οι Frankel και Mayer [86] ισχυρίζονται πως η συμπεριφορά πολλών αντιοξειδωτικών στα έλαια ή/και στα γαλακτώματα ακολουθεί τη θεωρία του πολικού παράδοξου, σύμφωνα με την οποία, τα πολικά αντιοξειδωτικά είναι πιο ενεργά στα έλαια, ενώ τα μη πολικά είναι πιο ενεργά στα γαλακτώματα. Σύμφωνα με την ίδια θεωρία, πιστεύεται πως ο δεσμός υδρογόνου μεταξύ υδρόφιλου αντιοξειδωτικού και νερού πιθανό να μειώνει την ικανότητα του φαινολικού συστατικού να δωρίζει άτομα υδρογόνου και έτσι να εμποδίζει/αναστέλλει την οξείδωση.

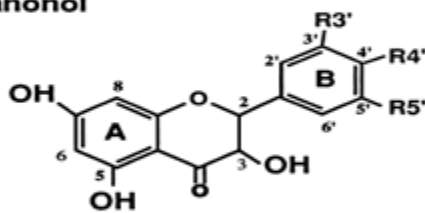
**flavanone**



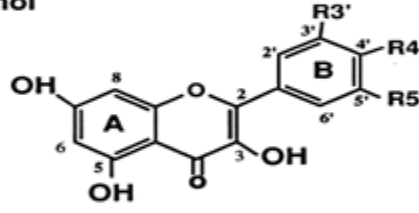
**flavone**



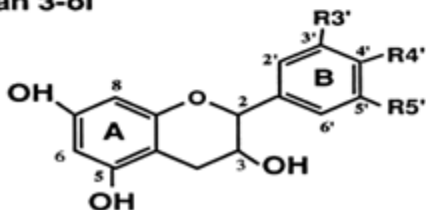
**flavanonol**



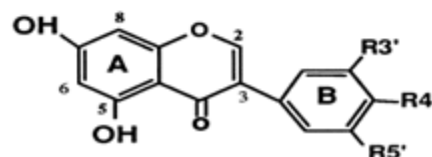
**flavonol**



**flavan 3-ol**



**isoflavone**



Σχήμα 1.7:Ταξινόμηση φλαβονοειδών

Άλλες πάλι μελέτες, αναφέρουν πως η δράση των αντιοξειδωτικών εξαρτάται από την παρουσία και άλλων αντιοξειδωτικών, όπως οι τοκοφερόλες, καθώς και από την παρουσία ή όχι μετάλλων

και πως δεν υπάρχει συγκεκριμένος κανόνας, ο οποίος διέπει τις αντιδράσεις των αντιοξειδωτικών με τα συστατικά του συστήματος στο οποίο μελετώνται.

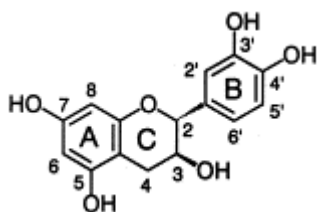
#### Οφέλη των φλαβονοειδών για την υγεία.

Επιστημονικές μελέτες που διεξάγονται τα τελευταία χρόνια δημιούργησαν ένα αυξανόμενο ενδιαφέρον στον εν δυνάμει σημαντικό ρόλο των φλαβονοειδών στη διατήρηση της υγείας του ανθρώπου. Ένας σημαντικός αριθμός από φυτικά φάρμακα που περιέχουν φλαβονοειδή έχει αναφερθεί από πολλούς συγγραφείς ότι έχουν αντιβακτηριακή, αντιφλεγμονώδη, αντιαλλεργική και αντιμεταλλαξιογόνα δράση, καθώς και αντι-ική, αντινεοπλασματική, αντιθρομβωτική και αγγειοδιασταλτική δράση. Στη συντριπτική τους πλειοψηφία, τα φαρμακολογικά αποτελέσματα σχετίζονται με την αντιοξειδωτική δράση των φλαβονοειδών που προκύπτουν από την ικανότητά τους να καταπολεμούν τις ελεύθερες ρίζες. Όταν παράγονται σε περίσσεια, οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να καταστρέψουν τα βιομόρια και επομένως είναι υπεύθυνες για διάφορες ασθένειες καθώς και για τη γήρανση. Η δέσμευση των ριζών από τα φλαβονοειδή συμβαίνει μέσω δωρεάς ηλεκτρονίων από τα ελεύθερα υδροξύλια στον πυρήνα των φλαβονοειδών, με το σχηματισμό μιας λιγότερο αντιδραστικής φλαβονοειδούς αροξυλικής ρίζας, η οποία σταθεροποιείται από συντονισμό και ως εκ τούτου παίζει μόνο ένα μέτριο ρόλο στον πολλαπλασιασμό των ριζών. Ένας αριθμός από μελέτες έχουν αποκαλύψει ότι τα φλαβονοειδή λειτουργούν ως αντιοξειδωτικά μέσω σαρώσεως αντιδραστικών ειδών οξυγόνου. Ένας σημαντικός αριθμός φαρμακευτικών παρασκευασμάτων που περιέχουν φλαβονοειδή ως δραστική ουσία είναι εμπορικά διαθέσιμα σήμερα. Η κεκρετίνη ίσως το πιο βιολογικά δραστικό αντιοξειδωτικό και το πιο συνηθισμένο διατροφικό φλαβονοειδές χρησιμοποιείται γενικά ως συμπλήρωμα διατροφής.

#### 2.3.2 ΚΑΤΕΧΙΝΗ. ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΔΡΑΣΗ ΣΕ ΕΛΑΙΑ

Οι κατεχίνες είναι υδροξυλιωμένα παράγωγα της φλαβανόλης -3, εκ των οποίων η σπουδαιότερη είναι η κατεχίνη, το όνομα της οποίας επεκτάθηκε σε όλη την οικογένεια αυτών των

φλαβανοειδών φαινολών. Επειδή η κατεχίνη έχει δύο ασύμμετρα άτομα C, δίνει ως εκ τούτου τέσσερα ισομερή: την +κατεχίνη, την –κατεχίνη, την + επικατεχίνη και την – επικατεχίνη. Έχει συντακτικό τύπο  $C_{15}H_{16}O_6$ , είναι 5,7,3',4' τετραυδροξυφλαβανόλη-3 και έχει μοριακό βάρος 292 g/mol. Η κατεχίνη είναι ουσία πολύ ευοξειδωτή λόγω του ότι υπάρχουν δύο υδροξύλια σε ορθο-θέση στον πλευρικό δακτύλιο. Όταν θερμανθεί σε όξινο περιβάλλον πολυμερίζεται σε ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους. Το χρώμα των διαλυμάτων της είναι κίτρινο και ανάλογα με το βαθμό πολυμερισμού μπορεί να φτάσει μέχρι καστανόμαυρο [87].



Σχήμα 1.8:Μοριακή δομή κατεχίνης

Η Ohm [88] μελέτησε το κραμβέλαιο (απαλλαγμένο από τοκοφερόλες και μέταλλα) και βρήκε πως η κατεχίνη έδειξε αρκετά καλή αντιοξειδωτική ικανότητα, και μάλιστα όσο αυξανόταν η συγκέντρωσή της, από 50 σε 500  $\mu\text{mol/kg}$ , τόσο αυξανόταν και η αντιοξειδωτική της ικανότητα. Ενδεικτικά μπορούμε να αναφέρουμε πως ο αριθμός των υπεροξειδίων στο έλαιο χωρίς αντιοξειδωτικό έφτασε τα 5, 10 και 25 σε 0.77, 0.95 και 2,5 μέρες αντίστοιχα, ενώ στο έλαιο με προσθήκη κατεχίνης σε συγκέντρωση 500  $\mu\text{mol/kg}$ , ο αριθμός των υπεροξειδίων άγγιξε τα 5 και τα 10 σε διάστημα 41.73 και 44 ημερών. Παρακάτω παρουσιάζεται ένας συγκεντρωτικός πίνακας (πίνακας 1.6) με τα αποτελέσματα της Ohm [88] τόσο για την κατεχίνη όσο και για την κερκετίνη και το ροσμαρινικό οξύ.

Πίνακας 1.6: Χρονικό διάστημα που χρειάστηκε ώστε να φτάσει ο αριθμός των υπεροξειδίων τα 10 και 25 meqO<sub>2</sub>/kg<sub>ελαιού</sub> κατά την οξείδωση του κραμβέλαιου με προσθήκη κατεχίνης, κερκετίνης και ροσμαρινικού οξέως

A.O.	C μmol/kg	PV(αριθμός υπεροξειδίων) meq O <sub>2</sub> /kg	ημέρες
ΚΑΤΕΧΙΝΗ	0	25	2.5
	50	25	14.42
	125	25	33.08
	250	25	39.23
	500	10	44
ΚΕΡΚΕΤΙΝΗ	0	25	2.62
	50	25	14.05
	125	25	29.29
	250	25	52.38
	500	10	68.09
	500	25	94.76
ΡΟΣΜ.ΟΞΥ	0	25	3.73
	50	25	28.80
	125	25	59.20
	250	25	101.60
	500	10	89.07
	500	25	105.60

Υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα φαίνεται να παρουσίασε η κατεχίνη όταν προστέθηκε σε ηλιέλαιο, σύμφωνα με τους Hamed και Allam [89], οι οποίοι συνέκριναν την αντιοξειδωτική ικανότητα διαφόρων αντιοξειδωτικών στο ηλιέλαιο, μεταξύ των οποίων και της κατεχίνης, της οποίας η αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα μετρήθηκε ισομετρικά και με τη βοήθεια υπέρυθρης φασματοσκοπίας (FTIR) και βρέθηκε ίση με 91.66% σε ηλιέλαιο που θερμάνθηκε

στους 70°C για 8 ημέρες στο σκοτάδι. Σημαντική παρατήρηση της συγκεκριμένης μελέτης φαίνεται να είναι το γεγονός πως η σειρά αντιοξειδωτικής αποτελεσματικότητας δεν είναι απαραίτητα ίδια με τη σειρά της ικανότητας δέσμευσης των ελευθέρων ριζών (DPPH). Ενώ, όπως αναφέρθηκε, η αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα της κατεχίνης που μετρήθηκε έφτασε το 91.66%, η ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών DPPH, έφτασε περίπου το 83%. Τελικά, η κατεχίνη φάνηκε να είναι ένα πολύ καλό αντιοξειδωτικό στο ηλιέλαιο, μιας και συγκρίνοντας το έλαιο χωρίς κατεχίνη και το έλαιο με κατεχίνη, τα αποτελέσματα έδειξαν πως ήδη από τη δεύτερη μέρα της οξείδωσης, το ηλιέλαιο πλούσιο σε κατεχίνη είναι πιο σταθερό σε σχέση με αυτό χωρίς το αντίστοιχο αντιοξειδωτικό. Συγκεκριμένα, το ηλιέλαιο χωρίς κατεχίνη, εμφάνισε από τη δεύτερη κιόλας μέρα υψηλό αριθμό υπεροξειδίων, περίπου 140, ενώ την τέταρτη μέρα ξεπέρασε τα 500. Την 7<sup>η</sup> και 8<sup>η</sup> μέρα της οξείδωσης το έλαιο εμφάνισε αριθμό υπεροξειδίων περίπου 320. Αντίθετα, το έλαιο πλούσιο σε κατεχίνη, εμφάνισε αριθμό υπεροξειδίων περίπου 20, ενώ τις υπόλοιπες μέρες μέχρι την 8<sup>η</sup>, ο αριθμός των υπεροξειδίων φάνηκε να είναι σταθερός, περίπου στα 40-50. Από αυτά τα αποτελέσματα μπορούμε να συμπεράνουμε πως η παρουσία της κατεχίνης στο ηλιέλαιο, μειώνει αισθητά την οξείδωσή του.

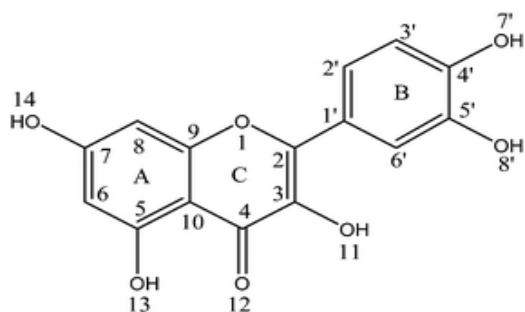
Ενδιαφέρον παρουσιάζει η μελέτη των Michotte et al. [90], σύμφωνα με την οποία η κατεχίνη έδειξε πολύ καλή αντιοξειδωτική δράση στο λινέλαιο, κάτι το οποίο αποδίδεται στο γεγονός ότι η κατεχίνη περιέχει στο μόριό της 5 υδροξυλομάδες, οι οποίες έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν τα υδροξυλικά ανιόντα αλλά και στο γεγονός πως είναι πιθανό να προστατεύει το αλινολενικό οξύ από την οξείδωση. Σε πειράματα θερμικής οξείδωσης φοινικελαίου [166] παρουσιάζεται τόσο η κατεχίνη όσο και η κερκετίνη ως αρκετά αποτελεσματικά αντιοξειδωτικά, με την δεύτερη εξ αυτών να εμφανίζεται αποτελεσματικότερη σε σχέση με την κατεχίνη. Τα δύο αντιοξειδωτικά προστέθηκαν σε συγκέντρωση 0,03 mM στο έλαιο και μετρήθηκε η ικανότητά τους να μειώνουν τα επίπεδα της μαλονυλ-διαλδεύδης (MDA) που είναι ένας δείκτης οξείδωσης. Η κερκετίνη μάλιστα, παρουσίασε αποτελεσματικότητα περίπου 78%, ενώ η κατεχίνη 64%.

Στο ιχθυέλαιο, το οποίο έχει αρκετά διαφορετική σύσταση σε σχέση με τα φυτικά έλαια, όπως αναλύθηκε και σε προηγούμενο κεφάλαιο, η κατεχίνη έδειξε καλή αντιοξειδωτική ικανότητα, ακόμα και όταν αυτό περιείχε ιόντα δισθενούς σιδήρου σε θερμοκρασία 60°C [92].

### 2.3.3 ΚΕΡΚΕΤΙΝΗ. ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΔΡΑΣΗ ΣΕ ΕΛΑΙΑ

Η κερκετίνη (3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone) είναι ένα κίτρινο, κρυσταλλικό στερεό με πικρή γεύση. Είναι αδιάλυτη στο νερό, ελαφρώς διαλυτή σε αλκοόλη, και διαλυτή σε οξικό οξύ και υδατικά αλκαλικά διαλύματα. Ο συντακτικός της τύπος είναι  $C_{15}H_{10}O_7$  και μοριακό βάρος 302,236 g/mol.

Συχνά η κερκετίνη εμφανίζεται ως γλυκοζίτης π.χ. ρουτίνη, στην οποία το υδρογόνο της υδροξυλομάδας του C-4 αντικαθίσταται από ένα δισακχαρίτη. Η κερκετίνη συνήθως λαμβάνεται από την υδρόλυση ρουτίνης, που είναι συχνότερα απαντώμενη στη φύση, αν και μπορεί επίσης και να συντεθεί.



Σχήμα 1.9: Μοριακή δομή κερκετίνης

Η μελέτη θερμικής οξείδωσης φοινικελαίου [91], όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, κατέληξε στο συμπέρασμα πως η κερκετίνη είναι καλύτερο αντιοξειδωτικό σε σχέση με την κατεχίνη, μιας και η πρώτη παρουσίασε αποτελεσματικότητα περίπου 78%, ενώ η κατεχίνη 64%.

Οι συγγραφείς κατέληξαν στο γενικό συμπέρασμα πως οι φλαβονόλες (κερκετίνη) είναι καλύτερα αντιοξειδωτικά από τις φλαβανόνες, τις φλαβόνες και τις φλαβαν-3-όλες (κατεχίνη). Η υδροξυλίωση στην ορθο θέση στο δακτύλιο B έδειξε ισχυρό αντιοξειδωτικό αποτέλεσμα. Ο ελεύθερος υδροξυλ υποκαταστάτης στη θέση 3 στο δακτύλιο C ενισχύει την αντιοξειδωτική ικανότητα του φλαβονοειδούς, ενώ ακόμα μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσιάζουν αυτά που εμφανίζουν επιπροσθέτως έναν διπλό δεσμό μεταξύ των θέσεων C2 και C3 στον C δακτύλιο. Οι ενώσεις που δεν τον εμφάνισαν, είχαν χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Έτσι

εξηγείται πιθανώς και η μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα που εμφάνισε η κερκετίνη σε σχέση με την κατεχίνη.

Σε συμφωνία με την παραπάνω μελέτη, όσον αφορά την υποκατάσταση του C δακτυλίου, βρίσκεται και η έρευνα που έγινε σε βαμβακέλαιο [93]. Φλαβονοειδείς ενώσεις όπως η κατεχίνη και η κερκετίνη, προστέθηκαν σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις στο βαμβακέλαιο. Ο πλήρως υποκατεστημένος C δακτύλιος φάνηκε να είναι ο πιο σημαντικός για την αντιοξειδωτική ικανότητα. Η κερκετίνη έδειξε τη μεγαλύτερη μείωση του αριθμού υπεροξειδίων (PV) και μείωσε και τη σταθερά του ρυθμού οξείδωσης κατά 86% σε σχέση με το έλαιο χωρίς προσθήκη αντιοξειδωτικών.

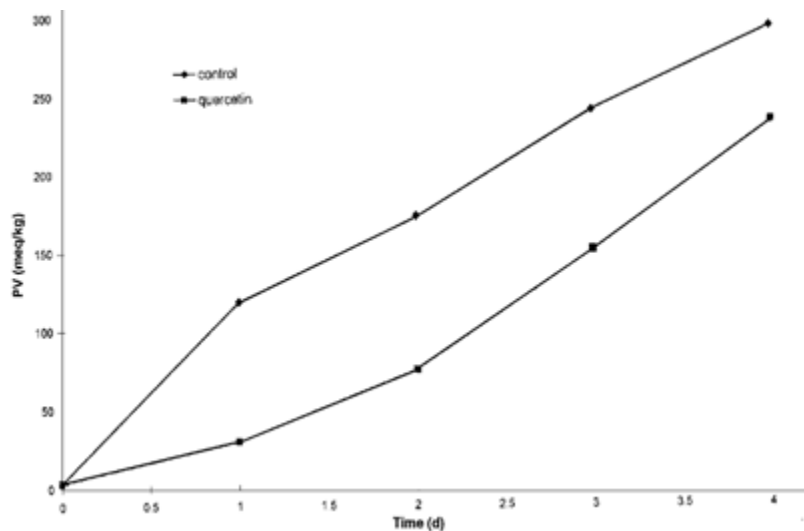
Τα φλαβονοειδή στα οποία έλειπε ο 2,3 διπλός δεσμός ή το υδροξύλιο στην θέση 3, είχαν μικρότερη μείωση του ρυθμού οξείδωσης. Η έλλειψη του καρβονυλίου στην θέση 4 στο C δακτύλιο είχε το μικρότερο αρνητικό αποτέλεσμα στην αντιοξειδωτική ικανότητα, μιας και η κατεχίνη έδειξε την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα μετά την κερκετίνη.

Η μελέτη της οξείδωσης κραμβελαίου [88], όπως φαίνεται και στον πίνακα 1.6, έδειξε ότι η κερκετίνη εμφάνισε ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα και αυξανόμενης της συγκέντρωσής της, αυξανόταν και η αντιοξειδωτικότητα που προσέθετε στο έλαιο. Συγκεκριμένα, ο αριθμός των υπεροξειδίων έφτασε τα 25meq O<sub>2</sub>/kg στο κραμβέλαιο μέσα σε 2.62 μέρες χωρίς την παρουσία κερκετίνης. Όταν αυτή προστέθηκε σε ποσότητα 25ppm, ο αντίστοιχος αριθμός υπεροξειδίων παρατηρήθηκε σε διάστημα 29 περίπου ημερών. Ενώ όταν το αντιοξειδωτικό προστέθηκε σε ποσότητα 250 και 500 ppm, η μέρα στην οποία παρατηρήθηκε αυτός ο αριθμός υπεροξειδίων ήταν η 52<sup>η</sup> και η 95<sup>η</sup> αντίστοιχα.

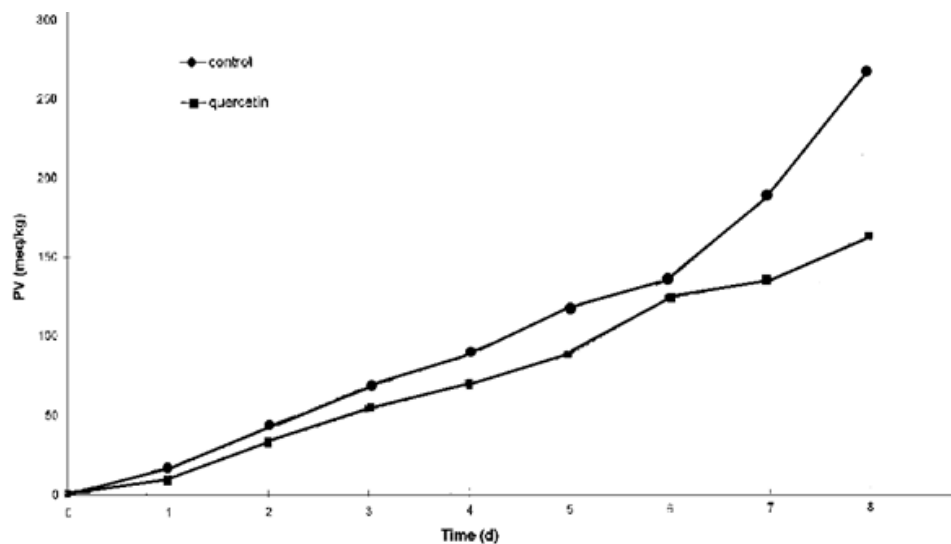
Παρατηρούμε λοιπόν πως σε σύγκριση με την κατεχίνη, η κερκετίνη παρουσιάζει μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα στο κραμβέλαιο, μιας και χρειάζεται να παρέλθει μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στην περίπτωση της κερκετίνης, για να φτάσει ο αριθμός των υπεροξειδίων τα 5,10 και 25 αντίστοιχα σε όλες τις παραπάνω συγκεντρώσεις.

Όταν η κερκετίνη προστέθηκε σε καθαρό ηλιέλαιο, έδειξε ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα [94]. Συγκεκριμένα, η κερκετίνη προστέθηκε σε ποσότητα 10<sup>-4</sup> M τόσο σε καθαρό ηλιέλαιο, όσο και σε ηλιέλαιο το οποίο περιείχε τοκοφερόλες (697 μg/g, εκ των οποίων 657 μg/g είναι η α τοκοφερόλη) και το οποίο θερμάνθηκε στους 60°C. Και στις δύο παραπάνω περιπτώσεις φάνηκε

η αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα της κερκετίνης και ειδικότερα στην πρώτη περίπτωση που προστέθηκε σε καθαρό ηλιέλαιο, όπως φαίνεται και στο παρακάτω διάγραμμα.



Διάγραμμα 1.2: Αριθμός υπεροξειδίων καθαρού ηλιελαίου και πλούσιου σε κερκετίνη



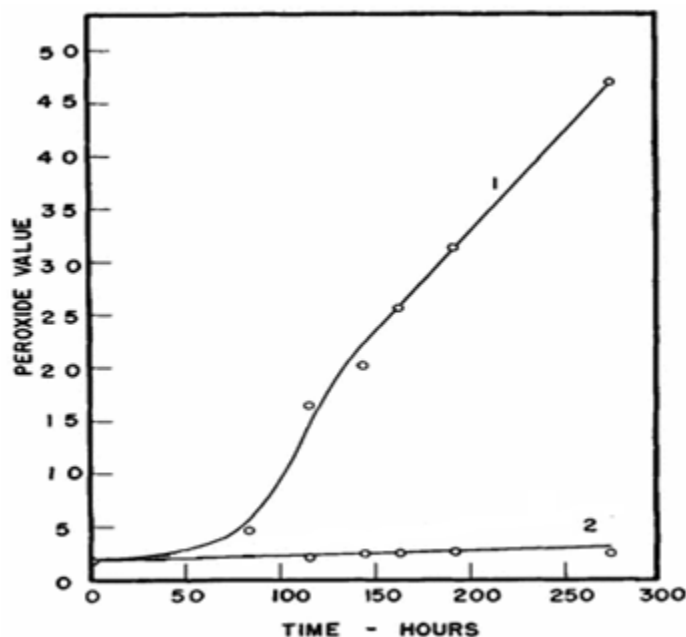
Διάγραμμα 1.3: Αριθμός υπεροξειδίων ηλιελαίου (με τοκοφερόλες) και πλούσιου σε κερκετίνη



Παρ' όλα αυτά η α τοκοφερόλη φάνηκε να είναι καλύτερος δεσμευτής ελευθέρων ριζών από την κερκετίνη. Παρατηρώντας π.χ. στο διάγραμμα 1.2 την καμπύλη του ηλιέλαιου που περιέχει κερκετίνη, βλέπουμε πως ο αριθμός των υπεροξειδίων την 3<sup>η</sup> μέρα της οξείδωσης προσεγγίζει τα 120 meqO<sub>2</sub>/kg ελαίου, ενώ στο διάγραμμα 1.3, η καμπύλη του ηλιέλαιου που περιέχει μόνο τοκοφερόλες (α τοκοφερόλη) δείχνει πως την 3<sup>η</sup> μέρα ο αριθμός των υπεροξειδίων προσέγγισε περίπου τα 70 meqO<sub>2</sub>/kg ελαίου.

Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξε και ο Kowalski [95], ο οποίος αναφέρει την επίδραση που είχε η κερκετίνη στην παρεμπόδιση της οξείδωσης στο ηλιέλαιο. Η κερκετίνη στο ηλιέλαιο που θερμάνθηκε για 72 ώρες κατάφερε παρεμπόδιση της οξείδωσης 9,2%, 9,92% και 8,32% για συγκέντρωση κερκετίνης 0,02%, 0,04% και 0,06%, ενώ για τις 120 ώρες, στις δύο πρώτες περιπτώσεις δεν παρουσιάστηκε παρεμπόδιση της οξείδωσης, ενώ στην τρίτη περίπτωση παρουσιάστηκε παρεμπόδιση 9,21%.

Παρακάτω παρουσιάζεται το διάγραμμα που προέκυψε από την έρευνα των Kurth et al. [96], σχετικά με την αντιοξειδωτική δράση της κερκετίνης στο λαρδί. Τα αποτελέσματά τους συμφωνούν σε μεγάλο βαθμό με τα αποτελέσματα προηγούμενων μελετών όσον αφορά την αποτελεσματικότητα της κερκετίνης και δείχνουν και αυτά με τη σειρά τους πως η κερκετίνη εμφανίζει υψηλή αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα στο λαρδί στους 60°C.



Διάγραμμα 1.4: Αριθμός υπεροξειδίων σε λαρδί και σε λαρδί με προσθήκη κερκετίνης

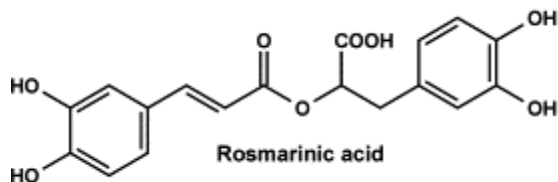
Τέλος, τα αποτελέσματα των de Miranda et al. [97] επιβεβαίωσαν για μια ακόμα φορά, την αντιοξειδωτική ικανότητα που εμφανίζει η κερκετίνη στα φυτικά έλαια. Σύμφωνα με τους υπολογισμούς τους, φάνηκε ότι ο αριθμός υπεροξειδίων στο φρέσκο σογιέλαιο ήταν 0,7 meq/L, ενώ στο έλαιο που υπέστη θέρμανση ήταν 17 meq/L χωρίς την προσθήκη αντιοξειδωτικού. Με την προσθήκη της κερκετίνης ο αριθμός των υπεροξειδίων έφτασε τα 12 meq/L. Συνεπώς, η προσθήκη της κερκετίνης στη συγκεκριμένη περίπτωση έδειξε αντιοξειδωτική δράση για το θερμαινόμενο έλαιο, σε σχέση με το αρχικό έλαιο χωρίς την προσθήκη αντιοξειδωτικού.

Στο ιχθυέλαιο, η κερκετίνη έδειξε επίσης αρκετά καλή αντιοξειδωτική ικανότητα σε σχέση με άλλα φαινολικά αντιοξειδωτικά, και μάλιστα καλύτερη από την αντίστοιχη που έδειξε η κατεχίνη, ακόμα και σε έλαιο που περιείχε ιόντα δισθενούς σιδήρου, σε θερμοκρασία 60°C [92]. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνονται και από την έρευνα των Huber και Shahidi, στην οποία η κερκετίνη έδειξε σχετικά καλή αντιοξειδωτική δράση σε ιχθυέλαιο, αλλά ακόμα καλύτερη δράση σε γαλακτώματά του, κάτι το οποίο επιβεβαιώνει τη θεωρία του πολικού παράδοξου, σύμφωνα με τους συγκεκριμένους συγγραφείς [98].

## 2.4. ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ: ΡΟΣΜΑΡΙΝΙΚΟ ΟΞΥ

### 2.4.1. ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΔΡΑΣΗ ΣΕ ΕΛΑΙΑ

Το ροσμαρινικό οξύ είναι ένα φυσικό φαινολικό οξύ, το οποίο βρίσκεται σε πολλά βότανα, όπως στο φασκόμηλο, τη ρίγανη, το βασιλικό και τη ματζουράνα. Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις βρίσκεται στο δεντρολίβανο (rosemary) από το οποίο πήρε και το όνομά του. Η αντιοξειδωτική του δράση είναι μεγαλύτερη από αυτή της βιταμίνης E. Έχει βρεθεί ότι προστατεύει τα βιολογικά κύτταρα από τις ελεύθερες ρίζες και εκτός αυτού μειώνει τον κίνδυνο καρκίνου και αθηροσκλήρωσης. Έχει συντακτικό τύπο  $C_{18}H_{16}O_8$  και μοριακό βάρος 360.31g/mol. Συναντάται σε μορφή σκόνης, χρώματος πορτοκαλί και είναι ελαφρώς διαλυτό σε νερό, αλλά καλά διαλυτό σε οργανικούς διαλύτες.



Σχήμα 1.10: Μοριακή δομή ροσμαρινικού οξέως

Δυστυχώς, ο αριθμός των μελετών, οι οποίες αναφέρονται στην αντιοξειδωτική δράση του ροσμαρινικού οξέως σε έλαια, είναι περιορισμένος.

Η μελέτη σε κραμβέλαιο [88] φάνηκε και στην περίπτωση του ροσμαρινικού οξέως αρκετά χρήσιμη. Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα (πίνακας 1.6), το ροσμαρινικό οξύ παρουσιάζει αρκετά καλή αντιοξειδωτική ικανότητα και μάλιστα καλύτερη ακόμα και από την κερκετίνη. Συγκεκριμένα, στο κραμβέλαιο που δεν περιείχε αντιοξειδωτικό, ο αριθμός των υπεροξειδίων έφτασε τα 25meqO<sub>2</sub>/kg σε 3.73 ημέρες, ενώ στο έλαιο που περιείχε το αντιοξειδωτικό σε ποσότητα 50, 125, 250 και 500μmol/kg ο αντίστοιχος αριθμός υπεροξειδίων εμφανίστηκε περίπου την 29<sup>η</sup>, την 59<sup>η</sup>, την 102<sup>η</sup> και την 106<sup>η</sup> ημέρα.

Οι Erkan et al. [99] παραθέτουν τον πιθανό λόγο, για τον οποίο το ροσμαρινικό οξύ εμφανίζει αρκετά καλή αντιοξειδωτική ικανότητα και αναφέρουν πως η δράση του ροσμαρινικού οξέως φαίνεται να σχετίζεται με τον αριθμό των υδροξυλομάδων στο μόριό του. Παρ'όλα αυτά, ο αριθμός των υδροξυλομάδων δεν είναι ο μόνος παράγοντας που καθορίζει την αντιοξειδωτική ικανότητα των φαινολικών συστατικών. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως το καρνοσικό οξύ, το οποίο περιέχει 2 υδροξυλομάδες στο μόριό του, εμφάνισε μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από το ροσμαρινικό οξύ. Έτσι, η παραπάνω έρευνα καταλήγει στο γεγονός ότι εκτός από τον αριθμό των υδροξυλομάδων στο μόριο, πιθανό σημαντικό ρόλο παίζουν τόσο οι διπλοί δεσμοί, όσο και η σύνδεσή τους με τις υδροξυλομάδες και τις κετονομάδες. Επίσης, η αντιοξειδωτική ικανότητα φαίνεται να επηρεάζεται σε σημαντικό βαθμό και από την πολικότητα/υδροφοβικότητα του μορίου. Τέλος, σημαντική είναι η παρατήρηση των Réblová και Okrouhlá [100] οι οποίοι κάνουν λόγο για την ικανότητα πολλών φαινολικών οξέων να προστατεύουν την α τοκοφερόλη, με ισχυρότερο από αυτά να παρουσιάζεται το γαλλικό οξύ.

Έτσι, η αντιοξειδωτική ικανότητα του ροσμαρινικού οξέως πιθανόν να οφείλεται και στο γεγονός ότι μπορεί να προστατεύει την α τοκοφερόλη.

## 2.5 ΔΡΑΣΗ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΜΕ ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΕΣ

### 2.5.1 ΚΑΤΕΧΙΝΗ-ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΕΣ

Τα αποτελέσματα των Yin et al. [101], τα οποία επιβεβαιώθηκαν με δύο τρόπους, έδειξαν ότι όταν η αναλογία τοκοφερόλης – κατεχίνης είναι 1:1, τότε παρατηρείται μικρή συνεργιστική δράση, ενώ σε αναλογία 1:2 και 2:1 (ή σε ελάχιστες περιπτώσεις 1:1) παρατηρείται ανταγωνιστική ή προσθετική δράση αντίστοιχα. Ο λόγος για τον οποίο παρατηρείται ανταγωνιστική δράση δεν είναι ακόμα σαφώς ξεκαθαρισμένος. Οι Hras et al. [102] βρήκαν επίσης ότι υπάρχει αρνητική αλληλεπίδραση μεταξύ τοκοφερολών με διάφορα φυτικά εκχυλίσματα πλούσια σε πολυφαινόλες σε συστήματα ηλιελαίου.

Ο Jia et al. [103] και Ostrowska et al. [104], κατέληξαν στο γεγονός ότι η επιγαλοκατεχίνη προστατεύει καλύτερα από όλες τις κατεχίνες τις τοκοφερόλες από την εξάντλησή τους (ουσιαστικά αναστέλλουν την αποσύνθεσή τους). Επομένως, θα μπορούσαμε να πούμε ότι η συνεργιστική δράση τοκοφερόλης-αντιοξειδωτικών οφείλεται στην προστασία των πρώτων από τα δεύτερα καθώς και στην αναγέννηση της α-τοκοφερόλης από τις α τοκοφεροξυλικές ρίζες, με την επίδραση των κατεχινών με εστερικές ομάδες γαλλικού οξέως να είναι ισχυρότερη [105].

Ιδιαίτερα σημαντική φαίνεται να είναι η εργασία της Ohm [88], η οποία μελέτησε την αντιοξειδωτική ικανότητα ποικίλων αντιοξειδωτικών σε κραμβέλαιο. Σε αυτά περιλαμβάνονταν, όπως έχει ήδη αναφερθεί, η κατεχίνη, η κερκετίνη και το ροσμαρινικό οξύ. Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της προσθήκης αρχικά μόνο της κατεχίνης στο έλαιο σε ποσότητα 500  $\mu\text{mol/kg}$  και στη συνέχεια της προσθήκης μόνο τοκοφερόλης στο ίδιο έλαιο και στην ίδια ποσότητα, τα αποτελέσματα έδειξαν πως η κατεχίνη παρουσίαζε πολύ καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από την α τοκοφερόλη. Στη συνέχεια, η Ohm [88] προχώρησε σε συνδυασμό 25 και 500  $\mu\text{mol/kg}$  α τοκοφερόλης με κατεχίνη συγκεντρώσεων 50, 125, 250 και 500  $\mu\text{mol/kg}$ . Ο συνδυασμός δεν έδειξε σε καμία αναλογία να έχει ανασταλτικό αποτέλεσμα στην οξείδωση, αλλά παρατηρήθηκε προσθετική ή ανταγωνιστική δράση, ιδιαίτερα στις αναλογίες όπου η συγκέντρωση της α τοκοφερόλης ήταν 500  $\mu\text{mol/kg}$ .

Πίνακας 1.7:Χρονικό διάστημα που χρειάστηκε ώστε να φτάσει ο αριθμός των υπεροξειδίων τα 10 meq O<sub>2</sub>/kg, κατά την οξείδωσή του κραμβέλαιου, όταν προστέθηκαν σε αυτό διάφοροι συνδυασμοί α τοκοφερόλης και κατεχίνης

C μmol/kg	PV(αριθμός υπεροξειδίων) meq O <sub>2</sub> /kg	ημέρες
25 α-τοκοφ.	10	12.15
500 α-τοκοφ.	10	8.48
50 κατεχ.	10	9.71
125 κατεχ.	10	22.86
250 κατεχ.	10	32.38
500 κατεχ.	10	44
25 α-τοκοφ + 50 κατεχ.	10	19.24
25 α-τοκοφ + 250 κατεχ.	10	43.54
25 α-τοκοφ + 500 κατεχ.	10	45.32
500 α-τοκοφ + 50 κατεχ.	10	11.62
500 α-τοκοφ + 250 κατεχ.	10	14.19
500 α-τοκοφ + 500 κατεχ.	10	14.95

Οι Peyrat-Maillard et al. [106] κατέληξαν σε ένα συμπέρασμα πολύ σημαντικό που εξηγεί σε μεγάλο βαθμό τα παραπάνω αποτελέσματα και αυτό είναι πως η χρήση μιας ουσίας με α τοκοφερόλη είναι χρήσιμη μόνο όταν αυτή έχει μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από την α τοκοφερόλη. Μόνο τότε μπορούν να έχουν συνεργιστική δράση. Έτσι, αν ένα ισχυρότερο αντιοξειδωτικό αναγεννηθεί μέσω ενός ασθενέστερου, η επίδραση του ισχυρότερου διατηρείται περισσότερο. Αντίθετα, αν ένα ασθενέστερο αναγεννηθεί από ένα ισχυρότερο, κατά την αναγέννηση χάνεται η δράση του ισχυρού και μόνο η αντιοξειδωτική δράση του ασθενέστερου αντιοξειδωτικού μένει για την παρεμπόδιση της οξείδωσης. Έτσι, στην περίπτωση της κατεχίνης, απ' τη στιγμή που αυτή εμφανίζεται ισχυρότερο αντιοξειδωτικό από την α

τοκοφερόλη, ο συνδυασμός της πρώτης με την τελευταία δεν αναμένεται να έχει συνεργιστική δράση, όπως και αποδείχθηκε από την παραπάνω μελέτη [88].

### 2.5.2 ΚΕΡΚΕΤΙΝΗ-ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΕΣ

Η κερκετίνη επιλέχθηκε για μελέτη, μιας και σε πολλές μελέτες έχει αναγνωριστεί ως το αντιοξειδωτικό με τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τις φυτικές φαινόλες [109]. Στη μελέτη των Pedrielli και Skibsted [107], η οποία έγινε σε μεθυλεστέρα του λινελαϊκού οξέως, η κεκκετίνη και η κατεχίνη έδειξαν πως μπορούν να αναγεννήσουν την  $\alpha$  τοκοφερόλη. Παρ' όλα αυτά, σύμφωνα με τη μελέτη των Becker et al. [108] φαίνεται ξεκάθαρα η ανταγωνιστική δράση κερκετίνης  $\alpha$  τοκοφερόλης στα καθαρά λάδια.

Οι Becker et al. μελέτησαν την αντιοξειδωτική ικανότητα ορισμένων πολυφαινολικών ουσιών στα λάδια μόνα τους ή σε συνδυασμό μεταξύ τους. Πιο συγκεκριμένα, η κερκετίνη και τα υπόλοιπα αντιοξειδωτικά προστέθηκαν με όλους τους δυνατούς συνδυασμούς σε αγνό έλαιο σε συγκεντρώσεις 0,25-0,5-1-2  $\mu\text{mol/g}$  ελαίου. Η μελέτη έδειξε ότι σε όλες τις περιπτώσεις, η κερκετίνη είχε μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα μόνη της, παρά σε συνδυασμό με υπόλοιπα αντιοξειδωτικά συμπεριλαμβανομένης και της τοκοφερόλης. Άλλες μελέτες έχουν επισημάνει την ανταγωνιστική δράση μεταξύ τοκοφερολών και φυτικών εκχυλισμάτων, πλούσιων σε φαινολικές ενώσεις, σε λαρδί [110] και σε ηλιέλαιο [102].

Η κερκετίνη έδειξε πως η προσθήκη της στο καθαρό κραμβέλαιο έχει σημαντική αντιοξειδωτική δράση [88]. Όσο αυξανόταν η συγκέντρωσή της στο έλαιο, τόσο αυξανόταν και η αντιοξειδωτική δράση που του παρείχε. Σε σχέση με την  $\alpha$  τοκοφερόλη εμφανίστηκε και αυτή όπως και η κατεχίνη, να έχουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από αυτή στις ίδιες συγκεντρώσεις. Σε συνδυασμό με την  $\alpha$  τοκοφερόλη, η κερκετίνη έδειξε σε όλες τις συγκεντρώσεις της, μικρή ανταγωνιστική δράση (για PV = 5) ενώ σε άλλες περιπτώσεις (για PV= 10), έδειξε προσθετική δράση. Για συγκέντρωση της  $\alpha$  τοκοφερόλης 500  $\mu\text{mol/kg}$ , όλοι οι συνδυασμοί έδειξαν ισχυρή ανταγωνιστική δράση και γενικά κανένας συνδυασμός δεν έδειξε συνεργιστική δράση.

Όπως και στην περίπτωση της κατεχίνης που αναφέρθηκε παραπάνω, φαίνεται το συμπέρασμα στο οποίο κατέληξε οι Peyrat-Maillard et al. [106] να επιβεβαιώνει και αυτά τα αποτελέσματα. Η κερκετίνη δηλ. σε συνδυασμό με την  $\alpha$  τοκοφερόλη αναμένεται να έχουν ανταγωνιστική

δράση, μιας και η κερκετίνη εμφανίζεται να είναι πολύ καλύτερο αντιοξειδωτικό σε σχέση με την  $\alpha$  τοκοφερόλη, όταν προστέθηκαν μόνες τους στο έλαιο.

### 2.5.3 ΡΟΣΜΑΡΙΝΙΚΟ ΟΞΥ- ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΕΣ

Στη βιβλιογραφία, δυστυχώς, δεν υπάρχουν πολλές αναφορές σχετικά με τη δράση που εμφανίζει το ροσμαρινικό οξύ με τις τοκοφερόλες. Μόνο η Ohm [88] μελέτησε αρκετούς συνδυασμούς διαφορετικών συγκεντρώσεων ροσμαρινικού οξέως και  $\alpha$  τοκοφερόλης, σε κραμβέλαιο. Συγκεκριμένα, το ροσμαρινικό οξύ αναμειχθηκε σε συγκεντρώσεις 50, 125, 250 και 500  $\mu\text{mol/kg}$  με την  $\alpha$  τοκοφερόλη σε συγκεντρώσεις 25 και 500  $\mu\text{mol/kg}$ . Το ροσμαρινικό οξύ μόνο του έδειξε μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από ότι η  $\alpha$  τοκοφερόλη στις ίδιες συγκεντρώσεις και η αντιοξειδωτική ικανότητα του πρώτου φάνηκε πως αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσής του. Όλοι οι παραπάνω πιθανοί συνδυασμοί μεταξύ ροσμαρινικού οξέως και  $\alpha$  τοκοφερόλης οδήγησαν σε ανταγωνιστική δράση, η οποία ήταν εντονότερη στις υψηλές συγκεντρώσεις ροσμαρινικού οξέως. Η μόνη περίπτωση στην οποία φάνηκε να έχουν συνεργιστική δράση ήταν για συγκεντρώσεις για το μεν ροσμαρινικό οξύ 500  $\mu\text{mol/kg}$  και για την  $\alpha$  τοκοφερόλη 25  $\mu\text{mol/kg}$  όταν ο αριθμός των υπεροξειδίων άγγιξε τα 25 meq  $\text{O}_2/\text{kg}$  ελαίου, αποτέλεσμα το οποίο όμως μπορεί να οφείλεται σε πειραματικό λάθος, μιας και όλες οι υπόλοιπες συγκεντρώσεις έδειξαν ισχυρή ανταγωνιστική δράση.

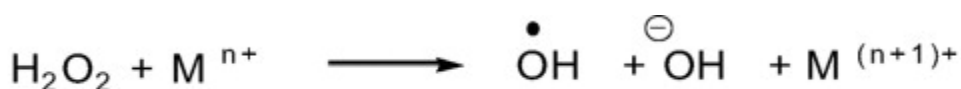
Έτσι, και στην περίπτωση του ροσμαρινικού οξέως, όταν αυτό προστίθεται στο έλαιο σε συνδυασμό με την  $\alpha$  τοκοφερόλη, αναμένεται να παρουσιάσει ανταγωνιστική δράση, σύμφωνα με το συμπέρασμα των Peyrat-Maillard et al. [106], μιας και το ροσμαρινικό οξύ έδειξε μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα όταν προστέθηκε μόνο του στο έλαιο σε σχέση με την  $\alpha$  τοκοφερόλη.

### 3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΤΟ ΡΥΘΜΟ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΗ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ

#### 3.1 ΤΑ ΜΕΤΑΛΛΑ ΩΣ ΥΠΟΚΙΝΗΤΕΣ

Τα οξειδωαναγωγικά δραστικά μέταλλα είναι υποκινητές στην οξείδωση των ελαίων, των διαφόρων τροφίμων και των βιολογικών συστημάτων, διότι βρίσκονται πάντα παρόντα σε αυτά και ακόμα και όταν συναντώνται ως ιχνοστοιχεία επαρκούν, ώστε να οδηγήσουν το σύστημα σε αποτελεσματική κατάλυση. Μόνο τα μέταλλα τα οποία υφίστανται μεταφορά ενός ηλεκτρονίου εμφανίζονται να είναι ενεργοί καταλύτες. Αυτά περιλαμβάνουν το κοβάλτιο, το σίδηρο, το χαλκό, το μαγγάνιο, το μαγνήσιο και το βανάδιο. Μέταλλα τα οποία οξειδώνουν με μεταφορά δύο ηλεκτρονίων όπως είναι  $\text{Sn}^{2+}$  και  $\text{Pb}^{2+}$  δεν είναι ενεργά. Ο μηχανισμός και ο ρυθμός κατάλυσης των αντιδράσεων έναρξης οξείδωσης, από τα μέταλλα τα οποία προϋπάρχουν στα λάδια, καθορίζονται από ένα πολύπλοκο μείγμα παραγόντων: από το ίδιο το μέταλλο και από τον τύπο των συμπλόκων που αυτό σχηματίζει (μορφή εσωτερικής ή εξωτερικής σφαίρας), από τον χηλιωτή, από το δυναμικό οξειδοαναγωγής του μετάλλου και τα σύμπλοκά του, από τους διαλύτες και τη διαθεσιμότητα του οξυγόνου ή τα προσχηματισμένα υδροϋπεροξειδία [111].

Ο σίδηρος και ο χαλκός παίζουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο λόγω του ότι παράγουν υδροξυλικές ρίζες μέσω των αντιδράσεων Fenton και Haber-Weiss.



Σχήμα 1.11: Αντίδραση μετάλλων με υπεροξείδιο του υδρογόνου σύμφωνα με την αντίδραση Fenton και Haber-Weiss

Επιπλέον μέσω των αντιδράσεων τύπου Fenton, προσχηματισμένα λιπιδικά υδροϋπεροξειδία (LOOH) αποσυντίθενται για να σχηματίσουν αλκοξυλικές ρίζες (LO $\cdot$ ), ισχυρά οξειδωτικά που μπορούν να διαδώσουν την αντίδραση της οξείδωσης των λιπιδίων.





Σχήμα 1.12: Αποσύνθεση λιπιδιακών υπεροξειδίων κατά την αντίδρασή τους με μέταλλα

Σύμφωνα με τον Love [112], ο σίδηρος στην τρισθενή μορφή του, είναι γενικά πιο αποτελεσματικός ως εκκινιτής-ελεύθερη ρίζα, λειτουργώντας ως μεταφορέας ενός ηλεκτρονίου, ενώ στη δισθενή μορφή του, ενεργοποιεί το μοριακό οξυγόνο ( $^3\text{O}_2$ ) να δώσει απλό οξυγόνο ( $^1\text{O}_2$ ) και υδροξυδικές ρίζες ( $\cdot\text{OOH}$ ).

Συνεπώς η χηλικοποίηση των μετάλλων μπορεί να αποδειχθεί ιδιαίτερα σημαντική στην παρεμπόδιση της δημιουργίας νέων ριζών, οι οποίες καταστρέφουν βιομόρια στόχους. Έτσι, ένας άλλος αντιοξειδωτικός μηχανισμός των φλαβονοειδών προέρχεται από την ικανότητά τους να αλληλεπιδρούν με τα μέταλλα μετάπτωσης και να παράγουν σύμπλοκα που εμποδίζουν τη συμμετοχή των μετάλλων αυτών στη δημιουργία ελευθέρων ριζών που είναι υπεύθυνες για την έναρξη της οξειδωσης. Η χρήση φυσικών χηλικοποιητών όπως είναι τα φλαβονοειδή, προτιμάται έναντι των συνθετικών, τα οποία παρουσιάζουν προβλήματα που σχετίζονται με την τοξικότητα.

Έτσι, οι αντιοξειδωτικές ικανότητες των φαινολικών αντιοξειδωτικών προέρχονται κυρίως από την ικανότητα προσφοράς υδρογονοκατιόντος, τη δυνατότητά τους να δεσμεύουν τα ενεργά είδη οξυγόνου, αλλά και από τη δυνατότητά τους να δημιουργούν σύμπλοκα με τα μέταλλα, όπως ο σίδηρος και ο χαλκός, τα οποία καταλύουν αρκετές χημικές αντιδράσεις που οδηγούν στην παραγωγή ελευθέρων ριζών [113].

### 3.2 ΣΥΜΠΛΟΚΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΑΠΟ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ

Οι Bors et al. [114] προτείνουν τρία δομικά χαρακτηριστικά των φλαβονοειδών που καθορίζουν τη δυνατότητά τους να σχηματίζουν σύμπλοκα:

- Τις δύο υδροξυλομάδες στους άνθρακες 3 και 4 του Β δακτυλίου
- τη συνύπαρξη του 2,3 διπλού δεσμού σε σύζευξη με την 4-κετο-ομάδα, και
- την 3-υδροξυ-ομάδα στον δακτύλιο C, η οποία αυξάνει τη διασπορά των ηλεκτρονίων σε όλη την έκταση του πυρήνα του φλαβονοειδούς.

Με τις παραπάνω θέσεις σχηματισμού των συμπλόκων συμφωνούν και οι Morel et al. [115], ενώ υπάρχουν και άλλες μελέτες, στις οποίες, προτείνεται ακόμα μία επιπλέον θέση που είναι πιθανώς υπεύθυνη για τη δημιουργία συμπλόκων και αυτή είναι η 5 υδροξυλομάδα που βρίσκεται σε σύζευξη με την 4-κετο-ομάδα στο δακτύλιο C. Ανάμεσα στις πιθανές θέσεις συμπλοκοποίησης, δηλ. ανάμεσα στην 4 κετο-ομάδα σε σύζευξη με την 3 υδροξυλομάδα και στην 4 κετο-ομάδα σε σύζευξη με την 5 υδροξυλομάδα, η τελευταία μάλλον προτιμάται, εκτός και αν αναφερόμαστε σε φλαβόνες που έχουν ορθοκατεχολική ομάδα, οπότε, αυτή η πλευρά μάλλον είναι μια επιπλέον θέση χηλικοποίησης [116].

Η κερκετίνη [117] η οποία πληροί όλες τις παραπάνω απαιτήσεις, έχει υψηλή αντιοξειδωτική δράση και είναι πολλές οι έρευνες, οι οποίες έδειξαν ότι τα αντιοξειδωτικά αποτελέσματά της σε λιπιδιακά συστήματα υπό την παρουσία προ-οξειδωτικών, όπως τα μέταλλα, σχετίζονται με τις παραπάνω θέσεις συμπλοκοποίησης [118, 119].

Αντίθετα, όσον αφορά την κατεχίνη, η οποία δεν έχει 4 κετο-ομάδα, το σύμπλοκο περιέχει μόνο την ορθοκατεχολική ομάδα στις θέσεις 3' και 4' στο δακτύλιο Β [116]. Έτσι, η κατεχίνη χηλικοποιεί τα μέταλλα μόνο μέσω της ορθοκατεχολικής ομάδας.

Είναι γνωστό ότι τα αντιοξειδωτικά κατεχίνη-κερκετίνη-ροσμαρινικό οξύ μπορούν να σχηματίσουν σύμπλοκα με μεταλλικά ιόντα, όπως ο σίδηρος και ο χαλκός αλλά κάποια από αυτά μπορούν να σχηματίσουν και σύμπλοκα με μέταλλα όπως ο ψευδάργυρος (Zn), ο αργίλος (Al) και το κάδμιο (Cd) [113].

Αρκετά ενδιαφέροντα είναι η μελέτη των συμπλόκων των διαφόρων αυτών μετάλλων με τα φλαβονοειδή, προκειμένου να κατανοήσουμε την ικανότητα των φαινολικών αντιοξειδωτικών

να δεσμεύουν τα παραπάνω μέταλλα καθώς και να διαλευκάνουμε τον αριθμό των ηλεκτρονίων που εμπλέκονται σε αυτές τις αντιδράσεις.

Η αποτελεσματικότητα της κατεχίνης και της κερκετίνης φαίνεται να σχετίζεται με το δυναμικό οξειδοαναγωγής και τον αριθμό των υδροξυλικών ομάδων στα μόρια. Όσο μικρότερος είναι ο αριθμός των ομάδων υδροξυλίου, τόσο μικρότερη είναι η πιθανότητα απώλειας υδρογόνου και τόσο μικρότερη η πιθανότητα οξείδωσης του φλαβανοειδούς και αναγωγής του μετάλλου.

### 3.2.1 ΣΥΜΠΛΟΚΟΠΟΙΗΣΗ ΣΙΔΗΡΟΥ

Διάφορες μελέτες, όπως αυτή του Malesev et al. [49] αναφέρουν πως η βενζολική ομάδα είναι αυτή που ευθύνεται για τα σύμπλοκα κερκετίνης – μετάλλου, αλλά άλλες μελέτες αναφέρουν την κατεχολική ομάδα ως υπεύθυνη [120].

Οι Bodni et al [121] φαίνεται να συμφωνούν με την τελευταία άποψη, ότι δηλ. ο σίδηρος σε όξινα μέσα φαίνεται να χηλικοποιείται από την κατεχολική ομάδα της κερκετίνης. Οι [56,88] πιστεύουν πως εκτός των ορθο-υδροξυλομάδων, υπεύθυνη για τα παραπάνω σύμπλοκα είναι και η 3 υδροξυλομάδα του δακτυλίου C. Διάφορες έρευνες [122,123,124] φαίνεται να ενισχύουν αυτήν την άποψη, μιας και το γεγονός ότι η κερκετίνη μπορεί να προσφέρει δύο ηλεκτρόνια κατά τη διάρκεια της συμπλοκοποίησης, σε αντίθεση με την κατεχίνη που προσφέρει μόνο ένα, πιστεύουν πως οφείλεται στην ύπαρξη της 3 υδροξυλομάδας στο δακτύλιο C, ο οποίος συνδέεται με το κατεχολικό τμήμα στον δακτύλιο B μέσω του 2,3 διπλού δεσμού.

Η κερκετίνη, με βάση τους Fernandez et al. [116], σε όξινα pH (κοντά στο 3), στις περισσότερες περιπτώσεις φαίνεται να μπορεί να σχηματίσει σύμπλοκα με το σίδηρο σε αναλογία 1:1 ή 1:2, αλλά πιο συχνά συναντάται η δεύτερη αναλογία τόσο για το δισθενή όσο και για τον τρισθενή σίδηρο. Γενικά, για μόρια με ορθοκατεχολικές ομάδες, σε όξινα pH ( $\text{pH} < 7$ ), προτείνεται ότι δύο ηλεκτρόνια εμπλέκονται στην συμπλοκοποίηση. Σύμφωνα με την ίδια μελέτη, η αποτελεσματικότητα της κερκετίνης φαίνεται να σχετίζεται με το δυναμικό οξειδοαναγωγής και τον αριθμό των υδροξυλικών ομάδων. Η Ohm [88] ουσιαστικά έρχεται να επιβεβαιώσει τα παραπάνω αποτελέσματα για την κερκετίνη με την επισήμανση πως η στοιχειομετρία 1:2 ισχύει μέχρι  $\text{pH} = 5$ , ενώ για  $\text{pH} \geq 6$ , η στοιχειομετρία γίνεται 1:1. Λιγότεροι είναι αυτοί που ισχυρίζονται πως σε συστήματα που αφορούν λάδια και σε pH 5-6, η αναλογία κερκετίνης – δισθενούς σιδήρου είναι 1:3.

Οι Leopoldini et al. [125] έδειξαν πως σε ουδέτερα pH, η αναλογία κερκετίνης-δισθενούς σιδήρου είναι **1:1 ή 1:2**. Επιπλέον πειράματα επιβεβαίωσαν τη **δεύτερη** στοιχειομετρική αναλογία. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως οι πιθανές περιοχές δέσμευσης του σιδήρου είναι τα άτομα οξυγόνου που ανήκουν στις ομάδες 3-υδροξυ και 4-κετο καθώς και στις 5 υδροξυ και 4 κετο-ομάδες και πως η κερκετίνη είναι ένας ισχυρός χηλικός παράγοντας που μπορεί να δεσμεύσει το δισθενή σίδηρο με τέτοιο τρόπο ώστε να αποτραπεί η συμμετοχή του στις αντιδράσεις Fenton.

Όσο το pH μειώνεται, το κατεχολικό κέντρο χάνει τις χηλικές του ιδιότητες και δεν παίζει πλέον ρόλο στο σχηματισμό του συμπλόκου με το μέταλλο. Σύμφωνα με την ίδια μελέτη, όταν η κατεχόλη ήταν υπεύθυνη για τη συμπλοκοποίηση του μετάλλου, τότε η στοιχειομετρική αναλογία που εμφανιζόταν ήταν η 1:1. Αντίθετα, η αναλογία 1:2 εμφανίζεται στα σύμπλοκα που δημιουργούνται μέσω της 3-υδροξυ-4καρβοξυλομάδας. Συνεπώς σε πιο όξινα pH, η αναλογία που συναντάται είναι η 1:2, κάτι το οποίο επιβεβαιώνει τα αρχικά αποτελέσματα της μελέτης 116. Η ίδια αναλογία φαίνεται να ισχύει και για την κερκετίνη με τον τρισθενή σίδηρο [126].

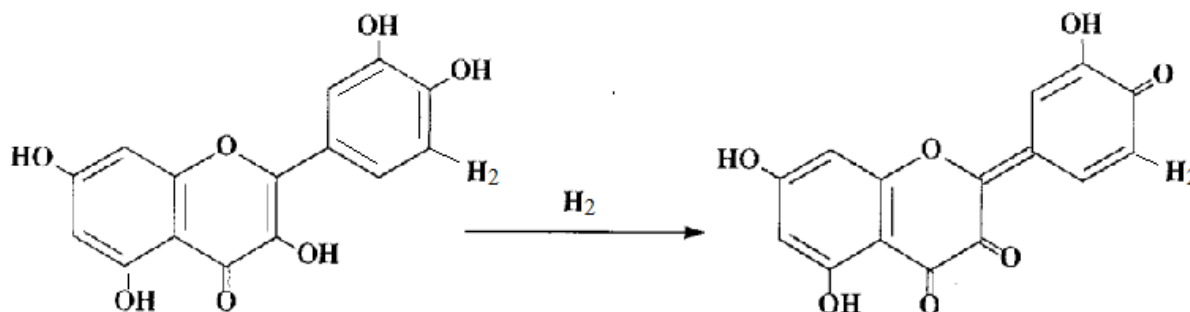
Είναι ενδιαφέρον να εξετάσουμε τις πιθανές δομές των **οξειδωμένων ειδών** των φλαβονοειδών. Στην περίπτωση της **κερκετίνης**, η οξειδωμένη μορφή είναι πιθανώς η κετόνη που προτείνεται από τον Brown et al. [128] και παρουσιάζεται στο σχήμα 1.3, η οποία έχει μία υδροξυλική ομάδα στη θέση 3. Η οξειδωμένη της μορφή, σύμφωνα με τους Fernandez et al. [116] μπορεί να σχηματίσει σύμπλοκα μόνο με τον  $Fe^{2+}$  σε αναλογίες 1:1 και 1:2 με επικρατέστερη την **1:1**.

Από τις παραπάνω, λοιπόν, μελέτες θα μπορούσαμε να καταλήξουμε στο γεγονός πως στην περίπτωση του συμπλόκου κερκετίνη - σιδήρου, οι περισσότερες μελέτες συμφωνούν στο γεγονός ότι σε πιο όξινα pH (<6-7), η αναλογία κερκετίνης- $Fe^{2+}$  που παρατηρείται είναι 1:2, ενώ σε μεγαλύτερα pH και πιο βασικά, η αντίστοιχη αναλογία είναι 1:1. Η δημιουργία του συμπλόκου με την τελευταία αναλογία φαίνεται να οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στις χηλικές ιδιότητες του κατεχολικού τμήματος. Το τμήμα αυτό όμως όσο μειώνεται το pH χάνει τις χηλικές του ιδιότητες και έτσι σε όξινα pH, το τμήμα που φαίνεται να είναι υπεύθυνο για τη δημιουργία του συμπλόκου είναι η 3-υδροξυ-4καρβοξυλομάδα, το οποίο αλλάζει την αναλογία σε 1:2. Στην περίπτωση του τρισθενούς σιδήρου, η αναλογία που φαίνεται να επικρατεί είναι 1:2.

Η αναλογία που παρουσιάζεται ως η πιο συνηθισμένη στην περίπτωση κατεχίνης- σιδήρου σε όξινα διαλύματα είναι **1:1** για τον τρισθενή και δισθενή σίδηρο [122,123,124,127]. Η αναλογία αυτή σε σχέση με την αντίστοιχη κερκετίνης-σιδήρου σε όξινα διαλύματα, μας οδηγεί στο συμπέρασμα πως η κατεχίνη είναι λιγότερο αποτελεσματική όσον αφορά τη χηλικοποίηση του σιδήρου.

Επιπλέον, η παρουσία του 2,3 διπλού δεσμού σε σύζευξη με την 4-κετο ομάδα στο δακτύλιο C, είναι ιδιαίτερα σημαντική, καθώς αποδεικνύει τη διαφορά στην ισχύ αντιοξειδωτικότητας μεταξύ κατεχίνης- κερκετίνης, μιας και η κατεχίνη φαίνεται πως χηλικοποιεί τα μέταλλα μόνο μέσω της ορθοκατεχολικής ομάδας.

Οι παρατηρήσεις της Fernandez et al. [116] έδειξαν ότι δύο άτομα υδρογόνου χάθηκαν στις περισσότερες αντιδράσεις αντιοξειδωτικών-μετάλλου που αφορούσαν την κερκετίνη και την κατεχίνη που έχουν ορθοκατεχολική ομάδα. Ως εκ τούτου, αυτά τα μόρια μπορεί να έχουν μια εναλλακτική δομή σε σχέση με αυτή που προτείνεται από τους Brown et al [128] στο σχήμα 1.3, όπως φαίνεται παρακάτω:



Σχήμα 1.13: Εναλλακτική δομή οξειδωμένων φλαβονοειδών

Οι Brown et al [128] πρότειναν την κετόνη ως την οξειδωμένη μορφή των αντιοξειδωτικών που περιέχουν διπλό δεσμό ανάμεσα στις θέσεις 2 και 3 στο δακτύλιο C, όπως η κερκετίνη. Αντίθετα, η κατεχίνη δεν έχει διπλό δεσμό ανάμεσα στις θέσεις 2 και 3 στο δακτύλιο C, ο οποίος ενισχύει το σχηματισμό δομών ισοδύναμων με της δομής της κετόνης. Λόγω λοιπόν του ότι η παρουσία του διπλού δεσμού στις θέσεις 2,3 στο δακτύλιο C είναι πιθανό να αυξάνει την επιπεδότητα και τη σταθερότητα του μορίου και μπορεί να είναι υπεύθυνη για την αύξηση της

αντιοξειδωτικής ικανότητας ορισμένων αντιοξειδωτικών, η κατεχίνη μπορεί να εμφανίζεται σε μερικές περιπτώσεις ως φτωχότερο αντιοξειδωτικό σε σχέση με την κερκετίνη.

Σημαντική, επίσης, όσον αφορά την αντιοξειδωτική ικανότητα της κατεχίνης φαίνεται να είναι και η διαπίστωση πως η οξειδωμένη μορφή της κατεχίνης δεν έχει τη ικανότητα να δεσμεύει το σίδηρο, σε αντίθεση όπως αναφέρθηκε για την κερκετίνη [116].

### 3.2.2 ΣΥΜΠΛΟΚΟΠΟΙΗΣΗ ΧΑΛΚΟΥ

Όσον αφορά τα σύμπλοκα κερκετίνης-χαλκού οι διάφορες μελέτες που έχουν γίνει κατά καιρούς δεν έχουν καταφέρει να δώσουν μια ξεκάθαρη εικόνα για αυτά. Ανάλογα με τις πειραματικές συνθήκες καθώς και με την περίσσεια του μεταλλικού ιόντος, οι Cornard και Merlin [56] και οι Souza et al. [57] διαπίστωσαν ότι δύο διεργασίες χηλικοποίησης που σημειώνονται διαδοχικά, εμπλέκουν δύο θέσεις δέσμευσης του δισθενούς χαλκού στην κερκετίνη: την 3-υδροξυ χρωμόνη και τις ορθο-υδροξυ ομάδες, ενώ οι Bai και Song [129] υποδεικνύουν τις τελευταίες ως τις μόνες που συμμετέχουν στη διαμόρφωση του συμπλόκου. Αντίθετα, οι Mira et al. [130] και Fernández et al. [131] ισχυρίζονται πως η 4-κετο-5-OH ομάδα είναι υπεύθυνη για τη σύνδεση των φλαβονοειδών με το χαλκό, ενώ, το τμήμα της κερκετίνης που φαίνεται να δεσμεύει το δισθενή χαλκό σύμφωνα με τους Esparza et al. [126] και Brown et al. [132] είναι η κατεχολική ομάδα.

Στην εργασία των Fernandez et al. [116], αναφέρεται πως μόνο οι μη οξειδωμένες μορφές της κερκετίνης μπορούν να συμπλοκοποιήσουν τον δισθενή χαλκό σε αναλογία 1:1, 1:2 και 1:3, με επικρατέστερη εξ αυτών την 1:2. Με τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν και οι Esparza et al. [126], οι οποίοι υποστηρίζουν πως σε pH=4 η κερκετίνη μπορεί να λαμβάνει στο μόριό της 2 και 3 φορές τον χαλκό. Αντίθετα, η κατεχίνη εμφανίζει σύμπλοκα με το δισθενή χαλκό σε αναλογίες 1:1 και 1:2, με επικρατέστερη την 1:1, καθώς και με τον μονοθενή στην ίδια αναλογία [116,126]. Σε γενικές γραμμές οι ομάδες που συμμετέχουν στη δημιουργία των συμπλόκων κατεχίνης – σιδήρου είναι και αυτές που συμμετέχουν στα σύμπλοκα κατεχίνης – χαλκού.

Οι αναλογίες λοιπόν στις οποίες εμφανίζονται τα σύμπλοκα κερκετίνης και κατεχίνης με το χαλκό είναι για τη μεν πρώτη 1:2, ενώ για την δεύτερη 1:1. Έτσι, θα μπορούμε να πούμε πως η κερκετίνη φαίνεται πιο αποτελεσματική στη δέσμευση του χαλκού σε σχέση με την κατεχίνη.

### 3.2.3 ΣΥΜΠΛΟΚΟΠΟΙΗΣΗ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ

Τα σύμπλοκα των διαφόρων μετάλλων μπορούν να επαναοξειδωθούν από οξυγόνο, ειδικά τα σύμπλοκα κερκετίνης. Τα ιόντα ψευδαργύρου, απ' την άλλη, δεν παίρνουν μέρος σε τέτοιου είδους αντιδράσεις (οι οποίες συχνά οδηγούν στην αναδιοργάνωση των πολυφαινολικών μορίων) και έχουν την ικανότητα μετά τη δημιουργία συμπλόκου με τις φαινολικές ουσίες, να σταματάνε την οξείδωση και να μην επιτρέπουν στα σύμπλοκά τους να ξαναοξειδωθούν [113,133]. Ο ψευδάργυρος με ηλεκτρονιακή δομή  $d^{10}$  δεν ευθύνεται για οξειδοαναγωγικά φαινόμενα σε μεγάλο εύρος δυναμικού και μπορεί να σταματήσει τη διαδικασία της οξείδωσης και έτσι να εμποδίζει τις αντιδράσεις που ακολουθούν την πολυφαινολική οξείδωση.

Όσον αφορά την κερκετίνη φαίνεται να υπάρχουν δύο πιθανά σημεία στο μόριό της που μπορούν να δημιουργήσουν σύμπλοκα με τον Zn. Το πρώτο είναι η 3-υδροξυ-4καρβοξυλομάδα στον δακτύλιο C και το δεύτερο η 3'-υδροξυ ομάδα στον B δακτύλιο. Όταν η 3-υδροξυ-χρωμονική ομάδα λείπει ή είναι υποκατεστημένη, το σύμπλοκο με τον ψευδάργυρο λαμβάνει χώρα μεταξύ της 4-καρβονυλομάδας στο δακτύλιο C και του OH στη 5 θέση του δακτυλίου A.

Αν λάβουμε υπόψη τα  $pK_a$  της κερκετίνης και της κατεχίνης (παρακάτω πίνακας) και με βάση τις θέσεις σύνδεσης που αναλύσαμε παραπάνω, μπορούμε να δούμε ότι ο Zn δρα σαν ένα οξύ κατά Lewis και ποτέ δεν εμφανίζεται ο δεσμός για τη δημιουργία συμπλόκου στο OH στη θέση 7 (στον A δακτύλιο) διότι είναι πιο ιονισμένο, μιας και το H8, ένα από τα πιο κοντινά πρωτόνια, δεν μετατοπίζεται ποτέ και δεν αλλάζει.. Η συμπλοκοποίηση εμφανίζεται κυρίως μεταξύ μιας φαινολικής ομάδας και μιας καρβονυλικής ομάδας ή μεταξύ δύο ορθο-φαινολικών ομάδων.

Πίνακας 1.8: Σταθερές  $pK_a$  των φαινολικών δακτυλίων A, B, C της κατεχίνης και της κερκετίνης

Polyphenol	Ring A		Ring B		Ring C
	OH-7	OH-5	OH-4 <sup>0</sup>	OH-3 <sup>0</sup>	OH-3
Quercetin	6.74	9.02	11.55		
(+)-Catechin	8.64?	9.41	11.24	13.26	15

Άλλες έρευνες καταλήγουν πως η δομή που φαίνεται να δεσμεύει το μέταλλο και να είναι υπεύθυνη για τη διαμόρφωση των συμπλόκων του Zn με την κατεχίνη και την κερκετίνη είναι η

κατεχολική ομάδα και η αναλογία κερκετίνης με δισθενή ψευδάργυρο που παρατηρείται είναι **1:2** [126]. Ενώ οι de Souza et al [57] συμφωνούν με την άποψη αυτή καταδεικνύοντας την 3'-4' κατεχολική ομάδα ως υπαίτια για τη δέσμευση των μετάλλων από τα φλαβονοειδή, στην εργασία των Bai et al [129] φαίνεται ότι και η 3-OH-4-κετο ομάδα και η 3'-OH-4'-OH ομάδα συμμετέχουν στη διαμόρφωση του συμπλόκου. Υπάρχουν όμως και μελέτες στις οποίες αναφέρεται πως ο σχηματισμός συμπλόκου ψευδαργύρου –κατεχίνης δεν είναι δυνατός [113].

Σε pH=4 υπολογίστηκε ότι η κατεχίνη σχηματίζει σύμπλοκα με τον ψευδάργυρο σε αναλογία 1:1, ενώ η κερκετίνη μπορεί να λαμβάνει στο μόριό της 2 και 3 άτομα ψευδαργύρου [126]. Απ' την άλλη, η κερκετίνη μπορεί να συνδέσει δύο άτομα μετάλλου μέσω του κατεχολικού και των 4-οξο- 5 υδροξυλ- υποκαταστατών. Συνεπώς η κερκετίνη φαίνεται πιο αποτελεσματική στη δέσμευση του ψευδαργύρου [133].

Για την κατεχίνη η πιο σταθερή δομή της φαίνεται να είναι η οξειδωμένη της μορφή, σε αντίθεση με την κερκετίνη που είναι η μη οξειδωμένη της μορφή [113] και δεν παρατηρείται συμπλοκοποίηση για την μη οξειδωμένη κατεχίνη. Η ίδια μελέτη αναφέρει πως η μη δημιουργία συμπλόκων κατεχίνης με ψευδάργυρο οφείλεται στο γεγονός ότι λείπει η C4-καρβονυλική ομάδα στο δακτύλιο C και στο πολύ υψηλό Pk των ομάδων 3'-OH και 4'-OH.

### 3.3 ΣΥΜΠΛΟΚΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΑΠΟ ΡΟΣΜΑΡΙΝΙΚΟ ΟΞΥ

Δυστυχώς, η βιβλιογραφία όσον αφορά τα σύμπλοκα ροσμαρινικού οξέως και διάφορων μετάλλων είναι φτωχή. Στην έρευνα μόνο που έκαναν οι Psotová et al. [134] σε ουδέτερο pH κατέληξαν σε συγκεκριμένες αναλογίες που εμφανίζονται ανάμεσα στα σύμπλοκα που δημιουργεί το ροσμαρινικό οξύ με το σίδηρο, καθώς και με το χαλκό. Όλες οι πιθανές αναλογίες στις οποίες κατέληξε ήταν 1:1 και 1:2 για κάθε σύμπλοκο του ροσμαρινικού οξέως με δισθενή χαλκό, με δισθενή και τρισθενή σίδηρο.

Όσον αφορά τα σύμπλοκα ροσμαρινικού οξέως – ψευδαργύρου, φαίνεται πως δεν απαντώνται ή δεν έχουν μελετηθεί, μιας και στη βιβλιογραφία δεν αναφέρεται το συγκεκριμένο σύμπλοκο.



## **B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ**

#### **4.1 ΣΚΟΠΟΣ**

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας που εμφανίζουν συγκεκριμένες φαινολικές ενώσεις όπως η κερκετίνη, η κατεχίνη και το ροσμαρινικό οξύ σε έλαια και η συσχέτιση της επίδρασης ενδογενών παραγόντων με τα αποτελέσματα αυτά. Τα έλαια τα οποία μελετήθηκαν ήταν το αραβοσιτέλαιο, το σογιέλαιο, το βαμβακέλαιο, το ηλιέλαιο και το ιχθυέλαιο και προσπαθήσαμε να ερευνήσουμε την επιρροή που ασκούν στο φαινόμενο της οξείδωσης, παράγοντες όπως η σύστασή τους σε λιπαρά οξέα και η περιεκτικότητά τους σε τοκοφερόλες και μέταλλα, σε συνδυασμό με τις προαναφερθείσες φαινολικές ουσίες. Η δράση των φαινολικών ουσιών εκτιμήθηκε επίσης με βάση τη δέσμευση της ρίζας DPPH.

Επίσης, έγινε προσπάθεια απομόνωσης ροσμαρινικού οξέως από αιθανολικά εκχυλίσματα δίκταμου, με στόχο την όσο το δυνατό μεγαλύτερη ανάκτησή του από τα εκχυλίσματα.

#### **4.2 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ**

Με σκοπό να αξιολογήσουμε την αντιοξειδωτική δράση των τριών φαινολικών ενώσεων, προχωρήσαμε αρχικά στη δοκιμή δέσμευσης ελευθέρων ριζών DPPH, ώστε να διαπιστώσουμε την ικανότητα που εμφανίζει το κάθε φαινολικό αντιοξειδωτικό να δεσμεύει τις ελεύθερες ρίζες.

Στη συνέχεια της εργασίας μας, προκειμένου να ερευνήσουμε την παρεμπόδιση της οξείδωσης των ελαίων στα αρχικά στάδια, πραγματοποιήθηκε εμπλουτισμός των διαφόρων ελαίων με όλες τις παραπάνω φαινολικές ενώσεις και μελετήθηκε η οξειδωτική σταθερότητα των ελαίων στους 60°C για τρεις βδομάδες, μετρώντας τον αριθμό των υπεροξειδίων ανά τακτά χρονικά διαστήματα με τη μέθοδο Cd 8-53 της AOCS.

Ακολούθησε μέτρηση της περιεκτικότητας των ελαίων σε βαρέα μέταλλα (Fe, Cu, Zn, Pb, Cr) με τη μέθοδο της Φασματομετρίας Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (ICP-MS) και έγινε ανάλυση του περιεχομένου τους σε φυσικές τοκοφερόλες (α-, β-, γ- και δ-) με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC) σύμφωνα με την μέθοδο Ce 8-89 της AOCS. Με

βάση αυτά τα αποτελέσματα, καθώς και το περιεχόμενο των ελαίων σε λιπαρά οξέα, είναι δυνατή η συσχέτιση του ρυθμού οξειδωσης των ελαίων με τη σύστασή τους, αλλά και το περιεχόμενο σε ενδογενή αντιοξειδωτικά (τοκοφερόλες) ή προοξειδωτικά (μέταλλα), καθώς και η συσχέτιση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των φαινολικών ενώσεων με τους παραπάνω παράγοντες.

Τέλος, επειδή το ροσμαρινικό οξύ απεδείχθη καλό αντιοξειδωτικό, έγινε ποσοτικός προσδιορισμός σε διαθέσιμα αιθανολικά εκχυλίσματα δίκταμου, και προσπάθεια ανάκτησής του από τα εκχυλίσματα.

#### 4.3 ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ - ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Τα έλαια που χρησιμοποιήσαμε αποτελούνταν από τέσσερα σπορέλαια: αραβοσιτέλαιο, βαμβακέλαιο, ηλιέλαιο, σογιέλαιο και από ένα ιχθυέλαιο. Η προμηθευτική εταιρία των τριών πρώτων σπορέλαιων ήταν η «MINEPBA A.E.», ενώ του σογιέλαιου ήταν η «ΜΥΛΟΙ ΣΟΓΙΑΣ A.E.». Το ιχθυέλαιο το προμηθευτήκαμε από την ισλανδική εταιρία «LYSI H.F.». Οι αντιοξειδωτικές ουσίες που εισάγαμε στα παραπάνω έλαια ήταν η κατεχίνη (catechin hydrate  $\geq$  98%, Sigma Aldrich), η κερκετίνη (quercetin hydrate  $\geq$  98%, Sigma Aldrich) και το ροσμαρινικό οξύ (Rosmarinic acid  $\geq$  96%, Sigma Aldrich). Στη δοκιμή δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας, χρησιμοποιήσαμε DPPH της εταιρίας Sigma Aldrich.

Τα αντιδραστήρια τα οποία χρησιμοποιήσαμε ήταν τα εξής: Οξικό οξύ (99.8%, Sigma Aldrich), χλωροφόρμιο (Analytical Reagent Grade, Fisher Chemical), αιθανόλη (Analytical Reagent Grade, Fisher Chemical), οξικός αιθυλεστέρας (anhydrous 95% , Sigma Aldrich), ακετόνη (Analytical Reagent Grade, Fisher Chemical),θειοθειικό νάτριο ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , 0.1N Carlo Erba), ιωδιούχο κάλιο (Merck), δείκτης φαινολοφθαλεΐνης (panreac), μεθανόλη για μετρήσεις στο φωτόμετρο κατά τη δοκιμή DPPH (HPLC gradient grade, Fisher Scientific).

Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν κατά την Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης ήταν η μεθανόλη, νερό, ακετονιτρίλιο, εξάνιο, ισοπροπανόλη (HPLC, gradient grade, Fisher Scientific)

#### 4.4 ΣΥΣΚΕΥΕΣ

Για τη δοκιμή δέσμευσης ελευθέρων ριζών DPPH χρησιμοποιήθηκε το ψηφιακό φασματοφωτόμετρο Unicam Helios (Spectronic Unicam EMEA, Cambridge, United Kingdom).

Για τα δείγματα, καθ' όλη τη διάρκεια της οξειδωσης χρησιμοποιήθηκε φούρνος της Therawatt.

Κατά την ανάκτηση του ροσμαρινικού οξέως χρησιμοποιήθηκε περιστροφικός εξατμιστής κενού Büchi RE 111 με ενσωματωμένο υδρόλουτρο Büchi 461 (Büchi Laboratoriums Technik AG, Flawil, Switzerland).

Οι αναλύσεις των εκχυλισμάτων και των συμπυκνωμάτων κατά την ανάκτηση του ροσμαρινικού οξέως έγιναν με τη βοήθεια της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC), που αποτελούνταν από αντλία βαθμωτής έκλυσης, HP 1100 και ανιχνευτή παράταξης φωτοδιόδων (Diode Array Detector, DAD) (Hewlett-Packard, Waldbronn, Germany), συνδεδεμένα με στήλη Hypersil C18 column ODS 5 $\mu$ m, 250x 4.6mm (MZ Analysentechnik, Mainz, Germany), ενώ για την ανάλυση του περιεχομένου των ελαίων σε τοκοφερόλες, που έγινε με χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), χρησιμοποιήθηκε στήλη Lichrosorb SI 60, 250mm \* 4.0mm, με μέγεθος πόρων 5 $\mu$ m.

Τέλος, ο προσδιορισμός των βαρέων μετάλλων που εμπεριέχονταν στα έλαια έγινε με Φασματομετρία Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (7.700 Series ICP-MS, Agilent Technologies), ενώ η χώνευση των δειγμάτων πριν οδηγηθούν για τον παραπάνω προσδιορισμό έγινε με το μοντέλο StartD (Microwave Digestion System, Milestone) και το θερμοκρασιακό πρόγραμμα που επιλέχτηκε ήταν το SOIL TOTAL.

#### 4.5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

##### 4.5.1. ΔΟΚΙΜΗ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ DPPH.

Η μέθοδος DPPH (1,1-διφαινυλο-2-πικρύλουδράζυλο) είναι μία μέθοδος εκτίμησης του πολυφαινολικού περιεχομένου που βασίζεται στη μέτρηση της ικανότητας αναγωγής ελευθέρων ριζών DPPH. Στην ικανότητα αυτή των πολυφαινολών, αποδίδεται η αντιοξειδωτική τους δράση, με αποτέλεσμα η μέθοδος αυτή να δίνει μετρήσεις της συνολικής αντιοξειδωτικής

ικανότητας των πολυφαινολών. Αποτελεί *in vitro* τεχνική και πλεονεκτεί ως προς το ότι η δέσμευση των ελεύθερων ριζών του DPPH από τις πολυφαινόλες του δείγματος και η φασματοφωτομέτρηση του συνολικού διαλύματος αντίδρασης (π.χ. εκχύλισμα-DPPH) δεν είναι χρονοβόρες διαδικασίες. Οι φωτομετρήσεις γίνονται στα 515-700nm. Υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα συνεπάγεται αυξημένη δέσμευση των ελευθέρων ριζών του DPPH, παραγωγή ανοιχτόχρωμου προϊόντος (από ιώδες σε ανοιχτό κίτρινο) και κατά επέκταση μειωμένη τιμή απορρόφησης. (Roginsky & Lissi, 2004).

## ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΡΙΖΑΣ DPPH ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ

### ΔΙΑΛΥΜΑ ΡΙΖΑΣ DPPH

Σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL προσθέσαμε 2.5 mg ρίζας DPPH και προσθέσαμε περίπου 50 mL διαλύτη. Μετά από έντονη ανακίνηση του διαλύματος, η ρίζα διαλύθηκε πλήρως και στη συνέχεια έγινε πλήρωση μέχρι τη χαραγή με μεθανόλη .

### ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ

Για το διάλυμα της κατεχίνης ζυγίσαμε 2.5 mg της ουσίας και τα διαλύσαμε σε ογκομετρική φιάλη των 25mL με μεθανόλη.

Για το διάλυμα της κερκετίνης ζυγίσαμε 2.7 mg της ουσίας σε ογκομετρική φιάλη των 25 ml και πληρώσαμε έως τη χαραγή με μεθανόλη.

Αντίστοιχα, για το διάλυμα του ροσμαρινικού οξέως ζυγίσαμε 3.9 mg του αντιοξειδωτικού σε ογκομετρική φιάλη των 25 ml και πληρώσαμε με μεθανόλη όπως και προηγουμένως.

### ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΦΩΤΟΜΕΤΡΗΣΗΣ

Πριν τη διαδικασία της φωτομέτρησης γίνεται καθαρισμός του φωτόμετρου και μηδενισμός με διαλύτη μεθανόλης.

Αρχικά, από το κάθε διάλυμα αντιοξειδωτικού παρασκευάζονται 5 διαλύματα διαφορετικών συγκεντρώσεων. Στη συνέχεια μεταφέρονται σε 6 γυάλινες κυψελίδες 3.9ml ρίζας DPPH. Στις 5 εξ αυτών προστίθενται 0.1ml από κάθε ένα από τα διαλύματα διαφορετικής συγκέντρωσης και

στην τελευταία προστίθεται 0.1ml διαλύτη. Οι κυψελίδες αμέσως μετά την ανάμειξη τοποθετούνται στο φωτόμετρο και μετράται η απορρόφηση κάθε μιας ανά 30 sec στα 515nm. Η κάθε αντίδραση ολοκληρώνεται όταν η αντίστοιχη απορρόφηση πιάσει πλατώ.

Σημείωση: Στην αντίδραση ρίζας-αντιοξειδωτικού, το αντιοξειδωτικό δεν πρέπει να είναι σε περίσσεια, συνεπώς για την παρασκευή των διαλυμάτων των αντιοξειδωτικών γίνονται αρχικά δοκιμαστικές μετρήσεις και επιλέγεται αυτή η συγκέντρωση για την οποία, μετά το τέλος της αντίδρασης, παρατηρείται απορρόφηση >0.1.

#### 4.5.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΕΛΑΙΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ

##### ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΣΕ ΕΛΑΙΑ

Από κάθε έλαιο ζυγίστηκαν 120 gr σε ποτήρια ζέσεως. Σε κάθε έλαιο προστέθηκαν 15 mL διαλύματος αντιοξειδωτικού και κάθε αντιοξειδωτικό είχε συγκέντρωση 1mmole/kg ελαίου. Στην περίπτωση της κερκετίνης με μοριακό βάρος 338.27 g/mole, αυτή η ποσότητα αντιστοιχεί σε 40.59 gr. Το διάλυμα του αντιοξειδωτικού παρασκευάστηκε σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL με διαλύτη οξικού αιθυλεστέρα - αιθανόλης σε αναλογία 80:20, έτσι η ποσότητα της κερκετίνης που χρειαστήκαμε ήταν 135.3 mg, η οποία αντιστοιχεί τελικά σε 136.7mg κερκετίνης λαμβάνοντας υπ' όψιν την καθαρότητά της που είναι 99%.

Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και στην περίπτωση της κατεχίνης και του ροσμαρινικού οξέως. Για τη μεν πρώτη ζυγίστηκαν τελικά 126 mg ενώ για το δεύτερο αντιοξειδωτικό ζυγίστηκαν περίπου 150.1 mg με βάση τις αντίστοιχες καθαρότητες. Η παρασκευή τους έγινε σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL με τον ίδιο διαλύτη σε ίδια αναλογία με την κερκετίνη.

##### ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΕΠΙΤΑΧΥΝΟΜΕΝΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ

Τα πειράματα επιταχυνόμενης οξείδωσης έγιναν σε φούρνο με κυκλοφορία αέρα στους 60 °C. Δείγματα των ελαίων παραλαμβάνονταν σε τακτά χρονικά διαστήματα και προσδιοριζόταν η

οξειδωτική τους κατάσταση με μέτρηση του αριθμού υπεροξειδίων. Όλα τα πειράματα έγιναν εις διπλούν και πραγματοποιήθηκαν διπλές μετρήσεις από το κάθε δείγμα.

#### ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΑΡΙΘΜΟΥ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΩΝ

Τις πρώτες μέρες της οξείδωσης (μέρα αρχικής δειγματοληψίας και δεύτερη μέρα), ζυγίζουμε σε κωνική φιάλη 4 g ελαίου, ενώ τις υπόλοιπες μέρες 1 g, καταγράφοντας το ακριβές βάρος και προσθέτουμε 30 mL διαλύματος οργανικών διαλυτών  $\text{CH}_3\text{COOH} - \text{CHCl}_3$  σε αναλογία 3:2 και ανακινούμε. Στη συνέχεια, προσθέτουμε 500  $\mu\text{L}$  KI και ανακινούμε για ένα λεπτό και η φιάλη τοποθετείται σε σκιερό μέρος για 5 λεπτά. Αφού περάσει ο απαραίτητος χρόνος, προσθέτουμε 20 mL απιονισμένου νερού και 0,5 mL διαλύματος αμύλου 1% και τιτλοδοτούμε με πρότυπο διάλυμα θειοθειικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) 0,01N.

Αφού καταμετρηθεί ο όγκος του θειοθειικού νατρίου που χρειάστηκε για την τιτλοδότηση των δειγμάτων, υπολογίζεται ο αντίστοιχος αριθμός υπεροξειδίων από τον τύπο:

$$(S-B) * N * 1000 / m_{\text{δειγμ.}}, \text{ όπου}$$

: S ο όγκος  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  σε ml που καταναλώθηκε για την τιτλοδότηση του δείγματος

: B καταναλωθέντα mL δ/τος  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  για το λευκό προσδιορισμό

: N η κανονικότητα του πρότυπου διαλύματος τιτλοδότησης

:  $m_{\text{δειγμ.}}$  το βάρος του δείγματος σε gr

#### 4.5.3. ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΡΟΣΜΑΡΙΝΙΚΟΥ ΟΞΕΩΣ ΜΕ HPLC

Η HPLC (High Performance Liquid Chromatography), γνωστή ως Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης, είναι μία από τις διαχωριστικές τεχνικές της ενόργανης χημικής ανάλυσης και ο διαχωρισμός στηρίζεται στις φυσικοχημικές ιδιότητες των αναλυόμενων ουσιών. Η HPLC χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό πολλών χημικών ενώσεων, όπως αμινοξέων, αλκαλοειδών, αντιβιοτικών, υδατανθράκων, κατεχολαμινών, κ.α.

Ο διαχωρισμός των ουσιών με την υγρή χρωματογραφία στηρίζεται στη διαφορετική αλληλεπίδραση των ουσιών σε δύο μη αναμειγνυόμενες φάσεις, μια στατική και μια κινητή.

Ως κινητή φάση χρησιμοποιούνται αδρανείς διαλύτες (οργανικοί, νερό, ρυθμιστικά διαλύματα και άλλα) υπό ελεγχόμενη πίεση, ενώ η στατική φάση αποτελείται από πυριτική πηκτή ή από πολυμερείς ενώσεις . Ανάλογα με το είδος της στατικής φάσης, η μέθοδος HPLC αποδίδει χρωματογραφικούς διαχωρισμούς σύμφωνα με τις αρχές προσρόφησης ή της κατανομής ή συνδυασμού αυτών. Τα συστατικά διαχωρίζονται καθώς διέρχονται από τη στατική φάση της στήλης, με τη βοήθεια της κινητής φάσης που αποτελείται από διαλύτες κατάλληλης πολικότητας για τον διαχωρισμό. Από τη σύγκριση του χρόνου έκλουσης με αυτούς προτύπων ουσιών σε όμοιες χρωματογραφικές συνθήκες γίνεται προσδιορισμός του κάθε συστατικού.

Το δείγμα εισάγεται κάθε φορά από τη βαλβίδα εισαγωγής δείγματος. Στις φιάλες αποθήκευσης βρίσκονται οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται κάθε φορά για την έκλουση των προσδιοριζόμενων ουσιών, δηλαδή αποτελούν την κινητή φάση. Η κινητή φάση προωθείται με τη βοήθεια μιας αντλίας υψηλής πίεσης στη χρωματογραφική στήλη, όπου λαμβάνει χώρα ο διαχωρισμός των ουσιών. Οι ουσίες μετά την έκλουσή τους από τη στήλη της υγρής χρωματογραφίας οδηγούνται σε ένα σύστημα ανίχνευσης. Το σήμα που δίνουν στον ανιχνευτή οι προσδιοριζόμενες ουσίες καταγράφεται από ένα σύστημα συλλογής και καταγραφής αποτελεσμάτων και λαμβάνεται τελικά το χρωματογράφημα.

Το πιο χαρακτηριστικό γνώρισμα των στηλών της αντίστροφης φάσης είναι η μεγαλύτερη πολικότητα της κινητής φάσης σε σχέση με τη στατική, η οποία θεωρητικά θα πρέπει να συμπεριφέρεται σαν μια ιδανική μη πολική στατική φάση .

Το προσροφητικό υλικό στην υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης- αντίστροφης φάσης είναι μη πολικό. Έτσι, η στήλη συγκρατεί τα μη πολικά μόρια και τα πολικά μόρια βγαίνουν πρώτα στο χρωματογράφημα [150].

Τα εκχυλίσματα και τα συμπυκνώματα κατά τη διαδικασία της ανάκτησης του ροσμαρινικού οξέως αναλύθηκαν με τη μέθοδο της Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης και συγκεκριμένα με τη μέθοδο της βαθμωτής έκλουσης. Οι τρεις διαλύτες που χρησιμοποιήσαμε για την ανάλυση των ουσιών μας ήταν:

A) H<sub>2</sub>O με προσθήκη 0,2% TFA (τριφθοροξικό οξύ)

B) Μεθανόλη με 0,2% TFA

Γ) ACN (ακετονιτρίλιο) με 0,2% TFA

Ο ρόλος του τριφθοροξικού είναι αφενός η δημιουργία όξινου περιβάλλοντος, ώστε οι φαινολικές ενώσεις (ασθενή οξέα) να βρίσκονται εξ ολοκλήρου στη μη ιοντισμένη τους μορφή και αφετέρου η παραλαβή οξείων κορυφών με περιορισμένες "ουρές" στα χρωματογραφήματα. Η αρχική σύσταση της κινητής φάσης ήταν 90% A, 6% B και 4% Γ ενώ μεταβαλλόταν γραμμικά σε 85% A, 9% B και 6% Γ στα πρώτα 5 min της ανάλυσης, 71% A, 17,4% B και 11,6% Γ στα 30 min και τέλος 0% A, 85% B και 15% Γ στα 60 min. Εν συνεχεία επανερχόταν γραμμικά στην αρχική σύσταση στα 61 min και ολοκληρωνόταν η ανάλυση. Η ροή του διαλύτη έκλουσης ήταν 1 mL/min ενώ ο όγκος του εισαγόμενου δείγματος (μικροφιλτραρισμένο) ήταν 20 μL. Η ανάλυση έγινε στα 280nm

#### 4.5.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΩΝ

Ο προσδιορισμός του περιεχομένου των ελαίων σε τοκοφερόλες (α-, β-, γ- και δ-) έγινε με τη μέθοδο της Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης (HPLC), σύμφωνα με την μέθοδο Ce 8-89 της AOCS και με ισοκρατική έκλουση. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν εξάνιο και ισοπροπανόλη σε αναλογία 99,5:0,5 και η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν παρόμοια με αυτή που περιγράφηκε παραπάνω. Η ροή του διαλύτη έκλουσης ήταν 1 mL/min. Η ποσοτικοποίηση έγινε με τη βοήθεια καμπυλών αναφοράς, όπως ορίζει η μέθοδος Ce 8-89 της AOCS.

#### 4.5.5 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ

Ο προσδιορισμός των βαρέων μετάλλων (Fe, Cu, Zn, Pb, Cr) που εμπεριέχονταν στα έλαια έγινε με Φασματομετρία Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (ICP-MS) στο οριζόντιο εργαστήριο εργαστήριο.



## ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΓΜΑΤΩΝ

Πριν την ανίχνευση των μετάλλων στα έλαιά μας, προηγήθηκε χώνευση των δειγμάτων και στη συνέχεια εμφιάλωση τους.

Σε 0,4 gr κάθε ελαίου προστέθηκαν 7ml πυκνού  $\text{HNO}_3$  (65%) και 1ml  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Στη συνέχεια, τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε αυτόκλειστα και αφού σφραγίστηκαν καλά οδηγήθηκαν προς χώνευση. Η χώνευση έγινε με το μοντέλο StartD (Microwave Digestion System Milestone) και το θερμοκρασιακό πρόγραμμα που επιλέχτηκε ήταν το SOIL TOTAL.

Στη συνέχεια απομακρύνθηκαν οι νιτρώδεις ατμοί με βρασμό και τα δείγματα προστέθηκαν σε ογκομετρικές φιάλες των 25ml και ακολούθησε πλήρωση με υπερκάθαρο νερό μέχρι τη χαραγή. Τέλος, με τη βοήθεια του μοντέλου 7.700 Series ICP-MS (Agilent Technologies) προσδιορίστηκε το περιεχόμενο των ελαίων σε διάφορα μέταλλα.

### 4.5.6 ΑΝΑΚΤΗΣΗ ΡΟΣΜΑΡΙΝΙΚΟΥ ΟΞΕΩΣ

Λόγω της υψηλής αντιοξειδωτικής δράσης που προσέφερε το ροσμαρινικό οξύ σε κάποια από τα παραπάνω έλαια, αποφασίσαμε να το απομονώσουμε από αιθανολικά εκχυλίσματα δίκταμου που διαθέταμε. Αρχικά, τα διάφορα εκχυλίσματα αναμείχθηκαν και στη συνέχεια απομακρύνθηκε η αιθανόλη με τη βοήθεια περιστροφικού εξατμιστή. Ακολούθησε εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα σε διαχωριστική χοάνη και απομονώθηκε η υδατική φάση. Η υδατική φάση στη συνέχεια εκχυλίστηκε με δι-ισο-προπυλαιθέρα προκειμένου να παραλάβουμε το ροσμαρινικό οξύ στην αιθερική φάση.

# Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

## 5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

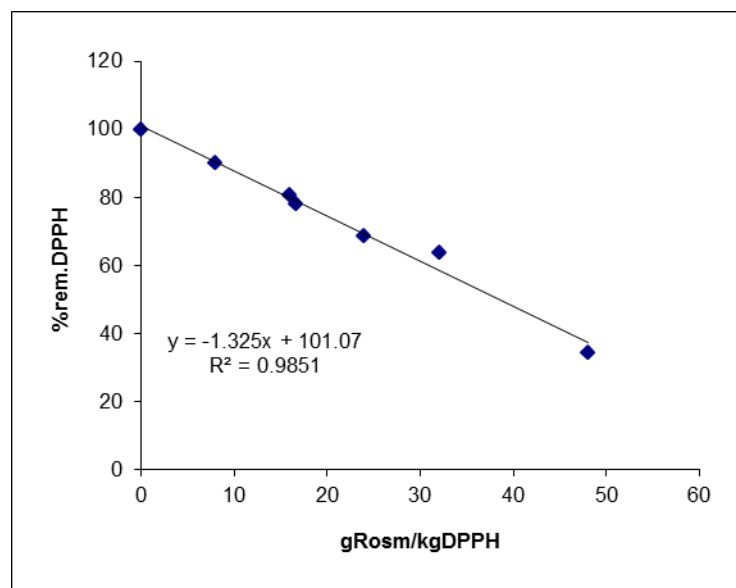
### 5.1 ΔΟΚΙΜΗ ΡΙΖΑΣ DPPH

Προκειμένου να αποφανθούμε για την ικανότητα των τριών πρότυπων αντιοξειδωτικών να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες, γίνεται μέτρηση της απορρόφησης των διαλυμάτων των αντιοξειδωτικών με προσθήκη ρίζας DPPH, με τον τρόπο που περιγράφηκε στο πειραματικό μέρος. Τα αποτελέσματα της απορρόφησης για κάθε αντιοξειδωτικό μας βοήθησε να βρούμε την απαιτούμενη ποσότητα ουσίας για τη δέσμευση του 50% της ελεύθερης ρίζας (EC50), καθώς και το στοιχειομετρικό παράγοντα n, ο οποίος εκφράζει το πλήθος των δεσμευόμενων ριζών DPPH ανά μόριο αντιοξειδωτικού.

Από τις μετρήσεις του φωτόμετρου προέκυψαν τα παρακάτω διαγράμματα για το κάθε αντιοξειδωτικό:

#### ΡΟΣΜΑΡΙΝΙΚΟ ΟΞΥ

Το διάγραμμα 5.1, δίνει τη μείωση των ελεύθερων ριζών DPPH ως ποσοστό της αρχικής ποσότητας συναρτήσει της αναλογίας ροσμαρινικού οξέως προς DPPH (g/kg)

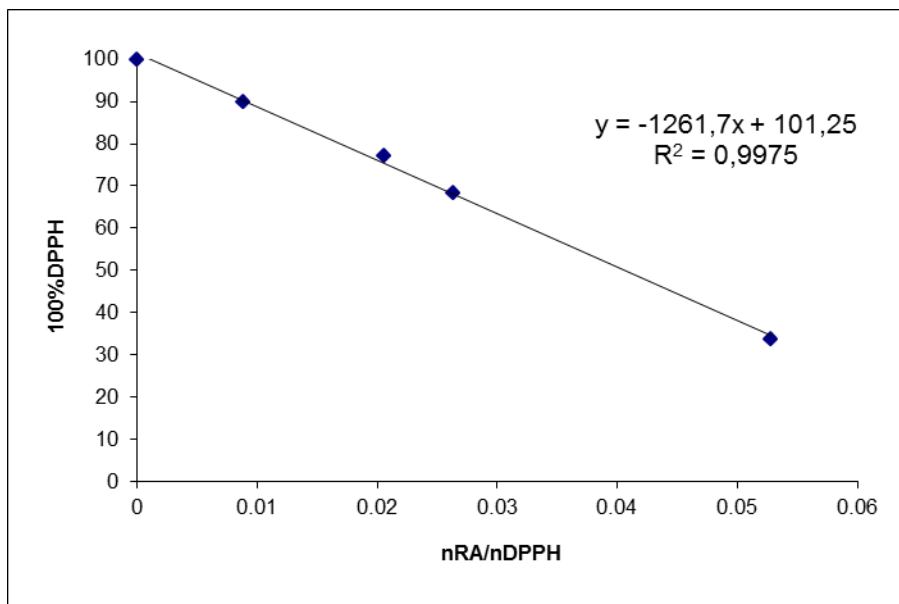


Διάγραμμα 5.1: Ελάττωση ριζών DPPH κατά τη δέσμευσή τους από το ροσμαρινικό οξύ

Όπως φαίνεται, το ποσοστό της εναπομείνουσας ρίζας μειώνεται γραμμικά σε συνάρτηση με τα g ροσμαρινικού οξέως/ kg DPPH και η εξίσωση της ευθείας είναι:  $y = -1,325x + 101,07$

Προκειμένου να βρούμε το EC50, αντικαθιστούμε όπου  $y$  το 50 και το αντίστοιχο  $x$  που προκύπτει είναι 39. Αυτό σημαίνει ότι 39 g ροσμαρινικού οξέως / kg DPPH απαιτούνται για τη δέσμευση του 50% των ελεύθερων ριζών.

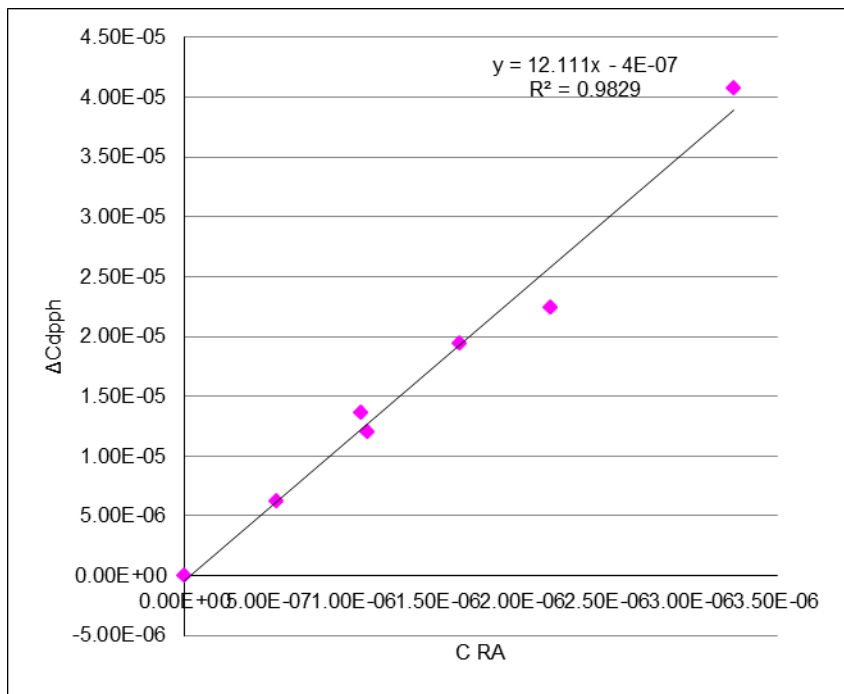
Το αντίστοιχο διάγραμμα εκφρασμένο ως προς mole ροσμαρινικού οξέως ανά mole DPPH, παρουσιάζεται παρακάτω:



Διάγραμμα 5.2: Ελάττωση ριζών DPPH κατά τη δέσμευσή τους από το ροσμαρινικό οξύ

Με αντικατάσταση του  $y$  με 50, βρίσκουμε πως το  $x$  ισούται με 0,041. Αυτό σημαίνει πως 0,041 mole ροσμαρινικού οξέως / mole DPPH απαιτούνται προκειμένου να δεσμευτεί το 50% των ελεύθερων ριζών.

Τέλος για να βρούμε το στοιχειομετρικό παράγοντα  $n$ , δημιουργούμε το παρακάτω διάγραμμα  $\Delta C_{DPPH}$  (mole/L) σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού (mole/L):



Διάγραμμα 5.3: Η κλίση της ευθείας δίνει το στοιχειομετρικό παράγοντα  $n$

Η κλίση της ευθείας εκφράζει τον αριθμό των mole των ελεύθερων ριζών DPPH που μπορεί να δεσμεύσει ένα mole ροσμαρινικού οξέως, που ισούται με περίπου με 12. Προηγούμενες μελέτες συμφωνούν με τα παραπάνω αποτελέσματα [153].

### ΚΑΤΕΧΙΝΗ - ΚΕΡΚΕΤΙΝΗ

Για την κατεχίνη και την κερκετίνη έγιναν δοκιμές που επιβεβαίωσαν τα αποτελέσματα προγενέστερων μελετών κατά τον ίδιο τρόπο με αυτόν που ακολουθήθηκε για το ροσμαρινικό οξύ [153].

Από τα παραπάνω αποτελέσματα, λοιπόν, μπορούμε να παρουσιάσουμε σε συγκεντρωτικό πίνακα το EC50 και το στοιχειομετρικό παράγοντα  $n$  για το κάθε αντιοξειδωτικό.

Πίνακας 5.1: Στοιχειομετρικός παράγοντας  $n$  και EC50 για κάθε ένα αντιοξειδωτικό

Ένωση	EC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>	στοιχειομετρικός παράγων $n$
	$\frac{mol_{antiox}}{mol_{DPPH}}$	$\frac{g_{antiox}}{Kg_{DPPH}}$	$\frac{mol_{DPPH}}{mol_{antiox}}$
ροσμαρινικό οξύ	0.041	39	12.1±1.8
(+)-κατεχίνη	0.077	57	3.94
κερκετίνη	0.078	60	6.75±0.08

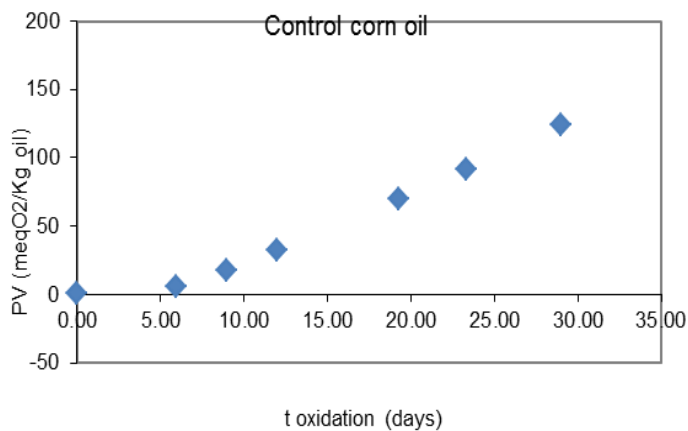
## 5.2 ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΕΛΑΙΩΝ

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της οξείδωσης των 5 διαφορετικών ελαίων που χρησιμοποιήσαμε στο πείραμά μας. Τα αποτελέσματα αυτά αφορούν στα έλαια χωρίς αντιοξειδωτικό, καθώς και αυτά που είναι εμπλουτισμένα στα τρία αντιοξειδωτικά: κατεχίνη, κερκετίνη και ροσμαρινικό οξύ σε ποσότητα 1mmoleA.O./kg ελαίου.

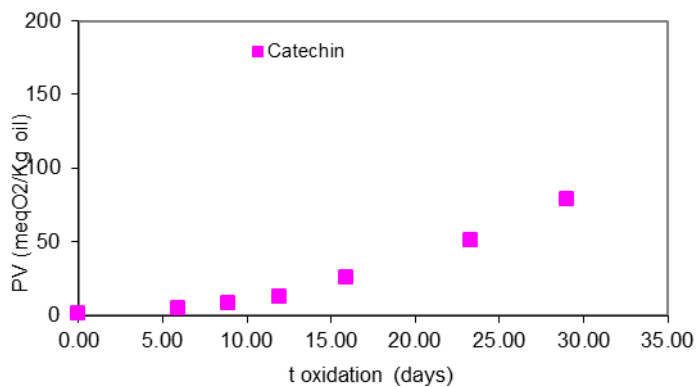
### ΑΡΑΒΟΣΙΤΕΛΑΙΟ

Ο αριθμός των υπεροξειδίων που μετρήθηκε κατά τη διάρκεια της οξείδωσης του αραβοσιτελαίου χωρίς την προσθήκη αντιοξειδωτικού καθώς και με την προσθήκη των τριών διαφορετικών αντιοξειδωτικών κατεχίνη, κερκετίνη και ροσμαρινικό οξύ παρουσιάζεται στους

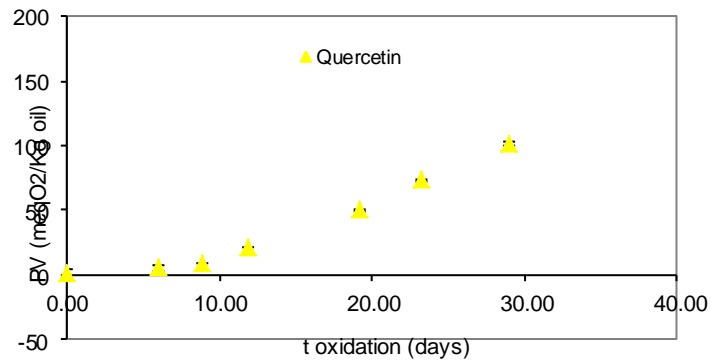
αντίστοιχους πίνακες του παραρτήματος. Από τους πίνακες αυτούς, δημιουργήσαμε τα παρακάτω διαγράμματα, τα οποία δείχνουν την οξείδωση του συγκεκριμένου ελαίου (σε κάθε μία από τις προαναφερθείσες περιπτώσεις) για ένα διάστημα περίπου 1 μηνός.



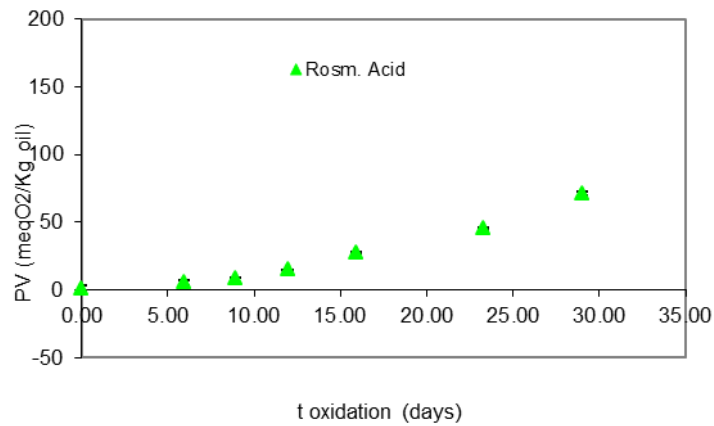
Διάγραμμα 5.4: Οξείδωση αραβοσιτελαίου (τυφλό) στους 60°C.



Διάγραμμα 5.5: Οξείδωση αραβοσιτελαίου με προσθήκη κατεχίνης σε συγκέντρωση 1mmole/kg<sub>ελαίου</sub> στους 60°C.

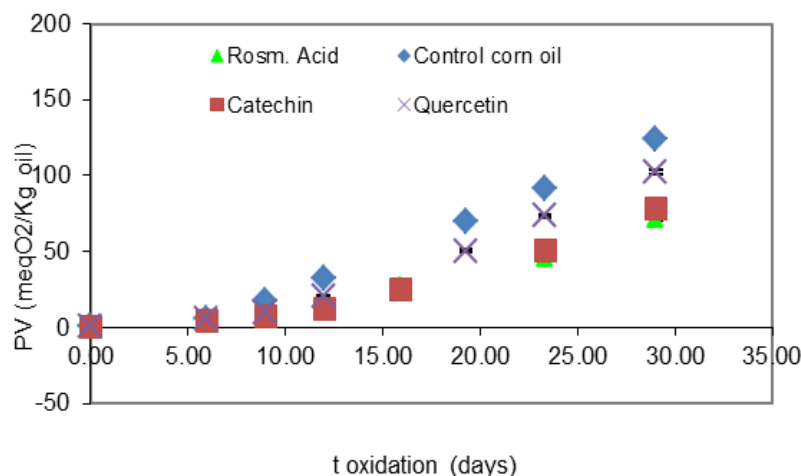


Διάγραμμα 5.6: Οξείδωση αραβοσιτελαίου με προσθήκη κερκετίνης σε συγκέντρωση 1mmole/kg<sub>ελαίου</sub> στους 60°C.



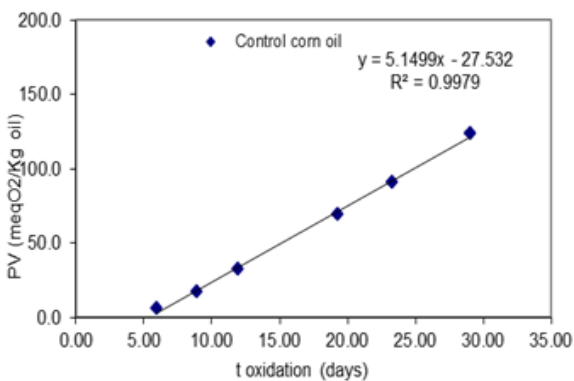
Διάγραμμα 5.7 : Οξείδωση αραβοσιτελαίου με προσθήκη ροσμαρινικού οξέως σε συγκέντρωση 1mmole/kg<sub>ελαίου</sub> στους 60°C.

Από τα παραπάνω διαγράμματα μπορούμε να δημιουργήσουμε ένα ενοποιημένο, στο οποίο παρουσιάζεται συγκριτικά η πορεία της οξείδωσης του συγκεκριμένου ελαίου με την προσθήκη των διαφορετικών αντιοξειδωτικών.

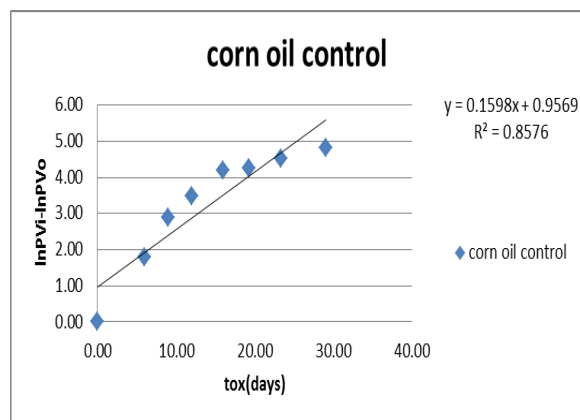


Διάγραμμα 5.8: Συγκριτικά αποτελέσματα οξείδωσης αραβοσιτελαίου με προσθήκη αντιοξειδωτικών σε συγκέντρωση 1mmole/kg<sub>ελαίου</sub> στους 60°C.

Στη συνέχεια, έγινε προσπάθεια εύρεσης της τάξεως της αντίδρασης οξείδωσης και μέσα από αυτήν υπολογίστηκε ο ρυθμός οξείδωσης του ελαίου για κάθε μία από τις παραπάνω περιπτώσεις. Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν όταν η διαδικασία της οξείδωσης του αραβοσιτέλαιου εκφράστηκε α) με κινητική μηδενικής τάξεως (Cυπεροξ.- t), θεωρώντας τα σημεία μετά την περίοδο επώασης του ελαίου, και β) με κινητική πρώτης τάξης ( $\ln C_i - \ln C_o - t$ )



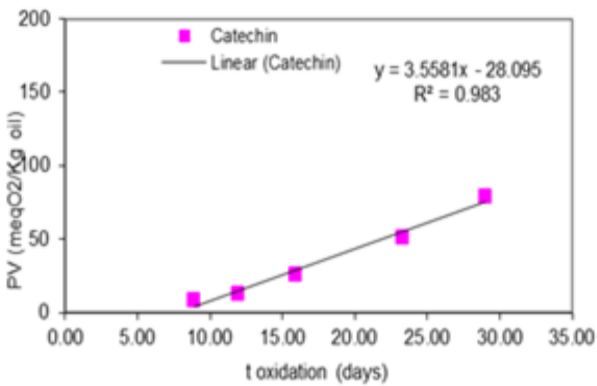
(9α)



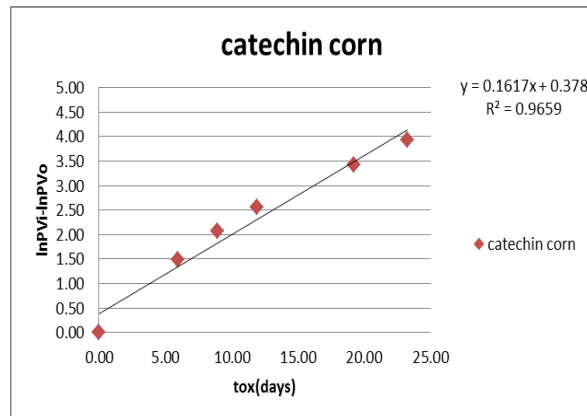
(9β)

Διάγραμμα 5.9: Οξείδωση αραβοσιτελαίου (τυφλό) που προσεγγίζεται με κινητική μηδενικής τάξης (9α) και με κινητική α' τάξης (9β)



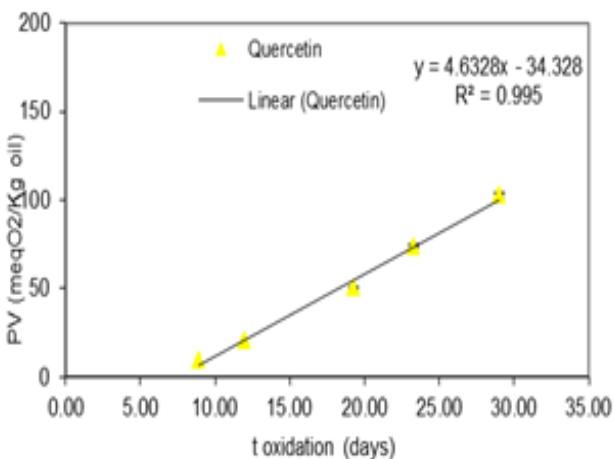


(10α)

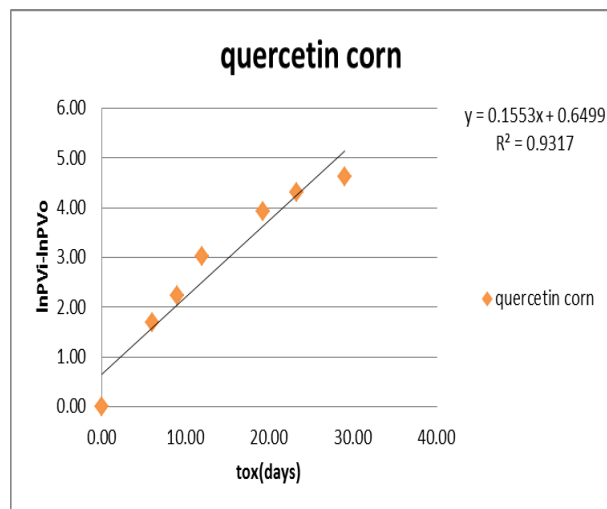


(10β)

**Διάγραμμα 5.10:** Οξείδωση αραβοσιτελαίου με προσθήκη κατεχίνης που προσεγγίζεται με κινητική μηδενικής τάξης (10α) και με κινητική α' τάξης (10β)

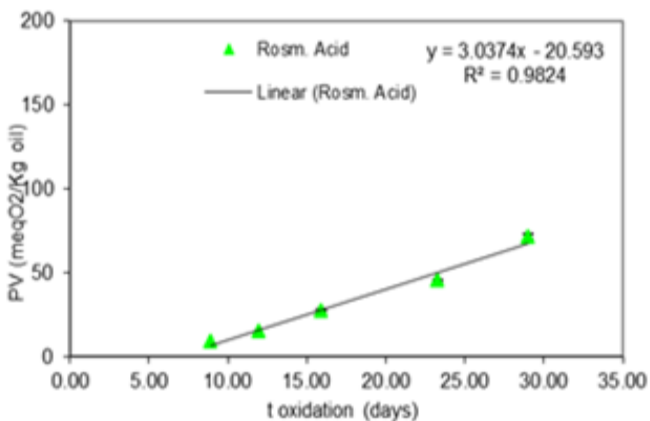


(11α)

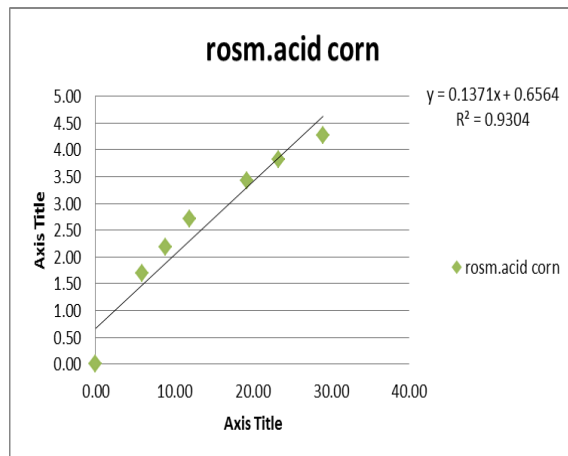


(11β)

**Διάγραμμα 5.11:** Οξείδωση αραβοσιτελαίου με προσθήκη κερκετίνης που προσεγγίζεται με κινητική μηδενικής τάξης (11α) και με κινητική α' τάξεως (11β)



(12α)



(12β)

Διάγραμμα 5.12: Οξείδωση αραβοσιτελαίου με προσθήκη ροσμαρινικού οξέως που προσεγγίζεται με κινητική μηδενικής τάξης (12α) και με κινητική α' τάξης (12β)

Όπως παρατηρείται στα παραπάνω διαγράμματα, η διαδικασία οξείδωσης φαίνεται να προσεγγίζεται καλύτερα από την κινητική μηδενικής τάξεως.

Συγκεκριμένα, μετά την περίοδο επώασης ακολουθείται γραμμική ανύψωση των υπεροξειδίων με το χρόνο, η οποία όμως δεν θα συμβαίνει επ' άπειρον, αλλά μόνο στα αρχικά στάδια της οξείδωσης. Όταν η οξείδωση προχωρήσει στο επόμενο στάδιο (στάδιο αποικοδόμησης προϊόντων), ο ρυθμός θα αλλάξει. Θεωρούμε, λοιπόν, πως η αντίδραση της οξείδωσης σε πρώτο στάδιο, θα προχωράει με σταθερό ρυθμό και πως η συγκέντρωση των αντιδρώντων δεν επηρεάζει την ταχύτητα οξείδωσης (κάτι το οποίο δεν ισχύει γενικά). Όλα αυτά, μας οδηγούν στο συμπέρασμα πως η κινητική που ακολουθείται είναι ουσιαστικά ψευδομηδενικής τάξεως.

Οι ρυθμοί οξείδωσης υπολογίζονται από την κλίση των ευθειών ψευδομηδενικής τάξεως. Έτσι, οι ρυθμοί οξείδωσης για το κάθε αντιοξειδωτικό στην περίπτωση του αραβοσιτελαίου, φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

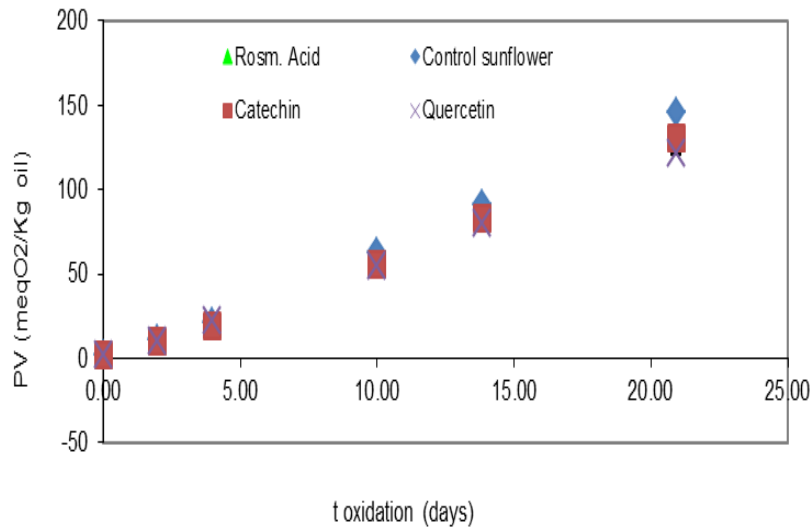
Πίνακας 5.2: Ρυθμοί οξείδωσης αραβοσιτελαίου με την προσθήκη των τριών διαφορετικών αντιοξ/κών

ΑΝΤ/ΚΟ	ΕΞΙΣΩΣΗ ΕΥΘΕΙΑΣ	R <sup>2</sup>	ΡΥΘΜΟΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ (meq O <sub>2</sub> /(kg ελαίου*days)
ΤΥΦΛΟ	y=5.1499x-27.532	0.9979	5.15±0.33
ΚΑΤΕΧΙΝΗ	y=3.5581x-28.095	0.983	3.56±0.86
ΚΕΡΚΕΤΙΝΗ	y=4.6328x-34.328	0.995	4.63±0.60
ΡΟΣΜ.ΟΞΥ	y=3.0374x-20.593	0.9824	3.04±0.69

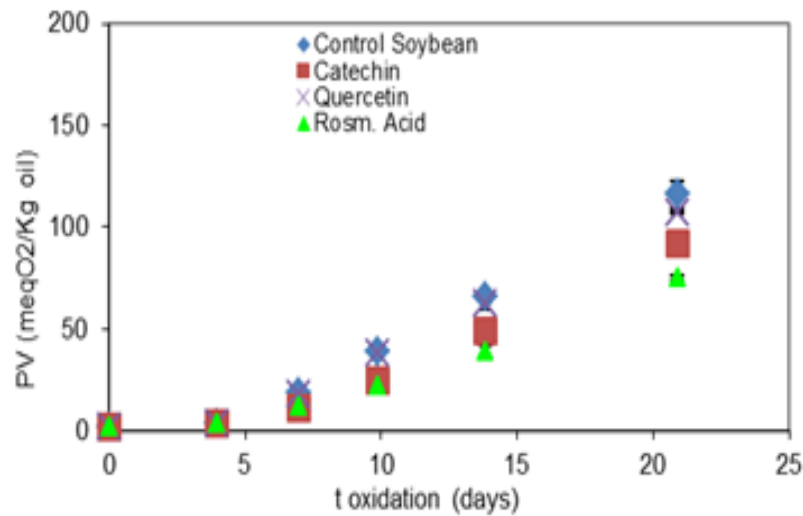
Από τις εξισώσεις των ευθειών, βλέπουμε πως η οξείδωση του αραβοσιτελαίου εμπλουτισμένου με ροσμαρινικό οξύ έχει το μικρότερο ρυθμό οξείδωσης. Συνεπώς ένα πρώτο συμπέρασμα όσον αφορά το αραβοσιτέλαιο είναι πως το καλύτερο αντιοξειδωτικό είναι κατά σειρά ελαττούμενης δραστηριότητας: ροσμαρινικό οξύ> κατεχίνη> κερκετίνη.

#### ΗΛΙΕΛΑΙΟ-ΣΟΓΙΕΛΑΙΟ-BΑΜΒΑΚΕΛΑΙΟ-ΙΧΘΥΕΛΑΙΟ

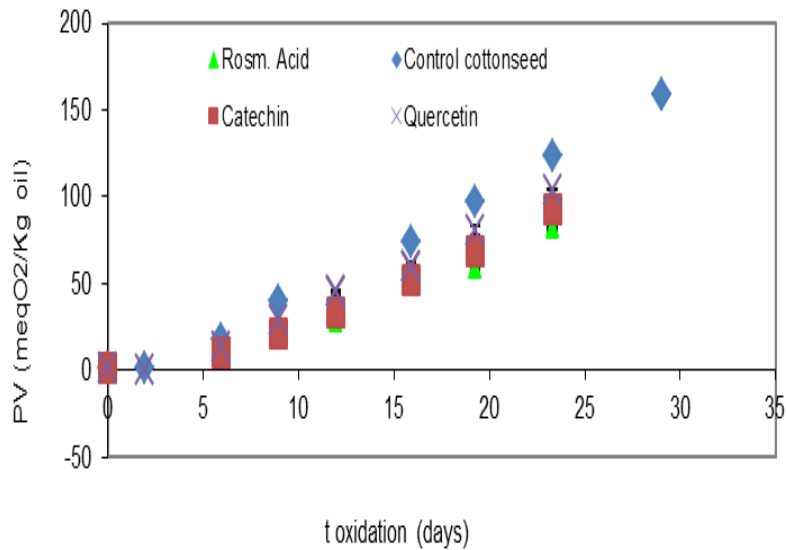
Κατ' αντιστοιχία με το αραβοσιτέλαιο, παρακάτω παρουσιάζονται τα συγκεντρωτικά διαγράμματα της οξείδωσης των υπόλοιπων ελαίων που χρησιμοποιήσαμε, σύμφωνα με τις μετρήσεις που παρουσιάζονται στο παράρτημα.



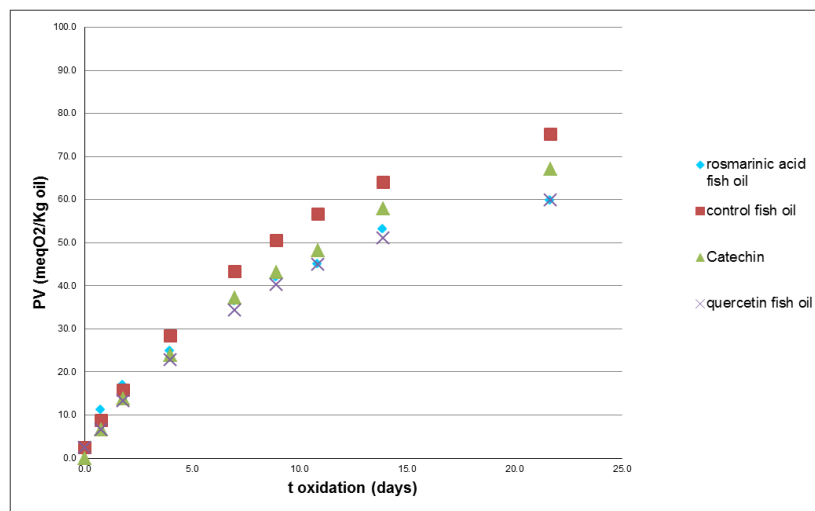
Διάγραμμα 5.13: Συγκριτικά αποτελέσματα οξείδωσης ηλιέλαιου με προσθήκη αντιοξειδωτικών σε συγκέντρωση 1mmole/kg<sub>ελαιίου</sub> στους 60°C.



Διάγραμμα 5.14: Συγκριτικά αποτελέσματα οξείδωσης σογιέλαιου με προσθήκη αντιοξειδωτικών σε συγκέντρωση 1mmole/kg<sub>ελαιίου</sub> στους 60°C.



Διάγραμμα 5.14: Συγκριτικά αποτελέσματα οξείδωσης βαμβακέλαιου με προσθήκη αντιοξειδωτικών σε συγκέντρωση 1mmole/kg<sub>ελαίου</sub> στους 60°C.



Διάγραμμα 5.15: Συγκριτικά αποτελέσματα οξείδωσης ιχθυελαίου με προσθήκη αντιοξειδωτικών σε συγκέντρωση 1mmole/kg<sub>ελαίου</sub> στους 60°C.

Όπως και στο αραβοσιτέλαιο, έτσι και στα υπόλοιπα έλαια βρήκαμε πως η κινητική με την οποία προσεγγίζεται καλύτερα το φαινόμενο της οξείδωσης είναι αυτή της ψευδομηδενικής τάξης, μιας και το  $R^2$  ήταν μεγαλύτερο σε σχέση με αυτό που προέκυψε για κινητική α' τάξεως.

Οι αντίστοιχοι πίνακες με τους ρυθμούς οξείδωσης για κάθε ένα από τα παραπάνω έλαια με την προσθήκη των τριών διαφορετικών αντιοξειδωτικών, όπως προέκυψαν από τις εξισώσεις των ευθειών, παρουσιάζονται στη συνέχεια:

Πίνακας 2.3: Ρυθμοί οξείδωσης ηλιέλαιου εμπλουτισμένου με τα τρία διαφορετικά αντιοξειδωτικά

ΑΝΤ/ΚΟ	ΕΞΙΣΩΣΗ ΕΥΘΕΙΑΣ	R <sup>2</sup>	ΡΥΘΜΟΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ
ΤΥΦΛΟ	$y=7.367x-9.4626$	0.9999	7.37±0.62
ΚΑΤΕΧΙΝΗ	$y=6.5917x-7.9996$	0.9990	6.59±0.52
ΚΕΡΚΕΤΙΝΗ	$y=5.8783x-1.9066$	0.9991	5.88±0.32
ΡΟΣΜ.ΟΞΥ	$y=6.9572x-13.224$	0.9983	6.96±0.7

Πίνακας 5.4: Ρυθμοί οξείδωσης σογιέλαιου εμπλουτισμένου με τα τρία διαφορετικά αντιοξειδωτικά

ΑΝΤ/ΚΟ	ΕΞΙΣΩΣΗ ΕΥΘΕΙΑΣ	R <sup>2</sup>	ΡΥΘΜΟΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ
ΤΥΦΛΟ	$y=6.9946x-30.35$	0.9999	6.99±0.24
ΚΑΤΕΧΙΝΗ	$y=5.8914x-31.967$	0.9982	5.89±0.76
ΚΕΡΚΕΤΙΝΗ	$y=6.3926x-25.834$	0.9999	6.39±0.20
ΡΟΣΜ.ΟΞΥ	$y=4.5944x-22.32$	0.9944	4.59±1.00

Πίνακας 5.5: Ρυθμοί οξειδωσης βαμβακέλαιου εμπλουτισμένου με τα τρία διαφορετικά αντιοξειδωτικά

ΑΝΤ/ΚΟ	ΕΞΙΣΩΣΗ ΕΥΘΕΙΑΣ	R <sup>2</sup>	ΡΥΘΜΟΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ
ΤΥΦΛΟ	$y=6.0334x-17.544$	0.9979	6.03±0.48
ΚΑΤΕΧΙΝΗ	$y=4.7439x-20.843$	0.9924	4.74±0.58
ΚΕΡΚΕΤΙΝΗ	$y=5.1552x-17.081$	0.9993	5.16±0.43
ΡΟΣΜ.ΟΞΥ	$y=4.1019x-17.609$	0.9891	4.10±0.79

Πίνακας 5.6: Ρυθμοί οξειδωσης ιχθυελαίου εμπλουτισμένου με τα τρία διαφορετικά αντιοξειδωτικά

ΑΝΤ/ΚΟ	ΕΞΙΣΩΣΗ ΕΥΘΕΙΑΣ	R <sup>2</sup>	ΡΥΘΜΟΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ
ΤΥΦΛΟ	$y=2.0877x+31.913$	0.9526	2.09±0.86
ΚΑΤΕΧΙΝΗ	$y=2.0129x+25.618$	0.9473	2.01±0.87
ΚΕΡΚΕΤΙΝΗ	$y=1.6717x+25.262$	0.9535	1.67±0.68
ΡΟΣΜ.ΟΞΥ	$y=1.5559x+27.812$	0.9369	1.56±0.74

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των ρυθμών που παρουσιάστηκαν, προκύπτει πως στο ηλιέλαιο, το καλύτερο αντιοξειδωτικό ήταν η κερκετίνη και ακολούθως η κατεχίνη και στη συνέχεια το ροσμαρινικό οξύ, αν και οι διαφορές στην αντιοξειδωτική τους ικανότητα φαίνεται να είναι μικρές.

Στην περίπτωση του σογιέλαιου και του βαμβακέλαιου, το καλύτερο αντιοξειδωτικό φάνηκε να είναι το ροσμαρινικό οξύ, με το αμέσως επόμενο την κατεχίνη και τέλος την κερκετίνη.

Στο ιχθυέλαιο, το ροσμαρινικό οξύ φαίνεται να είχε την ίδια περίπου δραστηριότητα με την κερκετίνη, ενώ η κατεχίνη δεν φάνηκε να έχει κάποια θετική επίδραση στο φαινόμενο της

οξειδωσης, μιας και ο ρυθμός οξειδωσης στην περίπτωση της φάνηκε να προσεγγίζει αυτόν του τυφλού ιχθυελαίου.

### 5.3 ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΕΛΑΙΩΝ ΣΕ ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ

Όπως αναφέρθηκε στο πειραματικό μέρος, τα έλαιά μας αναλύθηκαν με τη βοήθεια της Φασματομετρίας Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (ICP-MS), προκειμένου να βρεθεί η περιεκτικότητά τους σε βαρέα μέταλλα. Η ανάλυση έδωσε τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.7.

Πίνακας 5.7: Περιεχόμενο ελαίων σε βαρέα μέταλλα

ΕΛΑΙΟ	Fe ( $\mu\text{g/L}$ )	Cu ( $\mu\text{g/L}$ )	Zn ( $\mu\text{g/L}$ )	Pb ( $\mu\text{g/L}$ )
Αραβοσιτέλαιο	$318 \pm 0.8$	$8.9 \pm 1.1$	$244 \pm 0.8$	$18.1 \pm 0.7$
Βαμβακέλαιο	$197 \pm 0.9$	$6.4 \pm 0.4$	$144 \pm 2.0$	$4.8 \pm 1.8$
Ηλιέλαιο	$588 \pm 6.8$	$11.7 \pm 1.4$	$683 \pm 1.7$	$17.3 \pm 0.8$
Σογιέλαιο	$485 \pm 2.7$	$8.1 \pm 1.4$	$670 \pm 0.8$	$18.1 \pm 0.8$
Ιχθυέλαιο	$297 \pm 2.3$	$5.1 \pm 1.4$	$441 \pm 2.8$	$10.1 \pm 1.5$

Παρατηρείται ότι όλα τα έλαια έχουν μεγάλη περιεκτικότητα σιδήρου, και ιδιαίτερα το ηλιέλαιο και το σογιέλαιο, ενώ η περιεκτικότητα χαλκού είναι πολύ μικρότερη. Ακόμα, η περιεκτικότητα των ελαίων σε ψευδάργυρο φαίνεται αρκετά υψηλή σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως σε αυτή του σογιέλαιου και του ηλιέλαιου. Το ιχθυέλαιο επίσης περιέχει αρκετή ποσότητα ψευδαργύρου, μικρότερη από αυτή των δύο προηγούμενων ελαίων, αλλά αρκετά μεγαλύτερη από αυτή του βαμβακέλαιου και του αραβοσιτέλαιου. Τα βιβλιογραφικά δεδομένα για περιεκτικότητα μετάλλων σε έλαια είναι πολύ περιορισμένα. Ορισμένες μελέτες έχουν βρει πως η περιεκτικότητα του σογιέλαιου, του ηλιέλαιου και του αραβοσιτέλαιου σε σίδηρο είναι της τάξεως των 13, 15-67 και 35  $\mu\text{g/L}$  αντίστοιχα, ενώ η περιεκτικότητά τους σε ψευδάργυρο 35, 54-64 και 33  $\mu\text{g/L}$  αντίστοιχα [151,152]. Τα επίπεδα του χαλκού στα παραπάνω έλαια άγγιζαν τα 8-27  $\mu\text{g/L}$ . Αντίθετα, ο Frank D. Gustone [5], οι Chaiyasit et al. [4] και οι Hammond et al. [20]



αναφέρουν πως η περιεκτικότητα του σιδήρου στο σογιέλαιο φτάνει περίπου μέχρι τα 0,3 ppm, ενώ ο χαλκός μέχρι τα 0,02ppm. Τελικά ο Gustone [5] καταλήγει στο γεγονός πως τα επίπεδα της περιεκτικότητας των μετάλλων μπορούν να διαφέρουν τόσο από έλαιο σε έλαιο, όσο ανάμεσα και σε ίδια έλαια διαφορετικής ποικιλίας, διότι το περιεχόμενό τους σε μέταλλα εξαρτάται από τη διαδικασία κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας των σπόρων, όσο και από τη διαδικασία επεξεργασίας των ελαίων.

#### 5.4 ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΕΛΑΙΩΝ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

Το περιεχόμενο των ελαίων σε λιπαρά οξέα, που χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη έρευνα παρουσιάζεται στους παρακάτω πίνακες, όπως καταγράφεται από τις προμηθευτικές εταιρίες:

Πίνακας 5.8: Εκατοστιαία σύσταση των φυτικών ελαίων σε λιπαρά οξέα

ΛΙΠΑΡΟ ΟΞΥ	ΣΥΣΤΑΣΗ (%)			
	ΑΡΑΒΟΣΙΤΕΛΑΙΟ	ΒΑΜΒΑΚΕΛΑΙΟ	ΗΛΙΕΛΑΙΟ	ΣΟΓΙΕΛΑΙΟ
Μυριστικό (14:0)	0.03	0.72	0.07	-
Παλμιτικό (C16:0)	11.71	23.89	6.18	10.42
Παλμιτολεϊκό (C16:1)	0.14	0.52	0.12	0.08
Στεατικό (C18:0)	1.77	2.11	2.83	4.83
Ελαϊκό (C18:1)	29.86	16.11	23.98	28.69
Λινελαϊκό (C18:2)	54.89	56.07	65.89	49.55
Λινολενικό (C18:3)	0.80	0.13	0.05	5.1
Αραχιδικό (C20:0)	0.39	0.26	0.19	0.48
Εικοσενοϊκό (C20:1)	0.25	0.06	0.13	0.19
Βεχενικό (C22:0)	0.12	0.1	0.53	0.5

Πίνακας 5.9: Σύσταση ιχθυελαίου στα κυριότερα λιπαρά οξέα

ΛΙΠΑΡΟ ΟΞΥ	ΣΥΣΤΑΣΗ(%) ΙΧΘΥΕΛΑΙΟ
Εικοσιπεντανοϊκό οξύ (EPA) (C20:5)	19.8
Δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA) (C22:6)	12.6

### 5.5 ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΕΛΑΙΩΝ ΣΕ ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΕΣ

Η ανάλυση των ελαίων με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης, μας βοήθησε να ανιχνεύσουμε το περιεχόμενό τους σε τοκοφερόλες. Τα αποτελέσματα για την α και γ τοκοφερόλη δίνονται στον Πίνακα 5.10, ενώ οι β και δ τοκοφερόλες δεν ανιχνεύθηκαν.

Πίνακας 3: Περιεχόμενο ελαίων σε τοκοφερόλες

ΕΛΑΙΟ	α τοκοφερόλη (ppm)	γ τοκοφερόλη (ppm)
Αραβοσιτέλαιο	162 ± 4	681 ± 16
Βαμβακέλαιο	383 ± 29	333 ± 4
Ηλιέλαιο	487 ± 19	-
Σογιέλαιο	240 ± 7	682 ± 26

Από τον παραπάνω πίνακα είναι φανερό πως τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ολικές τοκοφερόλες την έχει το αραβοσιτέλαιο και το σογιέλαιο, ενώ αυτά τα δύο λάδια περιέχουν και την υψηλότερη ποσότητα γ τοκοφερόλης. Αντίθετα, την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε α τοκοφερόλη εμφανίζει το ηλιέλαιο, το οποίο μάλιστα δεν φαίνεται να περιέχει γ τοκοφερόλη, κάτι το οποίο αναμέναμε όπως είχε αναφερθεί και στο θεωρητικό μέρος. Γενικά, η περιεκτικότητα των ελαίων που μελετήσαμε σε τοκοφερόλες, βλέπουμε πως έρχεται σε απόλυτη συμφωνία με τα βιβλιογραφικά δεδομένα μας, όπως αυτά παρουσιάζονται στον πίνακα 1.5.

## ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΜΕ ΤΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΟΥΣ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ, ΜΕΤΑΛΛΑ ΚΑΙ ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΕΣ

Από τα αποτελέσματα των ρυθμών οξείδωσης, παρατηρούμε πως το αραβοσιτέλαιο ήταν το λάδι με τη μεγαλύτερη σταθερότητα στην οξείδωση και ακολούθησε το βαμβακέλαιο και στη συνέχεια το σογιέλαιο και το ηλιέλαιο. Τα δύο τελευταία έλαια παρουσίασαν παρόμοια οξειδωτική συμπεριφορά, μιας και οι ρυθμοί οξείδωσης που προέκυψαν είναι παρόμοιοι.

Το σογιέλαιο διαθέτει αρκετά μεγαλύτερο ποσοστό λινολενικού οξέως σε σχέση με τα υπόλοιπα έλαια (5.1%) και έτσι είναι λογική η ταχύτερη οξείδωση του συγκεκριμένου ελαίου σε σχέση με το αραβοσιτέλαιο και το βαμβακέλαιο, μιας και το λινολενικό οξύ, ως τριακόρεστο, οξειδώνεται αρκετά γρήγορα και μάλιστα 25 φορές πιο γρήγορα από το στεατικό και δύο φορές πιο γρήγορα από το λινελαϊκό. Το ηλιέλαιο απ' την άλλη, μπορεί να διαθέτει πολύ μικρότερο ποσοστό λινολενικού οξέως σε σχέση με το σογιέλαιο, αλλά έχει επίσης και το υψηλότερο περιεχόμενο σε λινελαϊκό οξύ (65.89%) σε σχέση με τα υπόλοιπα έλαια. Το συγκεκριμένο οξύ, ως διακόρεστο, οξειδώνεται αρκετά γρήγορα και παρ' όλο που ο ρυθμός οξείδωσής του είναι δύο φορές μικρότερος του λινολενικού, το γεγονός ότι βρίσκεται σε υψηλή περιεκτικότητα στο ηλιέλαιο, κάνει το συγκεκριμένο λάδι αρκετά επιρρεπές στην οξείδωση. Σε αυτό οφείλεται πιθανώς και το γεγονός πως το ηλιέλαιο δεν εμφανίζει περίοδο επώασης, μιας και λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας στο διακόρεστο αυτό οξύ οξειδώνεται ταχύτατα.

Την ταχεία οξείδωσή των συγκεκριμένων ελαίων φαίνεται να ενισχύει ο παράγοντας της συγκέντρωσης των μετάλλων. Παρατηρούμε πως η ποσότητα σιδήρου και ψευδαργύρου στο σογιέλαιο και στο ηλιέλαιο είναι παρόμοια και αρκετά μεγαλύτερη από αυτή στο βαμβακέλαιο και στο αραβοσιτέλαιο. Οι τοκοφερόλες του ηλιέλαιου και του σογιέλαιου δεν φάνηκαν να μπορούν να αναστείλουν σε ικανοποιητικό βαθμό την οξείδωση. Στην περίπτωση του ηλιέλαιου αυτό είναι λογικό, μιας και η συγκέντρωσή της α τοκοφερόλης (487ppm) είναι αρκετά μεγαλύτερη από αυτήν που προτείνει η βιβλιογραφία (100-250ppm) ως βέλτιστη συγκέντρωση προκειμένου να παρέχει αντιοξειδωτική προστασία. Σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες της βέλτιστης, η α τοκοφερόλη δεν παρέχει αντιοξειδωτική προστασία και σε μερικές περιπτώσεις εμφανίζει και προοξειδωτική συμπεριφορά. Όσον αφορά το σογιέλαιο, η α τοκοφερόλη βρίσκεται μέσα στα όρια της βέλτιστης συγκέντρωσης (240ppm), όμως τόσο η γ τοκοφερόλη

(682ppm) όσο και οι συνολικές τοκοφερόλες (922ppm) είναι εκτός των αντίστοιχων ορίων και σύμφωνα με τη θεωρία, όταν έστω και μία από τις τοκοφερόλες ή τα μείγματά τους ξεπεράσουν τα αντίστοιχα όρια, η αντιοξειδωτική δράση των τοκοφερολών μειώνεται [63,70]. Η μειωμένη αντιοξειδωτικότητα των τοκοφερολών του σογιέλαιου σε συνδυασμό με το υψηλό περιεχόμενο σε μέταλλα και σε λινολενικό οξύ έχουν σαν αποτέλεσμα να εμφανίζει υψηλούς ρυθμούς οξείδωσης.

Από την άλλη, το αραβοσιτέλαιο έχοντας την ίδια σχεδόν περιεκτικότητα με το βαμβακέλαιο σε λινολενικό και λινελαϊκό οξύ, εμφάνισε καλύτερη οξειδωτική σταθερότητα από το δεύτερο, παρ' όλο που είχε μεγαλύτερη συγκέντρωση μετάλλων σε σχέση με το βαμβακέλαιο. Οι τοκοφερόλες προφανώς στην περίπτωση του αραβοσιτέλαιου είχαν καλύτερο αντιοξειδωτικό αποτέλεσμα σε σύγκριση με αυτές του βαμβακέλαιου. Μπορεί στην περίπτωση του αραβοσιτέλαιου, μόνο η α τοκοφερόλη να ικανοποιεί το κριτήριο της βέλτιστης συγκέντρωσης και η γ όχι, όμως σύμφωνα με τους [63] που μελέτησαν το ίδιο έλαιο, τα μείγματα των τοκοφερολών δρουν ως αντιοξειδωτικά ή προοξειδωτικά ανάλογα με τη συγκέντρωση μόνο της α τοκοφερόλης. Έτσι, αφού η συγκέντρωση της α τοκοφερόλης στο αραβοσιτέλαιο είναι βέλτιστη, τότε το μείγμα των τοκοφερολών στο συγκεκριμένο έλαιο δρα αντιοξειδωτικά. Αντίθετα, οι τοκοφερόλες του βαμβακέλαιου δεν παρουσίασαν τόσο καλή αντιοξειδωτική δράση όπως αυτές του αραβοσιτέλαιου, πιθανόν λόγω του ότι η α τοκοφερόλη είχε μεγαλύτερη συγκέντρωση από τη βέλτιστη και από τη στιγμή που αναφερόμαστε σε μείγματα τοκοφερολών, αυτό είναι αρκετό για να μειώσει την αντιοξειδωτική δράση των τοκοφερολών του βαμβακέλαιου [64,69,70]. Πιθανόν λοιπόν, λόγω της μεγαλύτερης οξειδωτικής σταθερότητας του αραβοσιτέλαιου σε σχέση με τα υπόλοιπα έλαια, να εμφανίζει το πρώτο λίγο μεγαλύτερη περίοδο επώασης σε σχέση με το βαμβακέλαιο και το σογιέλαιο.

Τέλος, το ιχθυέλαιο οξειδώνεται με ταχύτατους ρυθμούς, χωρίς να εμφανίζει περίοδο επώασης, κάτι το οποίο λογικά οφείλεται στο υψηλό περιεχόμενό του σε εικοσιπεντανοϊκό οξύ (C22:6 n-3) (19,8%) και σε δοκοσαεξανοϊκό οξύ DHA C22:6 (12.6%), τα οποία διασπώνται πολύ γρήγορα κατά την οξείδωση του ιχθυελαίου, αλλά και στο περιεχόμενό του σε μέταλλα, το οποίο είναι αρκετά υψηλό. Το περιεχόμενο σε α τοκοφερόλη στο ιχθυέλαιο δεν φάνηκε αρκετά ικανό ώστε να μπορέσει να αναστείλει την οξείδωσή του.

## ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΜΕ ΤΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΣΕ ΤΟΚΟΦΕΡΟΛΕΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΛΛΑ

Στην περίπτωση του αραβοσιτέλαιου παρατηρούμε πως όλα τα αντιοξειδωτικά είχαν αντιοξειδωτική δράση με τη μεγαλύτερη αυτών να την παρουσιάζει το ροσμαρινικό οξύ και ακολούθως η κατεχίνη και η κερκετίνη. Παρατηρείται επίσης πως η σειρά δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών είναι διαφορετική από τη σειρά ικανότητας να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες DPPH. Η μεγαλύτερη δραστηριότητα του ροσμαρινικού οξέως σε σχέση με τα άλλα αντιοξειδωτικά πιθανόν να εξηγείται από το γεγονός πως το συγκεκριμένο οξύ, ως φαινολικό, έχει την ικανότητα να προστατεύει την α τοκοφερόλη [100]. Και απ' τη στιγμή που η α τοκοφερόλη έχει καλή αντιοξειδωτική δράση στο συγκεκριμένο έλαιο, λόγω του ότι βρίσκεται σε βέλτιστη συγκέντρωση, το αραβοσιτέλαιο οξειδώνεται πιο δύσκολα με την προσθήκη ροσμαρινικού οξέως. Από την άλλη, θα περιμέναμε η κερκετίνη να εμφανίσει καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σχέση με την κατεχίνη, μιας και σύμφωνα με τη θεωρία η δομή των υδροξυλομάδων στον Β δακτύλιο, η 3-υδροξυλομάδα στον δακτύλιο C και ο διπλός δεσμός μεταξύ του δεύτερου και τρίτου άνθρακα στον δακτύλιο C φαίνεται να σχετίζονται με υψηλή ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών. Επίσης, από τη θεωρία γνωρίζουμε πως η κερκετίνη έχει την ικανότητα σε  $pH < 7$  να δεσμεύει το σίδηρο και τον ψευδάργυρο δύο φορές στο μόριό της, σε αντίθεση με την κατεχίνη που δεσμεύει τα συγκεκριμένα ιόντα μόνο μία. Αυτό μας οδηγεί στο συμπέρασμα πως πιθανώς αναπτύσσεται κάποια ανταγωνιστική δράση μεταξύ των αντιοξειδωτικών και των τοκοφερολών, η οποία μάλιστα γίνεται ολοένα πιο ισχυρή όσο μεγαλύτερη αντιοξειδωτικότητα εμφανίζει το κάθε αντιοξειδωτικό μεμονωμένα. Είναι γνωστό πως πολλές μελέτες κάνουν λόγο για την ανταγωνιστική δράση που εμφανίζουν η κατεχίνη και η κερκετίνη με τις τοκοφερόλες [102,108,110], αλλά το φαινόμενο αυτό μπορεί να εξηγηθεί καλύτερα από το συμπέρασμα στο οποίο κατέληξαν οι Peyrat-Maillard et al [106], ότι δηλ. η χρήση μιας ουσίας με α τοκοφερόλη είναι σημαντική μόνο όταν το αντιοξειδωτικό εμφανίζει μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από την α τοκοφερόλη, γιατί μόνο τότε εμφανίζεται συνεργιστική δράση [88]. Η κατεχίνη, λοιπόν, όπως και η κερκετίνη λόγω της υψηλής αντιοξειδωτικής ικανότητας που εμφανίζουν ως μεμονομένες ουσίες, όταν βρεθούν με την α τοκοφερόλη, που εμφανίζει αντιοξειδωτική δραστηριότητα, αλλά μικρότερη σε σχέση με των δύο

παραπάνω αντιοξειδωτικών [88], αναπτύσσεται ανταγωνιστική δράση. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τα αντιοξειδωτικά αυτά να προσφέρουν μικρότερη οξειδωτική προστασία και μάλιστα η κερκετίνη να εμφανίζεται ως πιο αδύναμο αντιοξειδωτικό σε σχέση με την κατεχίνη παρουσία α τοκοφερόλης. Ουσιαστικά δηλ. ένα ασθενέστερο αντιοξειδωτικό (α τοκοφερόλη) προσπαθεί να αναγεννηθεί από ένα ισχυρότερο (κατεχίνη-κερκετίνη) και κατά την αναγέννηση χάνεται η δράση του ισχυρού και μόνο η αντιοξειδωτική δράση του ασθενέστερου αντιοξειδωτικού μένει για την παρεμπόδιση της οξείδωσης.

Στην περίπτωση του βαμβακέλαιου το ροσμαρινικό οξύ εμφανίζεται πάλι ως το αντιοξειδωτικό με τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Αυτό πιθανόν να οφείλεται, όπως και στην περίπτωση του αραβοσιτέλαιου, στην ικανότητα που έχει ως φαινολικό οξύ να προστατεύει την α τοκοφερόλη. Βέβαια, η αντιοξειδωτική ικανότητα που εμφανίζει στο βαμβακέλαιο είναι μικρότερη από αυτή που εμφανίζει στο αραβοσιτέλαιο, το οποίο μάλλον οφείλεται στο ότι η συγκέντρωση της α τοκοφερόλης στο βαμβακέλαιο είναι κάπως μεγαλύτερη από τα όρια της βέλτιστης συγκέντρωσης. Παρόλα αυτά, η συγκέντρωση της γ τοκοφερόλης (333ppm) και του μείγματος των τοκοφερολών (716ppm) ανήκουν στις βέλτιστες συγκεντρώσεις και αυτό πιθανόν μαζί με την ικανότητα που έχει το ροσμαρινικό οξύ να προστατεύει την α τοκοφερόλη, να οδηγεί στο συγκεκριμένο αντιοξειδωτικό αποτέλεσμα. Η ικανότητα της κερκετίνης να δεσμεύει δύο φορές το σίδηρο και τον ψευδάργυρο σε  $\text{pH} < 7$ , σε αντίθεση με την κατεχίνη που δεσμεύει τα συγκεκριμένα ιόντα μία φορά και το ροσμαρινικό οξύ που δεν έχει διευκρινιστεί αν τα δεσμεύει 1 ή 2 φορές, φαίνεται να μην αρκεί, ώστε να προστατεύσει αποτελεσματικά το συγκεκριμένο έλαιο από την οξείδωση, ίσως γιατί η ποσότητα των μετάλλων είναι αρκετά μικρή ( $C_{\text{Fe}} \sim 3.5 \cdot 10^{-3} \text{ mmole/kg}$ ) και όλα τα αντιοξειδωτικά μπορούν να τα δεσμεύσουν σε ικανοποιητικό βαθμό. Αυτό μας οδηγεί στο συμπέρασμα πως προφανώς η σχέση που αναπτύσσεται μεταξύ της κατεχίνης και της κερκετίνης με τα μέταλλα, επισκιάζεται από τη σχέση που αναπτύσσουν τα συγκεκριμένα αντιοξειδωτικά με τις τοκοφερόλες. Απ' τη στιγμή που η κερκετίνη φαίνεται να είναι φτωχότερο αντιοξειδωτικό από την κατεχίνη στο βαμβακέλαιο, οδηγούμαστε στο ίδιο συμπέρασμα με αυτό που προέκυψε στο αραβοσιτέλαιο, πως επειδή η α τοκοφερόλη (ως ασθενέστερο αντιοξειδωτικό) προσπαθεί να αναγεννηθεί μέσα από ένα ισχυρότερο (κατεχίνη-κερκετίνη), κατά την αναγέννηση χάνεται η δράση του ισχυρού και μόνο η αντιοξειδωτική δράση του ασθενέστερου αντιοξειδωτικού μένει για την παρεμπόδιση

της οξειδωσης. Η ανταγωνιστική αυτή δράση που αναπτύσσεται φαίνεται να είναι τόσο πιο έντονη όσο περισσότερο αντιοξειδωτική ικανότητα εμφανίζει η ουσία.

Όσον αφορά το σογιέλαιο, η σειρά δραστηριότητας που εμφανίζεται δικαιολογείται όπως ακριβώς στην περίπτωση του αραβοσιτέλαιου, μιας και η συγκέντρωση της α τοκοφερόλης στο σογιέλαιο ανήκει στις βέλτιστες συγκεντρώσεις στις οποίες η α τοκοφερόλη εμφανίζει υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα. Στην περίπτωση του σογιέλαιου όμως, η αντιοξειδωτική δράση των τριών αντιοξειδωτικών είναι μειωμένη, λόγω όχι μόνο των υψηλών επιπέδων του σε λινολενικό οξύ, αλλά ίσως δικαιολογείται και από την μεγαλύτερη περιεκτικότητα του συγκεκριμένου ελαίου σε μέταλλα. Η καλύτερη αντιοξειδωτική δράση που έχει η κατεχίνη στο σογιέλαιο σε σχέση με την κερκετίνη, πιθανό να εξηγείται εν μέρει από την ικανότητα που έχει η πρώτη εξ αυτών να προστατεύει το λινολενικό οξύ από την οξείδωση [90].

Στο ηλιέλαιο, κανένα αντιοξειδωτικό δεν φαίνεται να είχε ιδιαίτερη αντιοξειδωτική δράση. Η συγκέντρωση της α τοκοφερόλης είναι αρκετά υψηλή και πολύ μεγαλύτερη από αυτές τις τιμές που δίνει η βιβλιογραφία ως βέλτιστες και δεν φαίνεται να προστατεύει το έλαιο, αλλά μάλλον ίσως είναι απ' τους σημαντικότερους παράγοντες που οδηγούν στην γρήγορη οξείδωσή του [63,64,69]. Έτσι το ροσμαρινικό οξύ δεν φαίνεται να έχει καθόλου δράση, μιας και δεν έχει νόημα ως φαινολικό οξύ να προστατεύει την α τοκοφερόλη, μιας και η συγκέντρωση της τελευταίας έχει σαν αποτέλεσμα να οδηγεί το έλαιο σε ταχύτερη υποβάθμιση. Απ' τη στιγμή λοιπόν που η α τοκοφερόλη δεν προσδίδει αντιοξειδωτικότητα στο έλαιο, δεν χρειάζεται να εξετάσουμε τη σχέση της με τα αντιοξειδωτικά. Ο μόνος παράγοντας που θα μπορούσε να εξηγήσει αυτήν την σειρά αντιοξειδωτικότητας στο ηλιέλαιο, είναι η σχέση μεταξύ μετάλλων-αντιοξειδωτικών. Είναι λογικό η κερκετίνη να εμφανίζει μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από την κατεχίνη, μιας και μπορεί να δεσμεύσει δύο φορές στο μόριό της το σίδηρο και τον ψευδάργυρο, όπως ειπώθηκε προηγουμένως, σε αντίθεση με την κατεχίνη που δεσμεύει και τα δύο μεταλλικά ιόντα μία φορά. Έτσι, παραμένει περισσότερη ποσότητα κερκετίνης για να αντιδράσει με τις ελεύθερες ρίζες που δημιουργούνται. Άλλωστε, όπως φάνηκε και από τη δοκιμή δέσμευσης ελευθέρων ριζών DPPH, η κερκετίνη μπορεί να δεσμεύσει 6.75 ρίζες ανά μόριο, ενώ η κατεχίνη περίπου 4 και πιθανώς έτσι να εξηγείται η καλύτερη αποτελεσματικότητα της κερκετίνης σε σχέση με την κατεχίνη. Το γεγονός ότι το ροσμαρινικό οξύ δεν εμφανίζει

ιδιαίτερη αντιοξειδωτική δράση στο ηλιέλαιο και μάλιστα μικρότερη από αυτή της κατεχίνης, η οποία δεσμεύει τα παραπάνω μέταλλα μία φορά στο μόριό της, μπορεί να είναι μια απόδειξη του ότι το ροσμαρινικό οξύ δεν μπορεί να σχηματίσει σύμπλοκα με τον ψευδάργυρο.

Στο ιχθυέλαιο η κερκετίνη όπως και το ροσμαρινικό οξύ έδειξαν αντιοξειδωτική δράση, αν και μικρή, ενώ η κατεχίνη δεν είχε αντιοξειδωτικό αποτέλεσμα. Η κερκετίνη λόγω της ικανότητάς της να δεσμεύει δύο φορές στο μόριό της το σίδηρο και τον ψευδάργυρο, εμφανίζει καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με την κατεχίνη όσον αφορά την προστασία του ελαίου από την οξείδωση. Όσον αφορά το ροσμαρινικό οξύ, πιθανό η δράση του να σχετίζεται με το περιεχόμενο του ελαίου σε τοκοφερόλες και την ικανότητά του να προστατεύει την ατοκοφερόλη, όμως κρίνεται αναγκαία η περαιτέρω μελέτη του ιχθυελαίου, καθώς επειδή είναι αρκετά ευοξειδωτο οξύ, υπάρχει κίνδυνος να καταλήξουμε σε επισφαλή συμπεράσματα.

#### 5.6 ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΡΟΣΜΑΡΙΝΙΚΟΥ ΟΞΕΩΣ ΣΕ ΑΙΘΑΝΟΛΙΚΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΔΙΚΤΑΜΟΥ ΚΑΙ ΑΝΑΚΤΗΣΗ ΤΟΥ

Επειδή, όπως φάνηκε από τα παραπάνω αποτελέσματα, το ροσμαρινικό οξύ είναι το καλύτερο αντιοξειδωτικό στις περισσότερες περιπτώσεις, έγινε προσπάθεια ανάκτησής του από εκχυλίσματα δικτάμου (T1, F3 και Γ1), τα οποία είχαν παραχθεί στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων.

Τα εκχυλίσματα αυτά αναλύθηκαν με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) και τα χρωματογραφήματα που πήραμε είναι αυτά που παρουσιάζονται στο παράρτημα.

Στον Πίνακα 5.11 παρουσιάζεται η διαθέσιμη ποσότητα του ροσμαρινικού οξέως (RA) σε αυτά, η οποία βρέθηκε με τη βοήθεια της καμπύλης αναφοράς του ροσμαρινικού οξέως που βρίσκεται επίσης στο παράρτημα.



Πίνακας 5.14: Διαθέσιμη ποσότητα ροσμαρινικού οξέως στα αρχικά εκχυλίσματα

Εκχύλισμα	E280	C rosm (g/L)	Μεσ.ορ.	Όγκος εκχυλίσματος (L)	μάζα ροσμ (g)
Γ1	8419.2	0.274	0.2735	0.44	0.120
	8369.5	0.273			
T1	3638.7	0.117	0.1165	0.975	0.114
	3585.8	0.116			
F3	4801	0.155	0.157	0.44	0.069
	4908.7	0.159			
σύνολο				1.855	0.303

Στη συνέχεια αναμείξαμε τα παραπάνω διαλύματα και προσπαθήσαμε από αυτά να ανακτήσουμε όσο το δυνατόν μεγαλύτερη ποσότητα ροσμαρινικού οξέως με τον παρακάτω τρόπο:

Σε σφαιρική φιάλη των 500 mL τοποθετήθηκαν 100 mL H<sub>2</sub>O (HPLC). Σταδιακά προστέθηκαν τα αιθανολικά εκχυλίσματα δίκταμου και η αιθανόλη απομακρύνθηκε με περιστροφικό εξατμιστή κενού. Το pH ρυθμίστηκε με διάλυμα NaOH (10M) σε 5.6, μιας και σε αυτό το pH εμφανίζει το ροσμαρινικό οξύ την καλύτερη διαλυτότητα.. Το αιώρημα μεταφέρθηκε σε διαχωριστική χοάνη των 500mL και εκχυλίστηκε πέντε φορές με 150 mL MeCOOEt. Η υδατική φάση μεταφέρθηκε ξανά σε σφαιρική φιάλη των 500 mL και τα ίχνη MeCOOEt εξατμίστηκαν με περιστροφικό εξατμιστή. Στη συνέχεια, τοποθετήθηκε στο ψυγείο. Η υδατική φάση περιμένουμε να έχει τη μεγαλύτερη ποσότητα RA λόγω του ότι το αντιοξειδωτικό θα διαλυθεί στο νερό, μιας και αυτό είναι πολικό ενώ ο αιθυλεστέρας είναι άπολος.

Η οργανική στιβάδα (του MeCOOEt) πλύθηκε εις τριπλούν με 20mL H<sub>2</sub>O σε pH =5.6. Η οργανική στιβάδα συλλέχθηκε και σε αυτήν προστέθηκε Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και οδηγήθηκε προς ξήρανση. Οι υδατικές φάσεις αναμείχθηκαν, αφού πρώτα είχαν αφαιρεθεί τυχόν υπολείμματα του MeCOOEt με περιστροφικό εξατμιστή κενού.

Υπό μαγνητική ανάδευση, το pH του συνολικού υδατικού διαλύματος ρυθμίζεται σε 2-2.5 με προσθήκη διαλύματος HCl συγκεντρώσεως 12M. Το υδατικό αιώρημα με pH = 2 μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη και εκχυλίζεται εις τριπλούν με 100ml δι-ισο-προπυλαιθέρα. Οι αναμειγμένες αιθερικές φάσεις αφυδατώνονται με στερεό Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Σε αυτήν την εκχύλιση, περιμένουμε να πάρουμε το ροσμαρινικό οξύ στον αιθέρα, διότι η προσθήκη HCl οξέως έχει σαν αποτέλεσμα την μετατόπιση της ισορροπίας της διάστασης του ροσμαρινικού οξέως προς τα αριστερά και έτσι το RA βρίσκεται στη μη ιονισμένη μορφή του. Άρα, περιμένουμε το αντιοξειδωτικό να έχει χαμηλή διαλυτότητα στο νερό.

Κατά τη διάρκεια της εκχύλισης, σχηματίστηκε γαλάκτωμα, στο οποίο προστέθηκε χλωριούχο νάτριο (NaCl), με σκοπό να σπάσει. Όμως κατά τη διαδικασία αυτή, σχηματίστηκε μία κολλοειδής ουσία, η οποία απομονώθηκε. Στην αιθερική φάση, προτού σε αυτή προστεθεί Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και αφυδατωθεί, προστέθηκε επίσης ακετόνη, με σκοπό να κατακρυσμώσει το άλας που είχαμε προσθέσει.

Τέλος, η κολλοειδής ουσία, η αιθερική φάση, η υδατική και η εστερική αναλύονται με HPLC με σκοπό να βρεθεί η διαθέσιμη ποσότητα ροσμαρινικού οξέως.

Πίνακας 5.15: Ποσοστό ανάκτησης ροσμαρινικού οξέως από τα αρχικά εκχυλίσματα

Συμπύκνωμα-κλάσμα	E280	C rosm (g/L)	Όγκος εκχυλίσματος (L)	μάζα ροσμ (g)	%
οξικού αιθυλεστέρα	1297.74	0.040	0.5	0.020	6.7
μεθανολικό δ/μα κηρώδους	2374.9	0.076	0.5	0.038	12.5
υδατικό	978.3	0.030	0.5	0.015	4.9
αιθερικό	11386	0.372	0.5	0.186	61.3

Το αιθερικό κλάσμα φαίνεται να είναι αυτό το οποίο περιέχει τη μεγαλύτερη ποσότητα του συγκεκριμένου αντιοξειδωτικού, μιας και το ποσοστό του ροσμαρινικού οξέως σε αυτό αντιστοιχεί στο 61.3% της αρχικής διαθέσιμης ποσότητας. Έτσι, μόνο από αυτό το κλάσμα αξίζει να απομονωθεί η διαθέσιμη ποσότητα αντιοξειδωτικού, η οποία πρέπει να διευκρινιστεί πως δεν είναι καθαρό ροσμαρινικό οξύ, αλλά περιέχει και άλλες προσμείξεις, όπως φάνηκε παραπάνω στη διαδικασία απομόνωσης.

## Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν για τα σπορέλαια που μελετήσαμε, σύμφωνα με το ρυθμό οξειδωσής τους μπορούμε να παραθέσουμε σε αύξουσα σειρά τη σταθερότητά τους: ηλιέλαιο < σογιέλαιο < βαμβακέλαιο < αραβοσιτέλαιο. Το αραβοσιτέλαιο φάνηκε να οξειδώνεται πιο δύσκολα από τα υπόλοιπα έλαια, ενώ το ηλιέλαιο εμφάνισε την μικρότερη σταθερότητα και παρόμοια με αυτή του σογιέλαιου. Η υψηλή σταθερότητα του αραβοσιτελαίου απέναντι στην οξείδωση φάνηκε να έχει άμεση σχέση τόσο με τα χαμηλά επίπεδα λινελαϊκού και λινολενικού οξέως, όσο και με το περιεχόμενό του σε τοκοφερόλες και κυρίως σε α τοκοφερόλη, η συγκέντρωση της οποίας βρίσκεται μέσα στα όρια της βέλτιστης συγκέντρωσης που μπορεί να προσφέρει υψηλή αντιοξειδωτική προστασία.

Το ιχθυέλαιο από την άλλη, οξειδώθηκε με αρκετά γρήγορο ρυθμό. Τα αντιοξειδωτικά που φαίνεται να είχαν καλύτερη δράση απέναντι στην οξείδωση ήταν η κερκετίνη και το ροσμαρινικό οξύ. Η κατεχίνη δεν φάνηκε να μπορεί να προστατεύσει το ιχθυέλαιο, χρειάζεται όμως επιπλέον μελέτη σχετικά με την αντιοξειδωτικότητα και των τριών αυτών ουσιών στο συγκεκριμένο έλαιο. Μια πρόταση, λοιπόν, θα μπορούσε να είναι η περαιτέρω μελέτη τόσο του συγκεκριμένου ελαίου με αυτά τα αντιοξειδωτικά, όσο και ο ρόλος που διαδραματίζει η α τοκοφερόλη και ο τρόπος με τον οποίο η συγκέντρωσή της μπορεί να επηρεάσει τη δράση των τριών παραπάνω αντιοξειδωτικών.

Από τα αποτελέσματα σχετικά με τη δραστηριότητα των τριών αντιοξειδωτικών, μπορούμε να συμπεράνουμε πως η δοκιμή δέσμευσης ελευθέρων ριζών DPPH είναι απλά ένα μέτρο αξιολόγησης της δράσης των αντιοξειδωτικών, το οποίο όμως μεμονωμένα δεν εξηγεί τη δράση τους στα διάφορα έλαια. Η δράση τους στα διάφορα έλαια επηρεάζεται και από άλλους παράγοντες, όπως η σχέση τους με τις τοκοφερόλες και τα μέταλλα. Το αντιοξειδωτικό που είχε τα καλύτερα αποτελέσματα στην προστασία των ελαίων από την οξείδωση, φάνηκε να είναι στις περισσότερες περιπτώσεις το ροσμαρινικό οξύ και ειδικά στις περιπτώσεις που η α τοκοφερόλη έδειξε αντιοξειδωτική δράση. Αυτό πιθανό να εξηγείται από το γεγονός πως ως φαινολικό οξύ μπορεί να προστατεύει την α τοκοφερόλη.

Γενικά, παρατηρήθηκε πως οι λιπαρές ύλες με υψηλή περιεκτικότητα α τοκοφερόλης και βαρέων μετάλλων εμφάνισαν μεγαλύτερους ρυθμούς οξειδωσης. Το αποτέλεσμα αυτό φαίνεται λογικό, μιας και όταν η α τοκοφερόλη ξεπεράσει τη βέλτιστη συγκέντρωση στην οποία εμφανίζει αντιοξειδωτικότητα, δεν είναι ικανή να προστατεύσει τα έλαια από την οξείδωση και μερικές φορές είναι υπεύθυνη ακόμα και για την προοξειδωτική συμπεριφορά που εμφανίζεται.

Από τα αποτελέσματά μας φάνηκε πως η δράση των αντιοξειδωτικών με τα μέταλλα επισκιάζεται τις περισσότερες φορές από τη δράση των πρώτων με τις τοκοφερόλες, όταν αυτές (οι τοκοφερόλες) εμφανίζουν αντιοξειδωτική συμπεριφορά. Κρίνεται λοιπόν αναγκαία η πραγματοποίηση και άλλων πειραμάτων με σκοπό να φανεί η σημασία των συμπλόκων μετάλλων-αντιοξειδωτικών σε σχέση με τη συνεργιστική/ανταγωνιστική δράση που εμφανίζουν οι τοκοφερόλες με τα αντιοξειδωτικά.

Τέλος, η παρατήρηση των Peyrat-Maillard et al. [106] *«η χρήση μιας ουσίας με α τοκοφερόλη είναι χρήσιμη μόνο όταν αυτή έχει μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από την α τοκοφερόλη. Μόνο τότε μπορούν να έχουν συνεργιστική δράση»* φαίνεται να είναι υψίστης σημασίας, μιας και εξηγεί σε όλες σχεδόν τις περιπτώσεις, τη δράση των αντιοξειδωτικών που μελετήσαμε στα διάφορα έλαια. Καλό είναι επόμενες μελέτες να επικεντρωθούν στην οξείδωση διαφόρων ελαίων, αρχικά μόνο με τοκοφερόλες, στη συνέχεια μόνο με αντιοξειδωτικό (έλαιο απαλλαγμένο από τοκοφερόλες) και τέλος με διάφορους συνδυασμούς συγκεντρώσεων αντιοξειδωτικού με τοκοφερόλες, ώστε να αξιολογηθεί ορθότερα το συμπέρασμα στο οποίο κατέληξαν οι Peyrat-Maillard et al. και το οποίο επιβεβαιώνεται και από τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας.

## 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Zuta, P.C. , Simpson, B.K. , Zhao, X., Leclerc, L., The effect of a-tocopherol on the oxidation of mackerel oil, *Food Chemistry*, Volume 100, Issue 2, 2007, Pages 800–807
2. Arici, M., Colak, F. A., & Gecgel, U., Effect of gamma radiation on microbiological and oil properties of black cumin (*Nigella sativa* L.), *Grasas y Aceites*, Vol 58, No 4, 2007, 339-343
3. Lutfullah, G., Zeb, A., Ahmad, T., Atta, S., & Bangash, F. K., Changes in the quality of sunflower and soybean oils induced by high doses of gamma radiations., *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 25, 2003, 269–276.
4. Chaiyasit,W., Elias,R.J., McClements, D.J., Decker.,E.A., Role of Physical Structures in Bulk Oils on Lipid Oxidation. Department of Food Science, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47, 2007, 299–317
5. Frank D. Gustone, *Vegetable oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses*, Blackwell publishing, April 2011
6. Souza,E.C., C.F. Canale,L., Totten,G.E., *Vegetable oil structure and antioxidants*, 09-12 June 2009, Dubrovnik - Cavtat, Croatia
7. El-Nakhlawy, F. S.; Shiboob, M. H., Evaluation of Nine Oil Crops for Fatty Acid Constituents of their Oils, *Journal of King Abdulaziz University - Meteorology, Environment and Arid Land Agriculture Sciences*, 2011, Vol. 22 No. 1 pp. 51-59
8. Wanasundara U. N. and Shahidi F.. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils: *Food Chemistry*, 63, 1998, 335-342.
9. Heinzelmann K. and Franke K., Using freezing and drying techniques of emulsions for the microencapsulation of fish oil to improve oxidation stability. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 12, 1999, 223-229
10. García-Moreno, P.J. , Muñío, M.M., Pérez-Gálvez, R., Guadix, A., Guadix, E.M.,Measuring the oxidative stability of fish oil by the Rancimat test, *Food Innova* 2010
11. Lees RS, Karel M, *Omega-3 fatty acids in health and disease*, 1990, New York.

12. Uauy R, Valenzuela A, Marine Oils: the health benefits of n-3 fatty acids. *Nutrition* 16, (2000), 680-684.
13. Chol Su Pak, Stability and quality of fish oil during typical domestic application, Icelandic Fisheries Laboratories, Final Project 2005
14. Boran G., Karacam H. and Boran M., Changes in the quality of fish oils due to storage temperature and time. *Food Chemistry*, Volume 98, Issue 4, 2006, Pages 693–698
15. Marinova, E. M., Seizova, K. A., Totseva, I. R., Panayotova, S.S., Marekov, I.N., Momchilova, S.M., Oxidative changes in some vegetable oils during heating at frying temperature, *Bulgarian Chemical Communications*, Volume 44, Number 1, 2012, (pp. 57 – 63)
16. Sheppard, A. J., Iverson, J. L. & Weihrauch, J. L., Composition of selected dietary fats, oils, margarine and butter. In *Handbook of Lipid Research, Fatty Acids and Glyceride*, ed. A. Kuksis. Plenum Press, New York, 1978, pp.341-79.
17. Charlie Scrimgeour, *Chemistry of Fatty Acids*, Edited by Fereidoon Shahidi. Copyright # 2005 John Wiley & Sons, Inc
18. S. K. Duckett and M. H. Gillis, Effects of oil source and fish oil addition on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets, *American Society of Animal Science, J. Anim. Sci.* 2010. 88:2684–2691
19. R. F. Wilson, J. W. Burton, V. R. Pantalone, and R. E. Dewey, New gene combinations governing saturated and unsaturated fatty acid composition in soybean., Marcel Dekker, New York, 2002, pp. 95–113.
20. Hammond, E.G., Johnson, L.A., Caiping Su, Wang, T., and White, P.J., *Soybean Oil*, Edited by Fereidoon Shahidi. Copyright # 2005 John Wiley & Sons, Inc.
21. Ndzana, X., Fehr, W. R. , Welke, G. A. , Hammond, E. G., Duvick, D. N., and Cianzio, S. R., Influence of reduced palmitate content on agronomic and seed traits of soybean, *Crop Sci.*, 34, 1994, 646–649

22. Wang, T., Hammond, E.G., and Fehr, W.R., Neutral and polar lipid phase transition of soybeans with altered saturated fatty acid contents, *J.Amer.OilChem.Soc.*,78, 2001, 1139–1144.
23. A. J. Kinney, Development of genetically engineered soybean oils for food applications, *J. Food Lipids*, 3, 1996, 273–292
24. Santos, J.C.O., Dantas, J.P., Souza,A.G., Conceição,M.M., Kinetic parameters on thermal degradation of edible begetable oils by thermogravimetric data, *Journal of Engineering and Applied Science* 2 (3), 2007, 501-503
25. Personal Nutrition, Boyle & Anderson, Thomson/Wadsworth, 6th ed, 2007
26. Edward H. Gruger, Jr, M E Stansby, Fatty Acid Composition of Fish Oils, United States Departement of the Interior, fish and wildlife service, Bureau of Commercial fisheries, 1967
27. Bratu,A., Mihalache.,M., Hanganu.,A., Chira.,N..A., Todasca,M.C., Rosca,S., Quantitive determination of fatty acids from fish oils using GC-MS method and H-NMR spectroscopy, *U.P.B. Sci. Bull., Series B*, Vol. 75, Iss. 2, 2013
28. Saify,Z.S., Akhatar,S., Khan,K.M., Perveen,S., Ayattollahi,S.A.M., Hassan,S., Arif,M., Haider,S.M., Ahmad,F., Siddiqi,S., Khan,M.Z., A Study on the Fatty Acid Composition of Fish Liver Oil from Two Marine Fish, *Eusphyra blochii* and *Carcharhinus bleekeri*, *Turk J Chem*27 (2003) , 251 – 258
29. Naz,S., Sheikh,H., Siddiqi,R., Sayeed,S.A., Oxidative stability of olive, corn and soybean oil under different conditions, *Food Chemistry* 88 (2004) 253–259
30. Kodali, D.R., High Performance Ester Lubricants from Natural Oils, *Industrial Lubrication and Tribology*, Vol. 54, No. 4, 2002,p. 165-170.
31. Wanasundara,U.N., Shahidi,F., Jablonski,C.R., Comparison of standard and NMR methodologies for assessment of oxidative stability of canola and soybean oils, *Food Chemistry* 52 (1995) 249-253



32. Labuza, T. P., Kinetics of lipid oxidation in foods, *CRC Crit. Rev. Food Technol.*, 2, 1971, 355-405.
33. Hawrysh, Z. J., Stability of canola oil. In *Canola and Rapeseed Production, Chemistry, Nutrition and Processing Technology*. ed. F. Shahidi. Van Nostrand Reinhold, New York, 1990, pp. 99-122.
34. Min, D. B.; Boff, J. M., Lipid oxidation of edible oil. In *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*; Akoh, C. C., Min, D. B., Eds.; Marcel Dekker: New York, 2002; pp 335-364.
35. Verzelloni, E., Tagliazucchi, D., & Conte, A., Relationship between the antioxidant properties and the phenolic and flavonoid content in traditional balsam vinegar. *Food Chemistry*, 105, 2007, 564–571.
36. Swern D., Oxidation by atmospheric oxygen (autoxidation), Chapter XIV
37. Frankel, E. N., Chemistry of autoxidation: mechanism, products and flavor significance. AOCS Press, 1985, pp. 1–38
38. Doleiden, F. H.; Farenholtz, S. R.; Lamola, A. A.; Trozzolo, A.M. Reactivity of cholesterol and some fatty acids toward singlet oxygen. *Photochem. Photobiol.* 20, 1974, 519-521.
39. Whitney Gammill, A comparative study of high linoleic acid vegetable oils for the production of conjugated linoleic acid, *J Agric Food Chem.*, Vol: 10;58(5), 2010, pp:2952-7
40. Aardt, M.V., Duncan, S.E., Long, T.E., O'Keefe, S.F., Marcy, J.E., Sims, S.R., Effect of Antioxidants on Oxidative Stability of Edible Fats and Oils: Thermogravimetric Analysis, *J. Agric. Food Chem.*, 2004, 52 (3), pp 587–591
41. Evans R.J., Optimizing Lipids Stability with Natural Inhibitors, in *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications*, edited by F. Shahidi, AOCS Press, Champaign, 1997, pp. 224–244.
42. Frankel, E. N., Lipid oxidation: a review. *Prog. Lipid Res.*, 19(1-2), 1980, 1-22.

43. K.A. Augustin, T. Asao, L.K. Heng, Relationships between measurements of fat deterioration during heating and frying in RBD olein., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 64, Issue 12, 1987, pp 1670-1675.
44. Crapiste, G.H., Brevedan, M.I.V., and Carelli, A.A., Oxidation of Sunflower Oil During Storage, *JAACS*, Vol. 76, no. 12 (1999), pp 1437-1443
45. Adachi, S., Minten, S., Kobayashi, T., Oxidation of Lipid in Bulk and Dispersion Systems, *Japan Journal of Food Engineering*, Vol. 10, No. 1, Mar. 2009, pp. 9 - 15
46. Colakoglu, A.S., Oxidation kinetics of soybean oil in the presence of monoolein, stearic acid and iron, *Food Chemistry*, Volume 101, Issue 2, 2007, Pages 724–728
47. Labuza, T. P., & Bergquist, S., Kinetics of potato chips under constant temperature and sine wave temperature conditions. *Journal of Food Science*, 48, 1983, 712–713.
48. Topallar, H., Y. Bayrak, and M. Iscan, A Kinetic Study on the Autoxidation of Sunflowerseed Oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74, 1997, 1323–1327
49. Malesev, D., and Kuntic, V., Investigation of metal–flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal–flavonoid complexing reactions., *J. Serb. Chem. Soc.* 72 (10), 2007, pp: 921–939
50. Calderon, P.B., Praet, M., Ruyschaert, J.M., Roberfroid, M., Reduction of toxicity and increase of antitumor effect of adriamycin by N-acyl dehydroalanines, a new family of free radical scavengers, *Advances in experimental medicine and biology*, 264, 1990, pp: 339-344.
51. Rubalya Valentina S. and Neelamegam P., Antioxidant potential in vegetable oil, *Research Journal of Chemistry & Environment*, Vol. 16 (2), June (2012), pp: 87-94
52. H. Hotta, H. Sakamoto, S. Nagano, T. Osakai, Y. Tsujino, Unusually large numbers of electrons for the oxidation of polyphenolic antioxidants, *Biochim. Biophys. Acta* 1526(2), 2001, pp: 159–167

53. M.S. Ahmad, F. Fazal, A. Rahman, S.M. Hadi, J.H. Parish, Activities of flavonoids for the cleavage of DNA in the presence of Cu(II) : correlation with generation of active oxygen species, *Carcinogenesis* 13, 1992, 605-608
54. Gunstone F.D., Harwood J.L., Padley B.P. 1994. *The Lipid Handbook*, 2nd ed., Chapman & Hall, London, pp. 551.
55. Pietta, P. G., Flavonoids as antioxidants, *J. Nat Prod.* 63, 2000, 1035-1043
56. Cornard, J. P., Merlin, J. C, Spectroscopic and structural study of complexes of quercetin with Al(III), *J. Inorg. Biochem.* 92, 2002, 19
57. De Souza, R.F.V. , De Giovani, W.F. , *Spectrochim Acta A*, 61,2005, 1985-1990
58. Κουράκου - Δραγωνά Σταυρούλα, *Θέματα Οινολογίας*, Εκδόσεις Τροχαλία, 2002
59. Ζερβόπουλος Δ. Σωτήριος, *Επίδραση των φαινολικών ουσιών στην αύξηση και τη φυσιολογική συμπεριφορά του ζυμομύκητα Saccharomyces cerevisiae X5, καλλιεργούμενου σε συνθετικά γλεύκη*, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων  
(<http://dspace.aua.gr/xmlui/bitstream/handle/10329/161/%CE%96%CE%B5%CF%81%CE%B2%CF%8C%CF%80%CE%BF%CF%85%CE%BB%CE%BF%CF%82%20%CE%A3%CF%89%CF%84%CE%AE%CF%81%CE%B9%CE%BF%CF%82.pdf?sequence=1>)
60. W.C. Hodnick, E.B. Milosavljevic, J.H. Nelson, R.S. Pardini, Electrochemistry of flavonoids. Relationships between redox potentials, inhibition of mitochondrial respiration, and production of oxygen radicals by flavonoids, *Biochemical pharmacology* 37(13), 1988, pp:2607-11.
61. Braunrath,R., Isnardy,B., Solar,S., Elmadfa,I., Impact of a-, g-, and d-tocopherol on the radiation induced oxidation of rapeseed oil triacylglycerols, *Radiation Physics and Chemistry* 79, 2010, 764–769

62. Kamal-Eldin, A., Görgen, S., Pettersson, J., Lampi, A.-M., Normal-phase high-performance liquid chromatography of tocopherols and tocotrienols—comparison of different chromatographic columns. *J. Chromatogr. A* 881 (1-2), 2000, 217–227.
63. Evans, J.C. , Kodali, D.R., Addis, P.B., Optimal Tocopherol Concentrations to Inhibit Soybean Oil Oxidation, *JAOCS*, Vol. 79, Issue 1, 2002, pp 47-51
64. Lampi,A.M., Kataja,L., Kamal-Eldin,A., Vieno,P., Antioxidant Activities of  $\alpha$ - and  $\gamma$ -Tocopherols in the Oxidation of Rapeseed Oil Triacylglycerols, *JAOCS*, Vol. 76, Issue 6, 1999, pp:749-755
65. Kamal-Eldin, A., & Appelquist, L.-A., The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*, 31(79),1996, pp: 671–701.
66. Yanishlieva, N. V., Kamal-Eldin, A., Marinova, E. M., & Toneva, A. G., Kinetics of antioxidant action of  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocopherols in sunflower and soybean triacylglycerols. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104, 2002, 262–270
67. R. Braunrath, B. Isnardy, S. Solar, I. Elmadfa, Influence of  $\alpha$ -,  $\gamma$ -, and  $\delta$ -tocopherol on the radiation induced formation of peroxides in rapeseed oil triacylglycerols, *Food Chemistry* 117, 2009, 349–351
68. Isnardy, B., Wagner, K.-H., & Elmadfa, I. ,Effects of  $\alpha$ -,  $\gamma$ -, and  $\delta$ -tocopherols on the autoxidation of purified rapeseed oil triacylglycerols in a system containing low oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2003, 7775–7780.
69. Huang,S.W., Frankel,E.N., German,J.B., Effects of Individual Tocopherols and Tocopherol Mixtures on the Oxidative Stability of Corn Oil Triglycerides, *J. Agric. Food Chem.*, 43, 1995, 2345-2350
70. Ohm,V.A., Stoeckmann,H., Schwarz,K., The more – The better? Estimating the inhibitory activity of  $\alpha$ -tocopherol towards lipid oxidation, *Journal of Plant Physiology* 162 ,2005, 785—789

71. Steel, C. J., Dobarganes, M.C., Barrera-Arellano, D., Formation of polymerization compounds during thermal oxidation of cottonseed oil, partially hydrogenated cottonseed oil and their blends, *Grasas Y Aceites*, 57 (3), 2006, 284-291
72. Frandsen, S.S., Distillate Information, Henkel Supplier Brochure, Henkel Corporation, LaGrange, IL, 1996, pp. 2, 3.
73. Herting, D.C., Drury, E-J.E., Vitamin E Content of Vegetable Oils and Fats, *J. Nutrition*, 81, 1963, 335-342
74. Harris, P. L., M. L. Quaife and W. J. Swanson, Vitamin E content of foods. *J. Nutrition*, 40, 1950, 367-381.
75. Bro-Rasmussen, F., and W. Hjarde, Determination of  $\alpha$ -tocopherol by chromatography on secondary magnesium phosphate. *Acta Chem. Scand.*, 1957, 11, 34-43
76. Bro-Rasmussen, F., and W. Hjarde 1957 Quantitative determination of the individual tocopherols by chromatography on secondary magnesium phosphate. *Acta Chem. Scand.*, 11, 1957, 44-52
77. Green, J., S. Marcinkiewicz and P. R. Watt , The determination of tocopherols by paper chromatography. *J. Sci. Food Agr.*, 6, 1955, 274-282
78. Brown, F. The estimation of vitamin E. 2. Quantitative analysis of tocopherol mixtures by paper chromatography. *Biochem. J.*, 52, 1952, 523-526
79. Tafel, K., and R. Serzisko , On the tocopherol content of some fats and oils, *Ernaehrungsforschung*, 6, 1961, 323-330
80. Berndorfer, A., The determination of tocopherols in vegetable oils by paper chromatography. Budapest! *Muszaki Egyetem Elelmiszerkemiai Tanszekenek Kozlemenyei*, 1961, 3961: 7.
81. Yuki E., Ishikawa Y., Tocopherol contents of nine vegetable frying oils, and their changes under simulated deep-fat frying conditions. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 53, 1976, 673-676.

82. Barrera-Arellano D., Ruiz-Méndez M.V., Márquez-Ruiz G., Dobarganes M.C. , Loss of tocopherols and formation of degradation compounds in triacylglycerol model systems heated at high temperature. *J. Sci. Food Agric.* 79, 1999, 1-6.
83. Warner, K.; Frankel. E. N.; Mounts, T. L. Flavor and Oxidative Stability of Soybean, Sunflower, and Low Erucic Acid Rapeseed Oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 66, 1989, 558-564
84. Warner,K., Effects on the Flavor and Oxidative Stability of Stripped Soybean and Sunflower Oils with Added Pure Tocopherols, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(26), 2005, 9906-9910
85. Frankel E. N., Antioxidants in lipid food and their impact on food quality. *Food Chemistry*, 57, 1996, 51-55.
86. Frankel, E. N., & Meyer, A. S.,The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 2000, 1925–1941.
87. Τιτάκης - Καρτσωνάκης Γεώργιος, Αξιοποίηση των στεμφύλων σε μονάδες παραγωγής εκχυλισμάτων σταφυλής πλούσιων σε πολυφαινόλες. Διατμηματικό πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών Οργάνωση και Διοίκηση Βιομηχανικών Συστημάτων. Πανεπιστήμιο Πειραιώς, Τμήμα:Βιομηχανικής Διοίκησης και Τεχνολογίας, και Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Τμήμα Χημικών Μηχανικών
88. Ohm,V.A., Konzentrationsabhängige Interaktionen zwischen alpha-Tocopherol und weiteren Antioxidantien in lipidhaltigen Systemen, Kiel, Der Andere Verlag, April 2007
89. S.F. Hamed and Mousa A. Allam, Application of FTIR Spectroscopy in the Determination of Antioxidant Efficiency in Sunflower Oil, *Journal of Applied Sciences Research* 2(1), 2006, 27-33
90. D. Michottea, H. Rogezb, R. Chirinosc, E. Mignoleta, D. Camposc, Y. Larondelle, Linseed oil stabilisation with pure natural phenolic compounds, D. Michotte et al./*Food Chemistry* 129, 2011, 1228–1231

91. Das NP, Pereira TA., Effects of flavonoids on thermal autooxidation of Palm oil: structure- activity relationship. *Journal of American Oil Chemists Society* 67, April 2007, 255-258.
92. Nieto,S., Garrido,A., Sanhueza,J., Loyola,L.A., Morales,G., Leighton,F., Valenzuela,A., Flavonoids as stabilizers of fish oil: An alternative to synthetic antioxidants, *AOCS*, Volume 70, Issue 8, August 1993, pp 773-778
93. Tsimogiannis,D., Oreopoulou,V., Defining the Role of Flavonoid Structure on Cottonseed Oil Stabilization: Study of A- and C-Ring Substitution, *JAOCS*, Volume 84, Issue 2, February 2007, pp 129-136
94. Roedig-Penman,A., Gordon,M.H., Antioxidant properties of myricetin and quercetin in oil and emulsions, *JAOCS*, Volume 75, Issue 2, 1998, pp 169-180
95. R. Kowalski, GC analysis of changes in the fatty acid composition of sunflower and olive oils heated with quercetin, caffeic acid, protocatechuic acid, and butylated hydroxyanisole, *Acta Chromatographica*, NO. 18, ISCNP 2006, Lublin (Poland), June 19th-22nd
96. E. F. Kurth, Frank L. Chan, Dihydroquercetin as an antioxidant, *JAOCS*, Volume 28, Issue 10, October 1951, pp 433-436
97. Miranda,A.L., Ribeiro,M.C., Moreira,R.F.A., Maria,C.A.B., Volatile profile of heated soybean oil treated with quercetin and chlorogenic acid, *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 28(4), 2008, 949-952
98. Huber,G.M., Rupasinghe,H.P.V., Shahidi,F., Inhibition of oxidation of omega-3 polyunsaturated fatty acids and fish oil by quercetin glycosides, *Food Chemistry* 117, 2009, 290–295
99. Naciye Erkan, Guler Ayranci, Erol Ayranci, Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract,blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid,rosmarinic acid and sesamol, *Food Chemistry* 110, 2008, 76–82
100. Réblová Z., Okrouhlá P., Ability of phenolic acids to protect  $\alpha$ -tocopherol., *Czech J. Food Sci.*,28, 2010, 290–297

101. Jie Yin, Eleonora Miquel Becker, Mogens L. Andersen, Leif H. Skibsted, Green tea extract as food antioxidant. Synergism and antagonism with  $\alpha$ -tocopherol in vegetable oils and their colloidal systems, *Food Chemistry* 135, 2012, 2195–2202
102. Hras, A. R., Hadolin, M., Knez, Z., & Bauman, D., Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with  $\alpha$ -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chemistry*, 71(2), 2000, 229–233
103. Jia, Z. S., Zhou, B., Yang, L., Wu, L. M., & Liu, Z. L., Antioxidant synergism of tea polyphenols and  $\alpha$ -tocopherol against free radical induced peroxidation of linoleic acid in solution. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions*, 2(4), 1998, 911–915.
104. Ostrowska J, Skrzydlewska E., The comparison of effect of catechins and green tea extract on oxidative modification of LDL in vitro, *Adv Med Sci.*,51, 2006, 298-303.
105. Zhou, B., Miao, Q., Yang, L., & Liu, Z. L., Antioxidative effects of flavonols and their glycosides against the free-radical-induced peroxidation of linoleic acid in solution and in micelles. *Chemistry-a European Journal*, 11(2), 2005, 680–691
106. Peyrat-Maillard, M. N., Cuvelier, M. E. & Berset, C.: Antioxidant activity of phenolic compounds in 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)-induced oxidation: Synergistic and antagonistic effects. *The journal of the American Oil Chemists' Society*, Band 80,10, 2003, pp: 1007 - 1012
107. Pedrielli P, Skibsted LH., Antioxidant synergy and regeneration effect of quercetin, (-)-epicatechin, and (+)-catechin on  $\alpha$ -tocopherol in homogeneous solutions of peroxidating methyl linoleate., *J Agric Food Chem.*, 50(24), 2002, 7138-7144.
108. Becker,E.M., Ntouma,G., Skibsted,L.H., Synergism and antagonism between quercetin and other chain-breaking antioxidants in lipid systems of increasing structural organization, *Food Chemistry* 103, 2007, 1288–1296
109. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., & Pridham, J. B., The relative antioxidant activities of plant- derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, 22(4), 1995, 375–383.



110. Baniias, C., Oreopoulou, V., & Thomopoulos, C. D., The Effect of primary antioxidants and synergists on the activity of plant-extracts in lard. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 69(6), 1992, 520–524
111. K. M. Schaich. *Lipid Oxidation : Theoretical Aspects*. Rutgers University, New Brunswick, New Jersey 2005
112. Love, J., Factors effecting lipid oxidation-metal catalysts and chelators. *AOCS*, Chapter 3, 1985, pp. 61–78
113. G. Le Nest, O. Caille, M. Woudstra, S. Roche, F. Guerlesquin, D. Lexa. Zn–polyphenol chelation: complexes with quercetin,(+)-catechin, and derivatives: I optical and NMR studies, *Inorganica Chimica Acta* 357, 2004, 775–784
114. Bors, W.; Heller, W.; Michel, C.; Saran, M. Flavonoids as antioxidants: determination of radical scavenging efficiencies. *Methods Enzymol.* 186, 1990, 343-355
115. I. Morel, P. Cillard, J. Cillard, Flanonoid-metal interactions in biological systems in: C. Rice-Evans, L. Packer (Eds.), *Flavonoids in Health and Disease*, Vol.1, New York, Marcel Dekker, 1998, pp. 163–177.
116. M. Tereza Fernandez, M. Lurdes Mira, M. Helena Florencio , Keith R. Jennings. Iron and copper chelation by flavonoids: an electrospray mass spectrometry study. *Journal of Inorganic Biochemistry* 92, 2002, 105–111
117. Simić,A., Manojlović,D., Šegan,D., and Todorović,M., Electrochemical Behavior and Antioxidant and Prooxidant Activity of Natural Phenolics, *Molecules* 12, 2007, 2327-2340
118. De Whalley, C. V., Rankin, S. M., Hoult, J. R., Jessup, W. and Leake, D. S. *Biochem. Pharmacol.* 39, 1990, 1743-1750
119. Bors, W., Heller, W., Michel, C., & Saran, M., Flavonoids as antioxidants – determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods in Enzymology*, 186, 1990, 343–355.
120. L. Mira, M. T. Fernandez, M. Santos, R. Rocha, M. H. Florenico, K. R. Jennings, Interactions of flavonoids with iron and copper ions: a mechanism for their antioxidant activity, *Free Rad. Res.* 36, 2002, 1199

121. M. E. Bodini, G. Copia, R. Tapia, F. Leighton, L. Herrera, Iron complexes of quercetin in aprotic medium. Redox chemistry and interaction with superoxide anion radical, *Polyhedron*, 18, 1999, 2233-2239
122. H.P. Hendrickson, A.D. Kaufman, C.E. Lunte, J., Electrochemistry of catechol-containing flavonoids, *Pharmacol.Biomed. Anal.*, 12(3), 1994, 325-334
123. S.V. Jovanovic, M. Steenken, Y. Hara, M.G. Simic, Reduction potentials of flavonoid and model phenoxyl radicals. Which ring in flavonoids is responsible for antioxidant activity?, *J. Chem.Soc., Perkin Trans. 2*, 1996, 2497-2504
124. L.V. Jorgensen, C. Cornett, U. Justesen, L.H. Skibsted, L.O.Dragsted, Two-electron electrochemical oxidation of quercetin and kaempferol changes only the flavonoid C-ring., *Free Rad. Res.* 29(4), 1999, 339-350
125. Leopoldini, M., Russo, N., Chiodo, S., Toscano, M., Iron Chelation by the Powerful Antioxidant Flavonoid Quercetin, *J. Agric. Food Chem.*, 54, 2006, 6343–6351
126. I. Esparza, Í. Salinas, C. Santamaria, J.M. Garcia-Mina, J.M. Fernández. Electrochemical and theoretical complexation studies for Zn and Cu with individual polyphenols. *Analytica Chimica Acta* 543 (2005) 267–274
127. Xiaoying Chen and Dong U. Ahn, Antioxidant Activities of Six Natural Phenolics Against Lipid Oxidation Induced by Fe<sup>2+</sup> or Ultraviolet Light, *JAOCS* 75, 1998, 1717–1721
128. J. Brown, H. Khodr, R. Hider, C. Rice-Evans, Structural dependence of flavonoid interactions with Cu<sup>2+</sup> ions: implications for their antioxidant properties, *Biochem. J.* 330, 1998, 1173–1178.
129. Y. Bai, F. Song, M. Chen, J. Xing, Z. Liu, S. Liu, Characterization of the rutin-metal complex by electrospray ionization tandem mass spectrometry, *Anal. Sci.* 20(8), 2004, 1147-1151
130. L. Mira, M.T. Fernández, M. Santos, R. Rocha, M.H. Florencio, K.R. Jennings, Interactions of flavonoids with iron and copper ions: a mechanism for their antioxidant activity, *Free Rad. Res.* 36 (11), 2002, 1199-1208

131. M.T. Fernández, L. Mira, H. Florencio, Iron and copper chelation by flavonoids: an electrospray mass spectrometry study, *J. Inorg. Biochem.* 92(2), 2002, 105-111
132. Brown, J.E., Khord, H., Hider, R.C., and Rice-Evans, C.A., Structural dependence of flavonoid interactions with Cu<sup>2+</sup> ions: implications for their antioxidant properties, *Biochem. J.* 330, 1998, 1173-1178
133. G. Le Nest, O. Caille, M. Woudstra, S. Roche, B. Burlat, V. Belle, B. Guigliarelli, D. Lexa, Zn-polyphenol chelation: complexes with quercetin, (+)-catechin, and derivatives: II Electrochemical and EPR studies, *Inorganica Chimica Acta* 357 (2004) 2027–2037
134. Jitka Psotová, Jan Lasovský, Jaroslav Vičar, Metal-chelating properties, electrochemical behavior, Scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolics, *Biomed. Papers* 147(2), 2003, 147–153
135. Liu, X., Dong, M., Chen, X., Jiang, M., Lv, X., & Yan, G., Antioxidant activity and phenolics of an endophytic *Xylaria* sp. from *Ginkgo biloba*. *Food Chemistry*, 105, 2007, 548–554.
136. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. , Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologic*, 28, 1995, 25–30.
137. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 1996, 933–956.
138. Dorman, H. J. D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., & Tikkanen, M. J. , Characterisation of the antioxidant properties of deodourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, 83, 2003, 255–262.
139. Jensen, C., Birk, E., Jokumsen, A., Skibsted, L. H., & Bertelsen, G., Effect of dietary levels of fat,  $\alpha$ -tocopherol and astaxanthin on colour and lipid oxidation during storage of frozen rainbow trout (*Orcorhynchus mykiss*) and during chill storage of smoked trout. *Zeitschrift der Lebensmittel Untersuchung und Forschung A*, 207, 1998, 189–196.

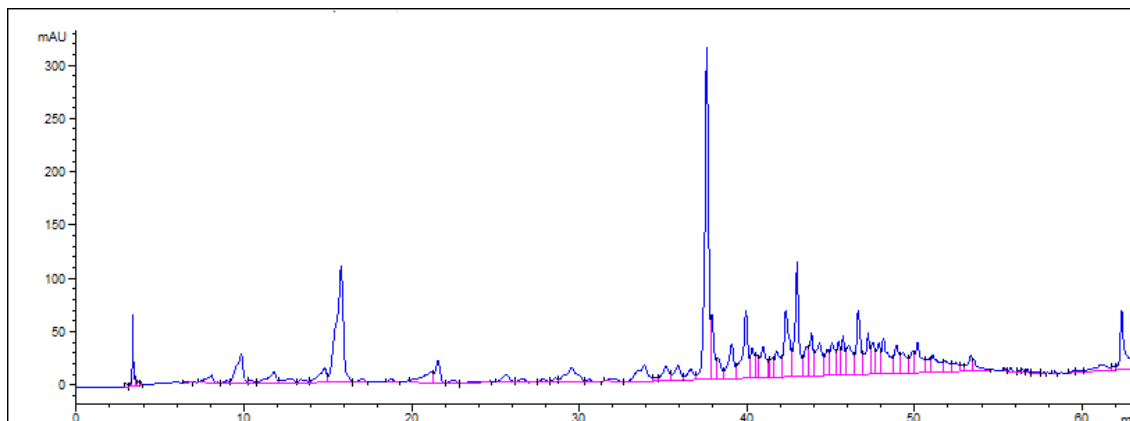
140. Kazuo Mukai, Shuji Mitani, Keishi Ohara, Shin-Ichi Nagaoka, Structure–activity relationship of the tocopherol-regeneration reaction by catechins, *Free Radical Biology & Medicine* 38 (2005) 1243–1256
141. Jessup, W.; Rankin, S. M.; De Walley, C. V.; Hoult, J. R. S.; Scott, J. Leake, D. S.  $\alpha$ -Tocopherol consumption during low-density-lipoprotein oxidation. *Biochem. J.* 265, 1990, 399–405
142. De Whalley, C. V.; Rankin, S. M.; Hoult, R. S.; Jessup, W.; Leake, D. S. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. *Biochem. Pharmacol.* 39, 1990, 1743–1750
143. Negre-Salvayre, A.; Alfany, A.; Hariton, C.; Salvayre, R. Additional antilipoperoxidant activities of  $\alpha$ -tocopherol and ascorbic acid on membrane-like systems are potentiated by rutin. *Pharmacology* 42, 1991, 262
144. Terao, J.; Piskula, M.; Yao, Q. Protective effect of epicatechin, epicatechin gallate, and quercetin on lipid peroxidation in phospholipid bilayers. *Arch. Biochem. Biophys.* 308, 1994, 278–284
145. Laranjinha J, Vieira O, Madeira V, Almeida L, Two related phenolic antioxidants with opposite effects on vitamin E content in low density lipoproteins oxidized by ferrylmyoglobin: consumption vs regeneration., *Arch Biochem Biophys.* Nov 10, 323(2), 1995, 373-381.
146. Myller S. Carvalho, Márcio A. Mendonça, David M. M. Pinho, Inês S. Resck, Paulo A. Z. Suarez, Chromatographic analyses of fatty acid methyl esters by HPLC-UV and GC-FID, *J. Braz. Chem. Soc.*, 23(4), Apr. 2012, 763-769
147. Jasmina M. Dimitric Markovic, Zoran S. Markovic, Tanja P. Brdaric, Vesna M. Pavelkic, Milka B. Jadranin, Iron complexes of dietary flavonoids: Combined spectroscopic and mechanistic study of their free radical scavenging activity, *Food Chemistry* 129, 2011, 1567–1577.
148. Naciye Erkan, Guler Ayranci, Erol Ayranci, Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnolic acid, rosmarinic acid and sesamol, *Food Chemistry* 110, 2008, 76–82

149. Gramza, A., Khokhar, S., Yoko, S., Gliszczyska-Swiglo, A., Hes, M., & Korczak, J., Antioxidant activity of tea extracts in lipids and correlation with polyphenol content. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108, 2006, 351–362.
150. Roginsky, V.; Lissi, E.A., Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food *Food Chemistry*, Volume 92, Issue 2, September 2005, Pages 235-254
151. Farooq Anwar, Kazi, T.G., Saleem, R., Bhangar, M.I., Rapid determination of some trace metals in several oils and fats, *Grasas y Aceites*, Vol.55.Fasc.2, 2004, 160-168
152. Pehlivan, E., Arsian, G., Gode, F., Altun, T., Ozcan, M.M., Determination of some inorganic metals in edible vegetable oils by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES), *Grasas y Aceites*, 59(3), 2008, 239-244
153. Tsimogiannis, D.I., The contribution of flavonoid C-ring on the DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3V,4V-hydroxy substituted members, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7, 2006, 140 – 146

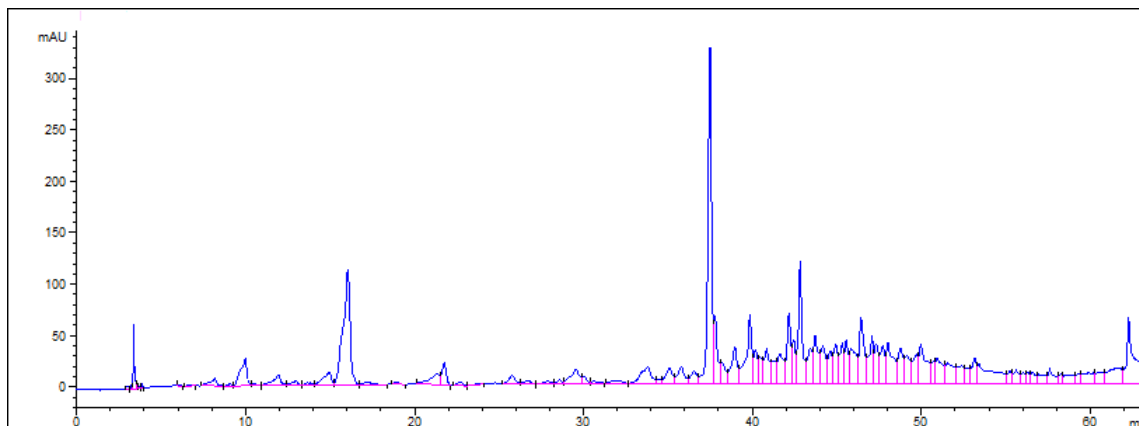
## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

### ΑΝΑΚΤΗΣΗ ΡΟΣΜΑΡΙΝΙΚΟΥ ΟΞΕΩΣ

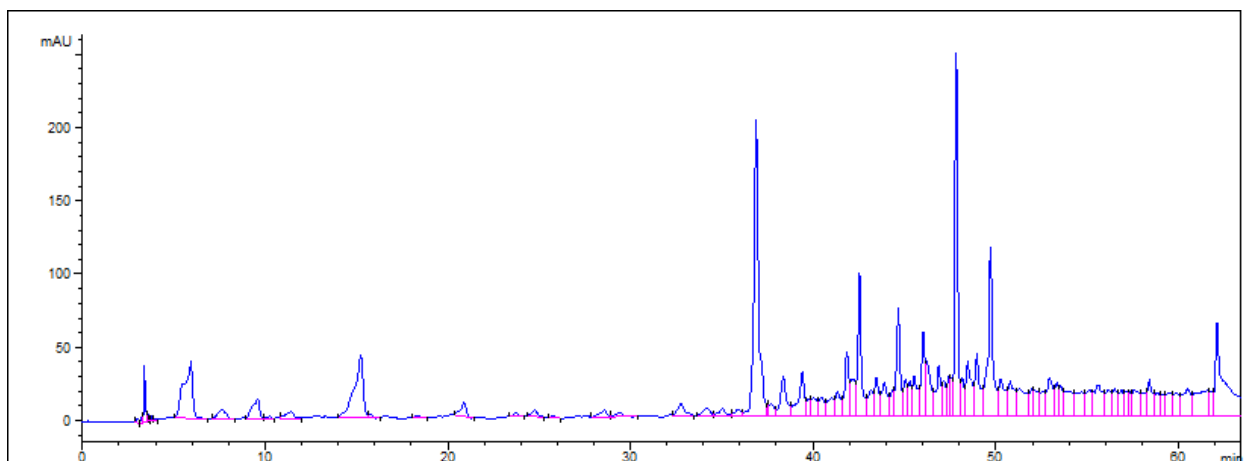
Παρακάτω παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα που προέκυψαν από την ανάλυση των διαφόρων εκχυλισμάτων και κλασμάτων κατά τη διαδικασία ανάκτησης του ροσμαρινικού οξέως, με τη βοήθεια της Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης (HPLC):



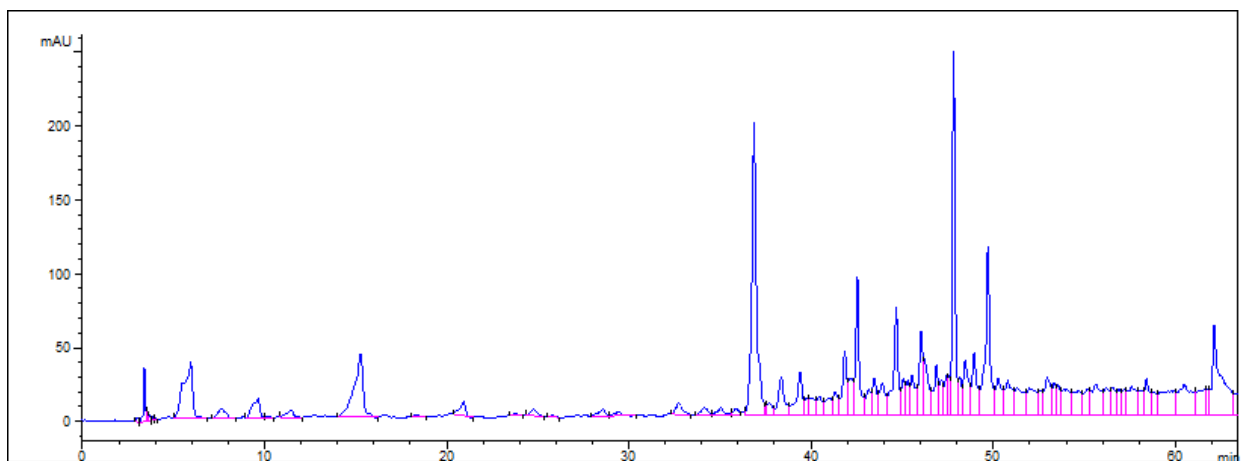
Σχήμα 8.2: Εκχύλισμα F3 (πρώτη μέτρηση)



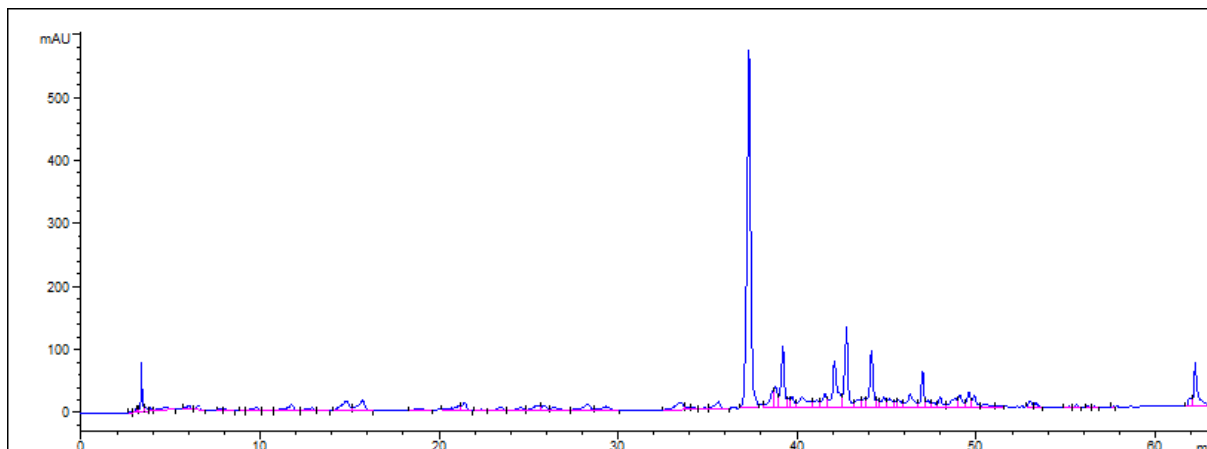
Σχήμα 8.3: Εκχύλισμα F3 (β μέτρηση)



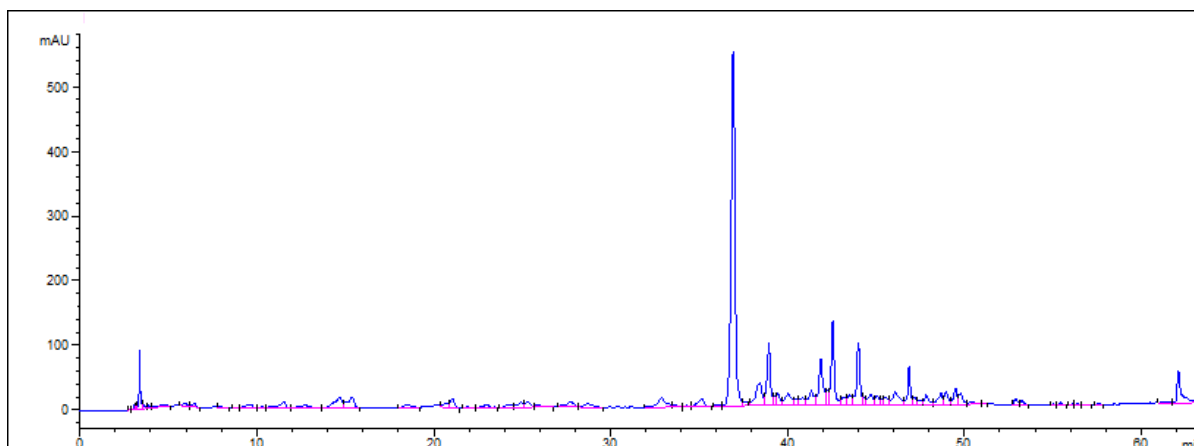
Σχήμα 8.4: Εκχύλισμα T1 (α μέτρηση)



Σχήμα 8.5: Εκχύλισμα T1 (β μέτρηση)

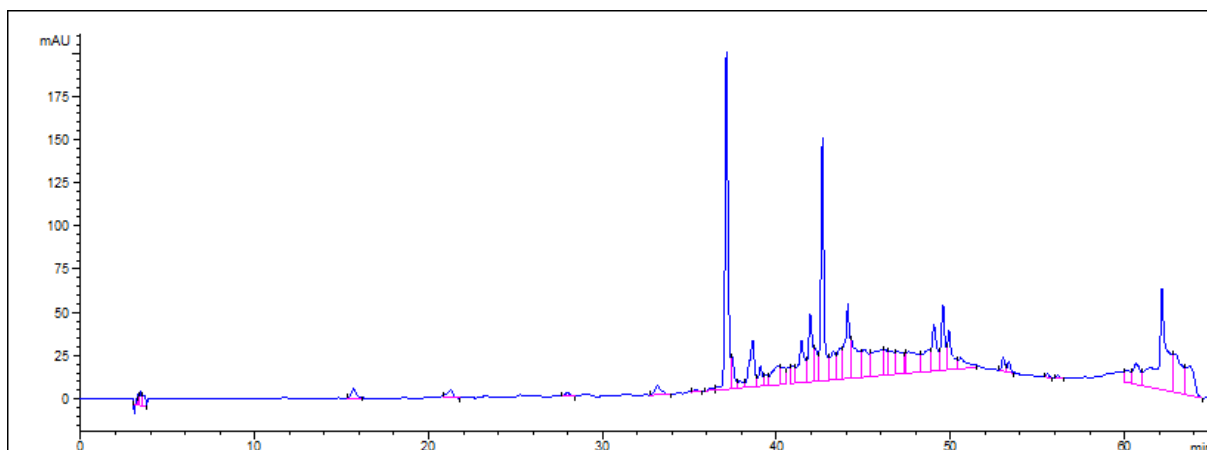


Σχήμα 8.6: Εκχύλισμα Γ1 (α μέτρηση)

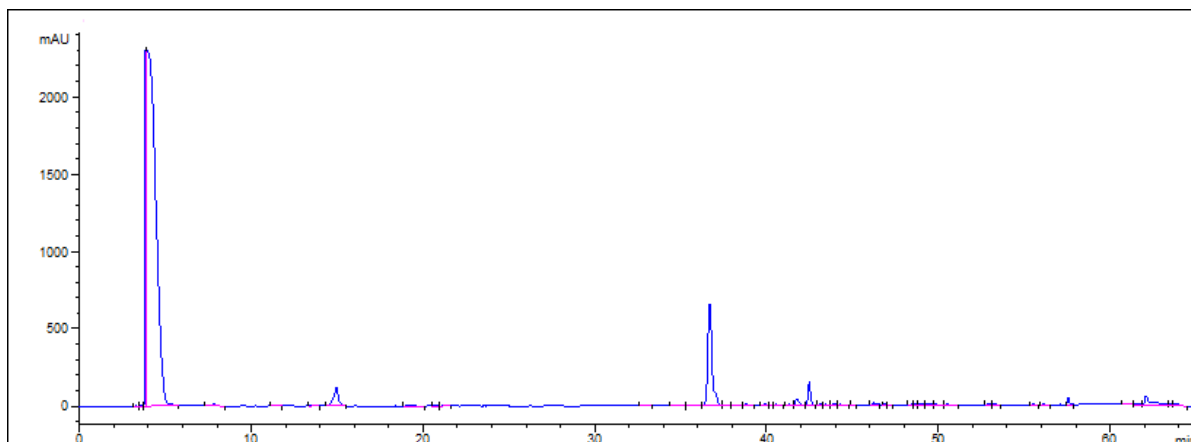


Σχήμα 8.7: Εκχύλισμα Γ1 (β μέτρηση)

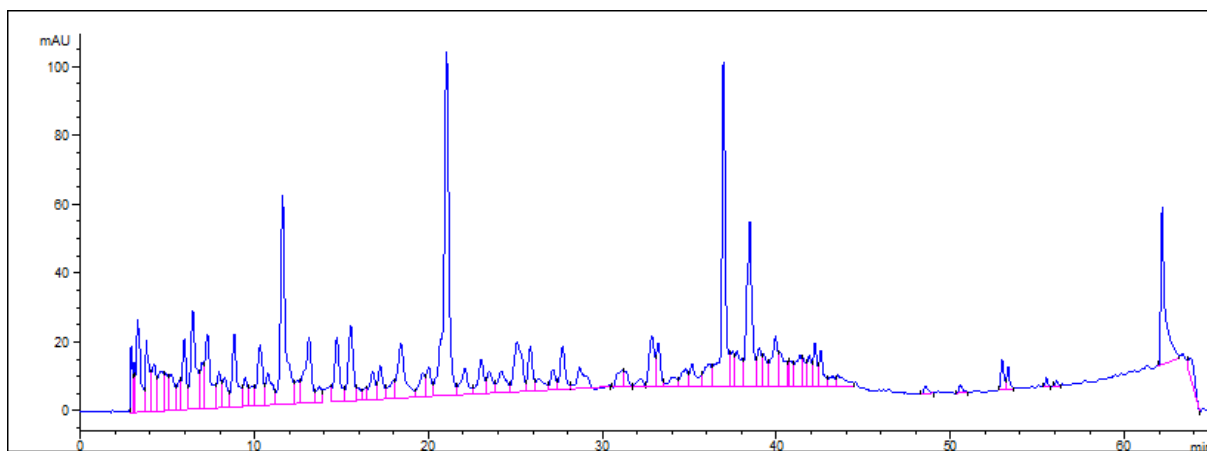




Σχήμα 8.8: Κηρώδες κλάσμα



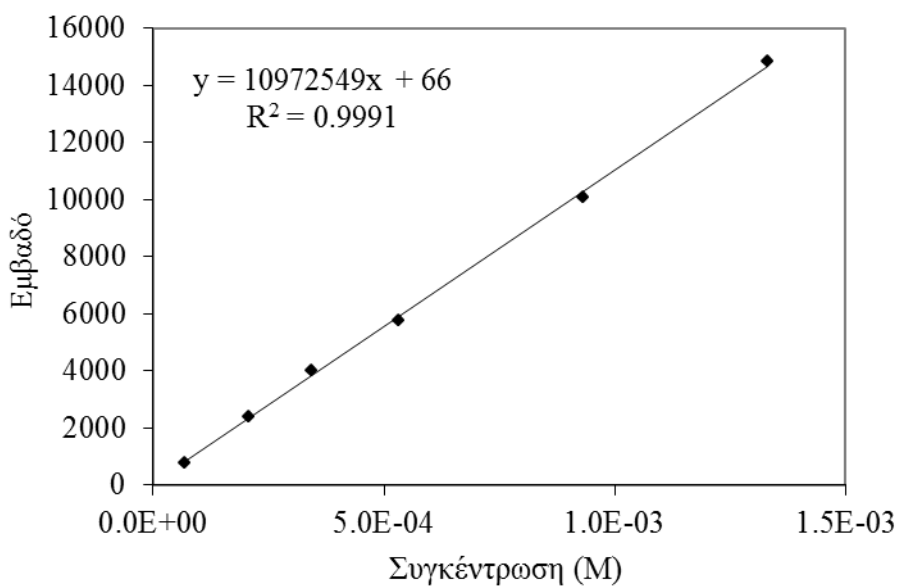
Σχήμα 8.9: Αιθερικό κλάσμα



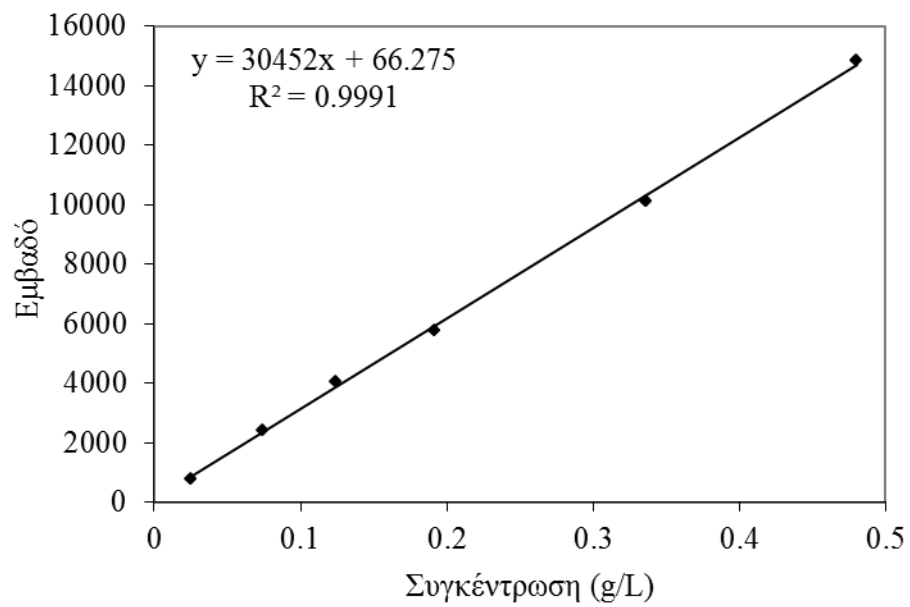
Σχήμα 8.10: Υδατικό κλάσμα

## ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΡΟΣΜΑΡΙΝΙΚΟΥ ΟΞΕΩΣ

Οι καμπύλες αναφοράς του ροσμαρινικού οξέως, σύμφωνα με τις οποίες έγιναν οι μετρήσεις του ποσοστού ανάκτησης, παρουσιάζονται παρακάτω:



Διάγραμμα 8.1: καμπύλη αναφοράς ροσμαρινικού οξέως ως προς τη συγκέντρωση (M)



Διάγραμμα 8.2: καμπύλη αναφοράς ροσμαρινικού οξέως εκφρασμένη ως προς τη συγκέντρωση (g/L)

## ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΕΛΑΙΩΝ

Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται αναλυτικά οι μετρήσεις των αριθμών των υπεροξειδίων που έγιναν κατά τη διάρκεια οξείδωσης των 5 διαφορετικών ελαίων.

## ΑΡΑΒΟΣΙΤΕΛΑΙΟ

Μετρήσεις τυφλού (χωρίς προσθήκη αντιοξειδωτικού)

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPV <sub>i</sub> -InPV <sub>o</sub>
0.00	0.01	4.0135	4.0011	0.4	0.4	1.0		1.0		<b>0.00</b>
1.92	0.01									
5.95	0.01	1.0016	1.0115	0.6	0.6	6.0	5.9	6.0	0.041	<b>1.79</b>
8.92	0.01	1.0016	1.0328	1.7	1.9	17.0	18.4	17.7	1.007	<b>2.88</b>
11.94	0.01	1.0017	1.0347	3.3	3.3	32.9	31.9	32.4	0.743	<b>3.48</b>
15.90	0.01	1.019	1.026	6.6	6.8	64.8	66.3	65.5	1.066	<b>4.19</b>
19.25	0.025	1.0149	1.0285	2.8	2.9	69.0	70.5	69.7	1.074	<b>4.25</b>
23.29	0.025	1.0321	1.0251	3.7	3.8	89.6	92.7	91.1	2.157	<b>4.52</b>
29.00	0.025	1.0009	1.0097	4.9	5.1	122.4	126.3	124.3	2.747	<b>4.83</b>

Πίνακας 8.6: Αριθμός υπεροξειδίων κατά την οξείδωση του αραβοσιτελαίου (τυφλό)

Μετρήσεις αραβοσιτελαίου εμπλουτισμένου με κατεχίνη

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPV <sub>i</sub> -InPV <sub>o</sub>
0.00	0.01	4.0135	4.0011	0.4	0.4	1.0		1.0		<b>0.00</b>
1.92	0.01	0.01				0.0				
5.95	0.01	1.021	1.0133	0.5	0.4	4.9	3.9	4.4	0.672	<b>1.49</b>
8.92	0.01	1.0184	1.0091	0.8	0.8	7.9	7.9	7.9	0.051	<b>2.07</b>
11.94	0.01	1.0087	1.0019	1.4	1.2	13.9	12.0	12.9	1.345	<b>2.56</b>
15.90	0.01	1.02	1.015	2.8	2.4	27.5	23.6	25.5	2.691	<b>3.24</b>
19.25	0.025	1.016	1.0197	1.3	1.2	32.0	29.4	30.7	1.816	<b>3.43</b>
23.29	0.025	1.0044	1.0627	2.2	2	54.8	47.0	50.9	5.451	<b>3.93</b>
29.00	0.025	1.0215	1.0328	3.2	3.3	78.3	79.9	79.1	1.106	<b>4.37</b>

Πίνακας 8.7: Αριθμός υπεροξειδίων κατά τη διάρκεια οξείδωσης αραβοσιτελαίου με προσθήκη κατεχίνης

Μετρήσεις αραβοσιτέλαιου εμπλουτισμένου με κερκετίνη

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPVi-InPVo
0.00	0.01	4.0135	4.0011	0.4	0.4	1.0		1.0		<b>0.00</b>
1.92	0.01									
5.95	0.01	1.0174	1.0108	0.6	0.5	5.9	4.9	5.4	0.672	<b>1.69</b>
8.92	0.01	1.0299	1.0058	0.9	1	8.7	9.9	9.3	0.851	<b>2.24</b>
11.94	0.01	1.016	1.015	2.2	2	21.7	19.7	20.7	1.378	<b>3.03</b>
15.90	0.01	1.0226	1.0227	4.7	4.3	46.0	42.0	44.0	2.769	<b>3.79</b>
19.25	0.025	1.0067	1.0206	2.1	2	52.2	49.0	50.6	2.234	<b>3.93</b>
23.29	0.025	1.0202	1.0196	3.1	2.9	76.0	71.1	73.5	3.436	<b>4.30</b>
29.00	0.025	1.029	0.998	4.4	3.9	106.8999	97.695391	102.29765	6.509	4.63

Πίνακας 8.8: Αριθμός υπεροξειδίων κατά τη διάρκεια οξείδωσης αραβοσιτελαίου με προσθήκη κερκετίνης

Μετρήσεις αραβοσιτελαίου εμπλουτισμένου με ροσμαρινικό οξύ

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPVi-InPVo
0.00	0.01	4.0135	4.0011	0.4	0.4	1.0		1.0		<b>0.00</b>
1.92	0.01									
5.95	0.01	1.0277	1.018	0.6	0.5	5.8	4.9	5.4	0.655	<b>1.69</b>
8.92	0.01	1.0232	1.0151	0.9	0.9	8.8	8.9	8.8	0.050	<b>2.18</b>
11.94	0.01	1.0004	1.0153	1.5	1.5	15.0	14.8	14.9	0.156	<b>2.70</b>
15.90	0.01	1.0134	1.0004	3	2.5	29.6	25.0	27.3	3.262	<b>3.31</b>
19.25	0.025	1.0191	1.0274	1.3	1.2	31.9	29.2	30.5	1.903	<b>3.42</b>
23.29	0.025	1.0277	1.0174	2	1.7	48.7	41.8	45.2	4.864	<b>3.81</b>
29.00	0.025	1.0235	1.0099	3.1	2.7	75.7	66.8	71.3	6.281	<b>4.27</b>

Πίνακας 8.9: Αριθμός υπεροξειδίων κατά τη διάρκεια οξείδωσης αραβοσιτελαίου με προσθήκη ροσμαρινικού οξέως

## ΗΛΙΕΛΑΙΟ

### Μετρήσεις τυφλού (χωρίς προσθήκη αντιοξειδωτικού)

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPVi-InPVo
<b>0</b>	0.01	4.0107		0.9		2.2		2.2		<b>0.00</b>
1.96	0.01	1.0019	1.004	1.1	1.1	11.0	11.0	11.0	0.016	<b>1.59</b>
3.98	0.01	1.0234	1.0309	2.1	2.3	20.5	22.3	21.4	1.266	<b>2.26</b>
9.98	0.01	1.0145	1.0325	6.4	6.4	63.1	62.0	62.5	0.778	<b>3.33</b>
13.82	0.01	1.0068	1.016	9	9.4	89.4	92.5	91.0	2.212	<b>3.70</b>
20.91	0.025	1.0357	1.0372	5.9	6.2	142.4	149.4	145.9	4.967	<b>4.17</b>

Πίνακας 8.10: Αριθμός υπεροξειδίων κατά την οξείδωση του ηλιέλαιου (τυφλό)

### Μετρήσεις ηλιέλαιου εμπλουτισμένου με κατεχίνη

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPVi-InPVo
<b>0</b>	0.01	4.0107		0.9		2.2		2.2		<b>0.00</b>
1.96	0.01	1.0275	1.0084	1.1	0.9	10.7	8.9	9.8	1.259	<b>1.48</b>
3.98	0.01	1.017	1.0193	2	2	19.7	19.6	19.6	0.031	<b>2.17</b>
9.98	0.01	1.037	1.0016	5.7	5.7	55.0	56.9	55.9	1.374	<b>3.22</b>
13.82	0.01	1.02	1.0088	8.4	8.35	82.4	82.8	82.6	0.296	<b>3.61</b>
20.91	0.025	1.0112	1.034	5.3	5.4	131.0	130.6	130.8	0.333	<b>4.07</b>

Πίνακας 8.11: Αριθμός υπεροξειδίων κατά την οξείδωση ηλιέλαιου με προσθήκη κατεχίνης

Μετρήσεις ηλιέλαιου εμπλουτισμένου με κερκετίνη

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPVi-InPVo
<b>0</b>	0.01	4.0107		0.9		2.2		2.2		<b>0.00</b>
1.96	0.01	1.0388	1.0069	1.1	1	10.6	9.9	10.3	0.465	<b>1.52</b>
3.98	0.01	1.0047	1.0142	2.2	2.2	21.9	21.7	21.8	0.145	<b>2.27</b>
9.98	0.01	1.0064	1.0508	5.6	5.6	55.6	53.3	54.5	1.663	<b>3.19</b>
13.82	0.01	1.0077	1.0021	7.9	8.25	78.4	82.3	80.4	2.779	<b>3.58</b>
	0.01									
20.91	0.025	1.0084	1.0316	4.8	5.1	119.0	123.6	121.3	3.248	<b>3.99</b>
	0.01									

Πίνακας 8.12: Αριθμός υπεροξειδίων κατά την οξείδωση ηλιέλαιου με προσθήκη κερκετίνης

Μετρήσεις ηλιέλαιου εμπλουτισμένου με ροσμαρινικό οξύ

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPVi-InPVo
<b>0</b>	0.01	4.0107		0.9		2.2		2.2		<b>0.00</b>
1.96	0.01	1.0048	1.0041	0.58	0.8	5.8	8.0	6.9	1.552	<b>1.12</b>
3.98	0.01	1.0112	1.0027	1.6	1.7	15.8	17.0	16.4	0.800	<b>1.99</b>
9.98	0.01	1.0456	1.0077	5.7	5.4	54.5	53.6	54.1	0.655	<b>3.18</b>
13.82	0.01	1.0195	1.0017	8.3	8.2	81.4	81.9	81.6	0.317	<b>3.59</b>
	0.01									
20.91	0.025	0.9402	1.0234	5.1	5.4	135.6	131.9	133.8	2.614	<b>4.09</b>
	0.01									

Πίνακας 8.13: Αριθμός υπεροξειδίων κατά την οξείδωση ηλιέλαιου με προσθήκη ροσμαρινικού οξέως

## ΣΟΓΙΕΛΑΙΟ

### Μετρήσεις τυφλού (χωρίς προσθήκη αντιοξειδωτικού)

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPVi-InPVo
0	0.01	4.0146		0.8		2.0		2.0		0.00
3.98	0.01	1.024	1.088	0.3	0.4	2.9	3.7	3.3	0.528	0.51
6.98	0.01	1.0336	1.0036	2	1.8	19.3	17.9	18.6	1.000	2.24
9.88	0.01	1.1286	0.9993	4.5	3.8	39.9	38.0	38.9	1.305	2.97
13.83	0.01	1.0055	1.0199	6.8	6.5	67.6	63.7	65.7	2.755	3.50
	0.01									
20.87	0.01	1.0016	1.0446	12.1	11.6	120.8	111.0	115.9	6.901	4.06

Πίνακας 8.14: Αριθμός υπεροξειδίων κατά την οξείδωση του σογιέλαιου (τυφλό)

### Μετρήσεις σογιέλαιου εμπλουτισμένου με κατεχίνη

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPVi-InPVo
0	0.01	4.0146		0.8		2.0		2.0		0.00
3.98	0.01	1.0131	1.088	0.4	0.3	3.9	2.8	3.4	0.842	0.52
6.98	0.01	1.0111	1.018	1.1	1.1	10.9	10.8	10.8	0.052	1.69
9.88	0.01	1.0678	0.9816	2.7	2.3	25.3	23.4	24.4	1.311	2.50
13.83	0.01	1.0238	1.0346	5	5.1	48.8	49.3	49.1	0.323	3.20
	0.01									
20.87	0.01	1.0073	1.0232	9.1	9.5	90.3	92.8	91.6	1.772	3.83

Πίνακας 8.15: Αριθμός υπεροξειδίων κατά την οξείδωση του σογιέλαιου με προσθήκη κατεχίνης

### Μετρήσεις σογιέλαιου εμπλουτισμένου με κερκετίνη

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPVi-InPVo
0	0.01	4.0146		0.8		2.0		2.0		0.00
3.98	0.01	1.0242	1.0037	0.4	0.4	3.9	4.0	3.9	0.056	0.68
6.98	0.01	0.9992	1.0197	1.9	1.8	19.0	17.7	18.3	0.964	2.22
9.88	0.01	1.0431	1.0209	3.8	4	36.4	39.2	37.8	1.945	2.94
13.83	0.01	1.0247	1.003	6.2	6.5	60.5	64.8	62.7	3.041	3.45
	0.01									
20.87	0.01	1.0168	1.1061	11	11.8	108.2	106.7	107.4	1.062	3.99

Πίνακας 8.16: Αριθμός υπεροξειδίων κατά την οξείδωση του σογιέλαιου με προσθήκη κερκετίνης



Μετρήσεις σογιέλαιου εμπλουτισμένου με ροσμαρινικό οξύ

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPVi-InPVo
0	0.01	4.0146		0.8		2.0		2.0		<b>0.00</b>
3.98	0.01	1.012	1.03587	0.4	0.4	4.0	3.9	3.9	0.064	<b>0.67</b>
6.98	0.01	1.0129	1.0192	1.2	1.2	11.8	11.8	11.8	0.052	<b>1.78</b>
9.88	0.01	1.0166	0.9866	2.4	2	23.6	20.3	21.9	2.359	<b>2.40</b>
13.83	0.01	1.047	1.0104	4.1	3.9	39.2	38.6	38.9	0.397	<b>2.97</b>
	0.01									
20.87	0.01	1.0522	0.9997	8.3	7.1	78.9	71.0	75.0	5.559	<b>3.63</b>

Πίνακας 8.17: Αριθμός υπεροξειδίων κατά την οξείδωση του σογιέλαιου με προσθήκη ροσμαρινικού οξέως

BAMBAKELAIIO

Μετρήσεις τυφλού (χωρίς προσθήκη αντιοξειδωτικού)

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPVi-InPVo
0	0.01	4.004	4.0007	0.4	0.5	1.0	1.2	1.1	0.177	<b>0.00</b>
1.920125	0.01	1.0142	1.0181	0.2	0.2	2.0	2.0	2.0	0.005	<b>0.56</b>
5.947917	0.01	1.0195	1.0275	1.8	1.9	17.7	18.5	18.1	0.591	<b>2.78</b>
8.920125	0.01	1.0182	1.0321	4	4.1	39.3	39.7	39.5	0.311	<b>3.56</b>
11.93749	0.01	1.0149	1.028	6.3	6.5	62.1	63.2	62.7	0.816	<b>4.02</b>
15.9	0.025	1.0192	1.028	3.1	3	76.0	73.0	74.5	2.180	<b>4.19</b>
19.25346	0.025	1.0113	1.0209	4	3.9	98.9	95.5	97.2	2.389	<b>4.46</b>
23.28818	0.025	1.0139	1.006	5	5	123.3	124.3	123.8	0.685	<b>4.70</b>
29.0104	0.025	1.0276	1.0334	6.6	6.5	160.6	157.2	158.9	2.348	<b>4.95</b>

Πίνακας 8.18: Αριθμός υπεροξειδίων κατά την οξείδωση του βαμβακέλαιου (τυφλό)

### Μετρήσεις βαμβακέλαιου εμπλουτισμένου με κατεχίνη

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPVi-InPVo
0	0.01	4.004	4.0007	0.4	0.5	1.0	1.2	1.1	0.177	<b>0.00</b>
1.92	0.01									
5.95	0.01	1.0035	1.0128	1.1	1	11.0	9.9	10.4	0.769	<b>2.23</b>
8.92	0.01	1.0207	1.0036	2.3	2	22.5	19.9	21.2	1.842	<b>2.94</b>
11.9374861	0.01	1.0125	1.0023	3.6	3.2	35.6	31.9	33.7	2.566	<b>3.40</b>
15.9	0.025	1.0074	1.0074	2.2	2	54.6	49.6	52.1	3.510	<b>3.84</b>
19.2541667	0.025	1.0036	1.0017	2.9	2.6	72.2	64.9	68.6	5.197	<b>4.11</b>
23.2888889	0.025	1.0316	1.0319	3.9	3.8	94.5	92.1	93.3	1.733	<b>4.42</b>

Πίνακας 8.19: Αριθμός υπεροξειδίων κατά την οξείδωση του βαμβακέλαιου με προσθήκη κατεχίνης

### Μετρήσεις βαμβακέλαιου εμπλουτισμένου με κερκετίνη

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPVi-InPVo
0	0.01	4.004	4.0007	0.4	0.5	1.0	1.2	1.1	0.177	<b>0.00</b>
1.920125	0.01									
5.947917	0.01	1.017	1.0117	1.5	1.3	14.7	12.8	13.8	1.343	<b>2.51</b>
8.920125	0.01	1.0199	1.0359	3	2.9	29.4	28.0	28.7	1.004	<b>3.24</b>
11.93749	0.01	1.024	1.0228	4.7	4.5	45.9	44.0	44.9	1.345	<b>3.69</b>
15.9	0.025	1.0077	1.0236	2.4	2.5	59.5	61.1	60.3	1.073	<b>3.98</b>
19.25346	0.025	1.0254	1.0224	3.3	3.3	80.5	80.7	80.6	0.167	<b>4.27</b>
23.28818	0.025	1.0029	1.0151	4.2	4.2	104.7	103.4	104.1	0.890	<b>4.53</b>

Πίνακας 8.20: Αριθμός υπεροξειδίων κατά την οξείδωση του βαμβακέλαιου με προσθήκη κερκετίνης

### Μετρήσεις βαμβακέλαιου εμπλουτισμένου με ροσμαρινικό οξύ

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPVi-InPVo
0	0.01	4.004	4.0007	0.4	0.5	1.0	1.2	1.1	0.177	<b>0.00</b>
1.920125	0.01									
5.947917	0.01	1.0179	1.0198	1	1	9.8	9.8	9.8	0.013	<b>2.17</b>
8.920125	0.01	1.0336	1.0063	2.1	1.7	20.3	16.9	18.6	2.421	<b>2.81</b>
11.93749	0.01	1.0061	1.0126	3	2.7	29.8	26.7	28.2	2.230	<b>3.22</b>
15.9	0.025	1.016	1.0134	1.8	1.6	44.3	39.5	41.9	3.408	<b>3.62</b>
19.25346	0.025	1.0285	1.0238	2.5	2.3	60.8	56.2	58.5	3.256	<b>3.95</b>
23.28818	0.025	1.0309	1.0297	3.5	3.2	84.9	77.7	81.3	5.080	<b>4.28</b>

Πίνακας 8.21: Αριθμός υπεροξειδίων κατά την οξείδωση του βαμβακέλαιου με προσθήκη ροσμαρινικού οξέως

## ΙΧΘΥΕΛΑΙΟ

### Μετρήσεις τυφλού (χωρίς προσθήκη αντιοξειδωτικού)

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPVi-InPVo
0	0.01	3.6894135		0.9		2.4		2.4		0.00
0.8	0.01	1.0893	1.0219	0.96	0.9	8.8	8.8	8.8	0.004	1.28
1.8	0.01	1.0001	1.0795	1.55	1.75	15.5	16.2	15.9	0.504	1.87
4.0	0.01	1.0263	1.0013	2.95	2.8	28.7	28.0	28.4	0.552	2.45
7.0	0.01	1.0318	1.0004	4.55	4.25	44.1	42.5	43.3	1.142	2.88
8.9	0.01	1.0774	1.0303	5.55	5.1	51.5	49.5	50.5	1.423	3.03
10.8	0.025	1.043	0.9878	2.4	2.2	57.5	55.7	56.6	1.306	3.14
13.9	0.025	1.0376	1.0082	2.75	2.5	66.3	62.0	64.1	3.017	3.27
21.7	0.025	1.1052	1.0396	3.4	3.05	76.9	73.3	75.1	2.520	3.43

Πίνακας 8.22: Αριθμός υπεροξειδίων κατά την οξείδωση του ιχθυελαίου (τυφλό)

### Μετρήσεις ιχθυελαίου εμπλουτισμένου με κατεχίνη

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPVi-InPVo
0	0.01	3.66663		0.85		2.3		2.3		
0.8	0.01	1.0409	0.9598	0.65	0.65	6.2	6.8	6.5	0.373	0.0
1.8	0.01	1.0184	1.0175	1.4	1.4	13.7	13.8	13.8	0.009	0.7
4.0	0.01	1.1105	0.9966	2.7	2.35	24.3	23.6	23.9	0.518	1.3
7.0	0.01	0.9928	1.0353	3.7	3.85	37.3	37.2	37.2	0.057	1.7
8.9	0.01	1.0261	1.0384	4.45	4.45	43.4	42.9	43.1	0.363	1.9
10.8	0.025	1.0225	1.0269	2	1.95	48.9	47.5	48.2	1.009	2.0
13.9	0.025	1.0214	1.0517	2.4	2.4	58.7	57.1	57.9	1.197	2.2
21.7	0.025	1.0208	1.01	2.75	2.7	67.3	66.8	67.1	0.366	2.3

Πίνακας 8.23: Αριθμός υπεροξειδίων κατά την οξείδωση του ιχθυελαίου με προσθήκη κατεχίνης

### Μετρήσεις ιχθυελαίου εμπλουτισμένου με κερκετίνη

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPV <sub>i</sub> -InPV <sub>o</sub>
<b>0.0</b>	0.01	3.6597687		0.9		2.5		2.5		<b>0.00</b>
0.8	0.01	1.0642	0.993	0.7	0.65	6.6	6.5	6.6	0.023	<b>0.98</b>
1.8	0.01	1.0293	1.0602	1.3	1.45	12.6	13.7	13.2	0.740	<b>1.68</b>
4.0	0.01	1.034	1.0208	2.3	2.4	22.2	23.5	22.9	0.896	<b>2.23</b>
7.0	0.01	1.0423	1.0225	3.5	3.6	33.6	35.2	34.4	1.151	<b>2.64</b>
8.9	0.01	1.087	1.0178	4.15	4.3	38.2	42.2	40.2	2.878	<b>2.79</b>
10.8	0.025	1.0355	0.9976	1.8	1.85	43.5	46.4	44.9	2.053	<b>2.90</b>
13.9	0.025	1.085	0.9994	2.1	2.15	48.4	53.8	51.1	3.815	<b>3.03</b>
21.7	0.025	1.0209	1.025	2.45	2.45	59.996082	59.8	59.9	0.170	3.19

Πίνακας 8.24: Αριθμός υπεροξειδίων κατά την οξείδωση του ιχθυελαίου με προσθήκη κερκετίνης

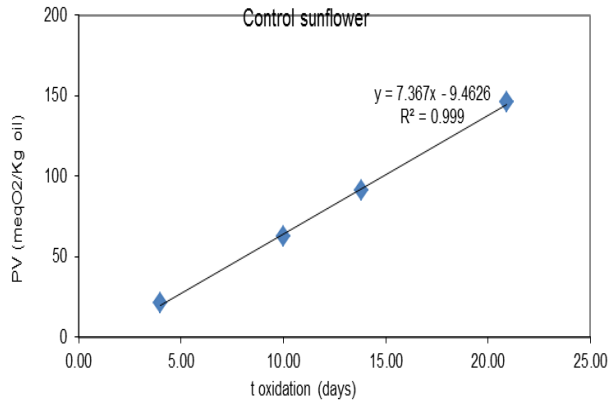
### Μετρήσεις ιχθυελαίου εμπλουτισμένου με ροσμαρινικό οξύ

t ox	N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	V <sub>2Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub>	PV <sub>1</sub>	PV <sub>2</sub>	Avarage PV	SD <sub>PV</sub>	InPV <sub>i</sub> -InPV <sub>o</sub>
<b>0</b>	0.01	3.62604		0.9		2.5 =		2.5		<b>0.01</b>
0.8	0.01	1.0088	1.0294	1.05	1.2	10.4	11.7	11.0	0.883	<b>1.50</b>
1.8	0.01	1.0112	1.0402	1.7	1.75	16.8	16.8	16.8	0.008	<b>1.92</b>
4.0	0.01	1.0431	0.9893	2.55	2.5	24.4	25.3	24.9	0.583	<b>2.31</b>
7.0	0.01	1.0307	1.0334	3.65	3.85	35.4	37.3	36.3	1.303	<b>2.69</b>
8.9	0.01	1.0048	1.0789	4.05	4.7	40.3	43.6	41.9	2.303	<b>2.84</b>
10.8	0.025	1.0089	1.046	1.75	1.95	43.4	46.6	45.0	2.292	<b>2.91</b>
13.9	0.025	1.0297	0.9986	2.15	2.15	52.2	53.8	53.0	1.150	<b>3.07</b>
21.7	0.025	1.0096	1.0614	2.4	2.55	59.429477	60.062182	59.74583	0.447	3.19

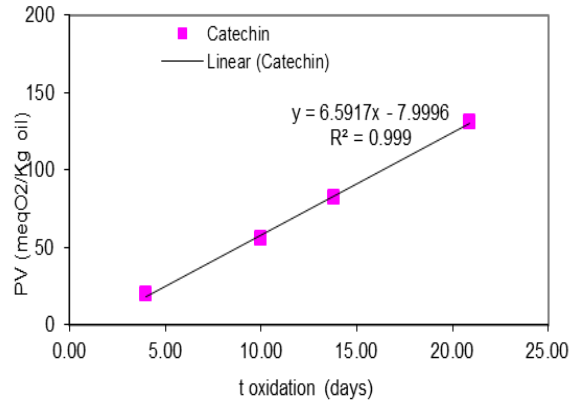
Πίνακας 8.25: Αριθμός υπεροξειδίων κατά την οξείδωση του ιχθυελαίου με προσθήκη ροσμαρινικού οξέως

## ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΡΥΘΜΩΝ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ

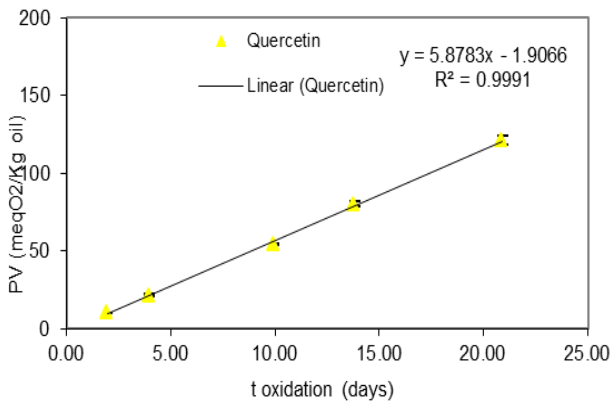
### ΗΛΙΕΛΑΙΟ



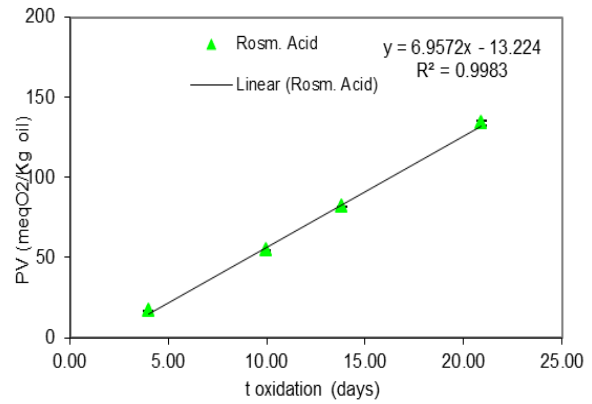
(α)



(β)



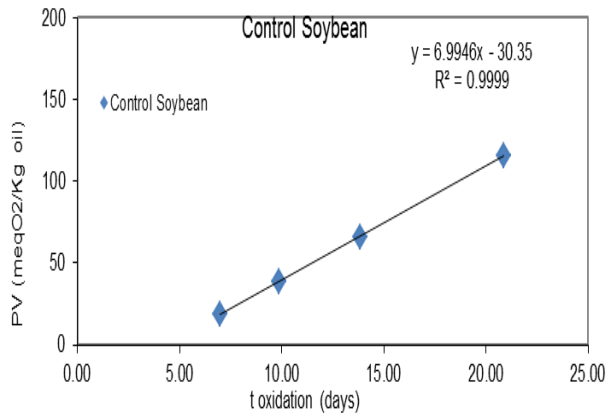
(γ)



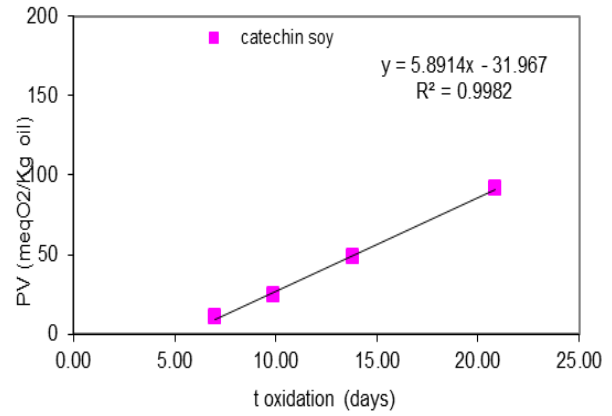
(δ)

Διάγραμμα 8.3: Οξείδωση ηλιελαίου χωρίς την προσθήκη αντιοξειδωτικού (α), με προσθήκη κατεχίνης (β), με προσθήκη κερκετίνης (γ) και με προσθήκη ροσμαρινικού οξέως (δ) που προσεγγίζεται με κινητική μηδενικής τάξης

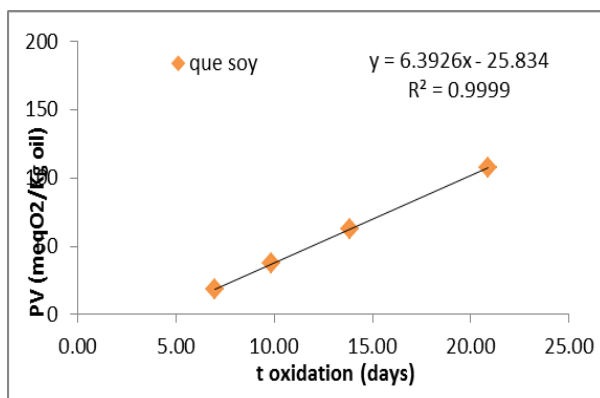
## ΣΟΓΙΕΛΑΙΟ



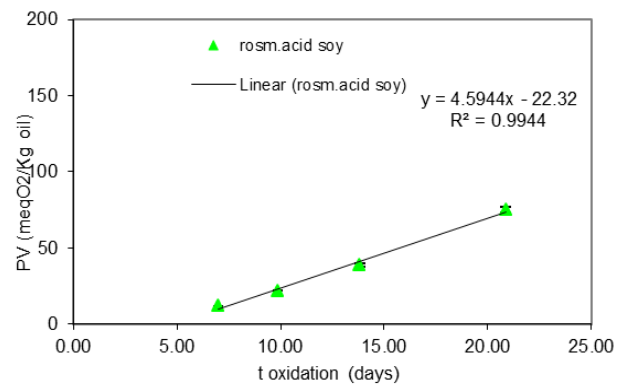
(α)



(β)



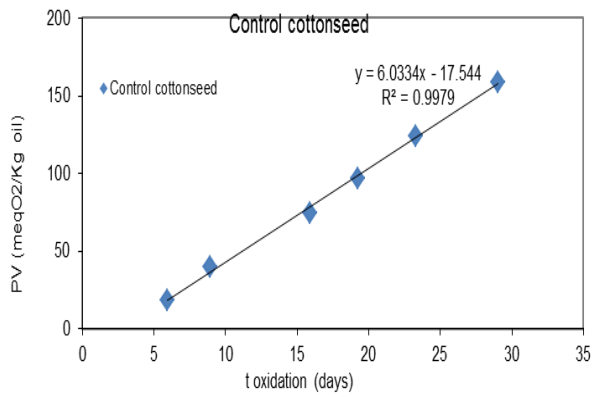
(γ)



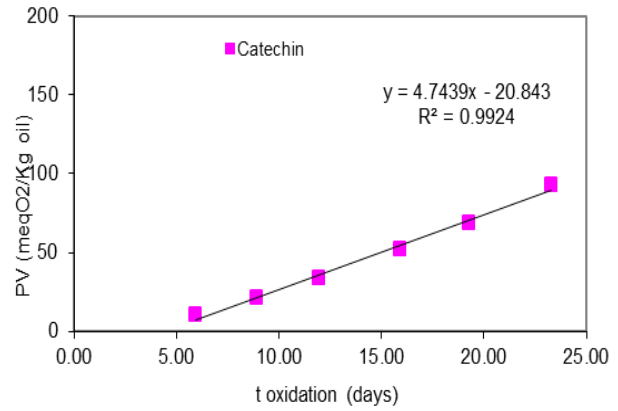
(δ)

Διάγραμμα 8.4: Οξείδωση σογιέλαιου χωρίς την προσθήκη αντιοξειδωτικού (α), με προσθήκη κατεχίνης (β), με προσθήκη κερκετίνης (γ) και με προσθήκη ροσμαρινικού οξέως (δ) που προσεγγίζεται με κινητική μηδενικής τάξης

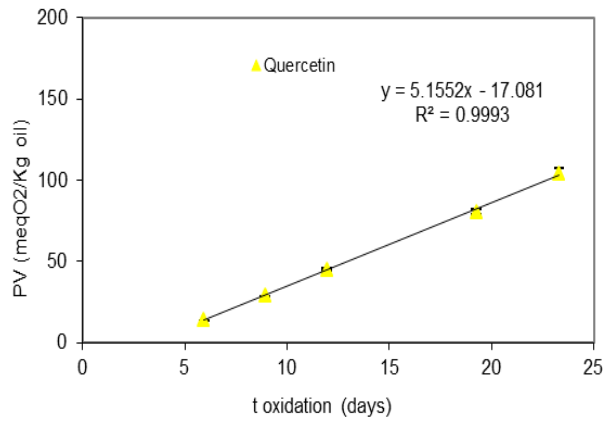
## BAMBAΚΕΛΑΙΟ



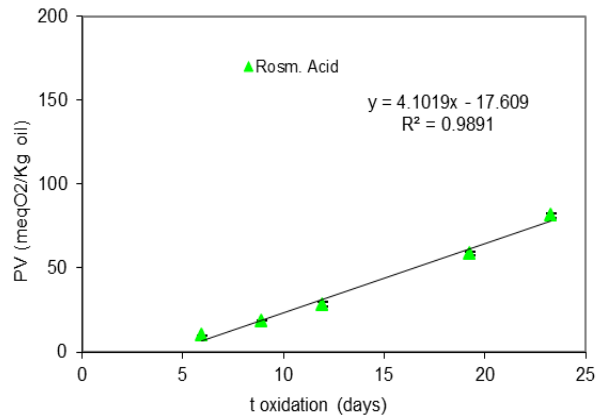
(α)



(β)



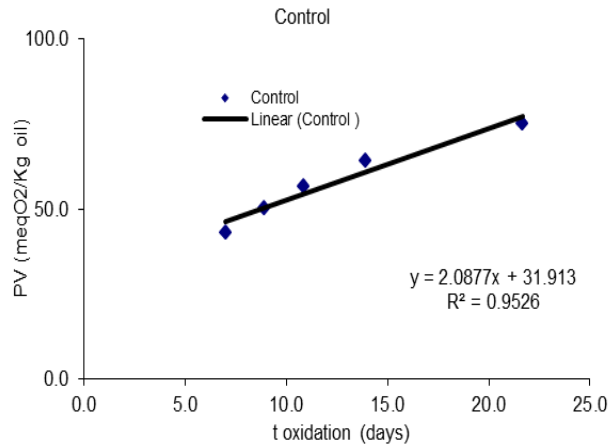
(γ)



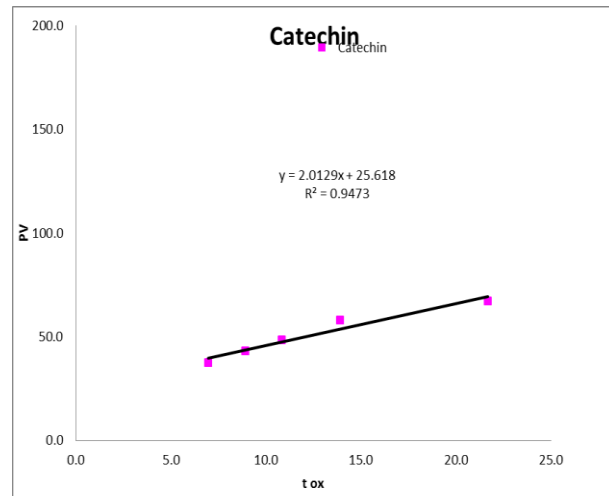
(δ)

Διάγραμμα 8.5: Οξείδωση βαμβακέλαιου χωρίς την προσθήκη αντιοξειδωτικού (α), με προσθήκη κατεχίνης (β), με προσθήκη κερκετίνης (γ) και με προσθήκη ροσμαρινικού οξέως (δ) που προσεγγίζεται με κινητική μηδενικής τάξης

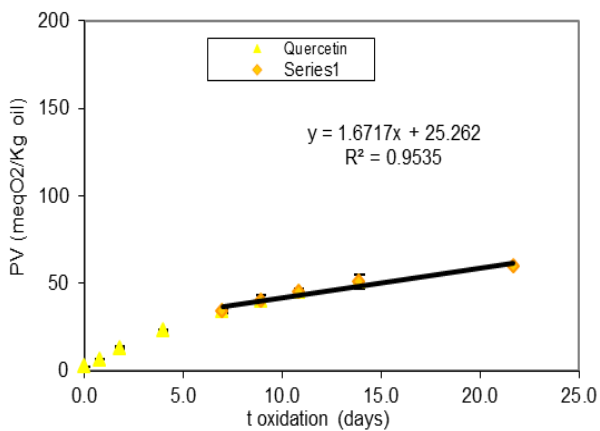
## ΙΧΘΥΕΛΑΙΟ



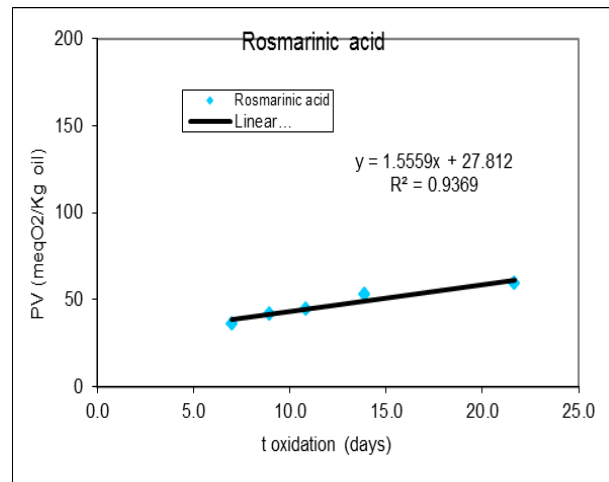
(α)



(β)



(γ)



(δ)

Διάγραμμα 8.6: Οξείδωση ιχθυελαίου χωρίς την προσθήκη αντιοξειδωτικού (α), με προσθήκη κατεχίνης (β), με προσθήκη κερκετίνης (γ) και με προσθήκη ροσμαρινικού οξέως (δ) που προσεγγίζεται με κινητική μηδενικής τάξης