



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

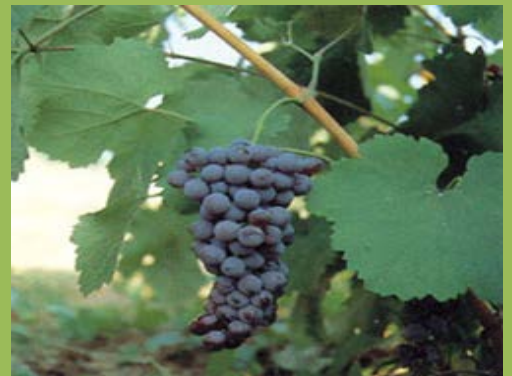
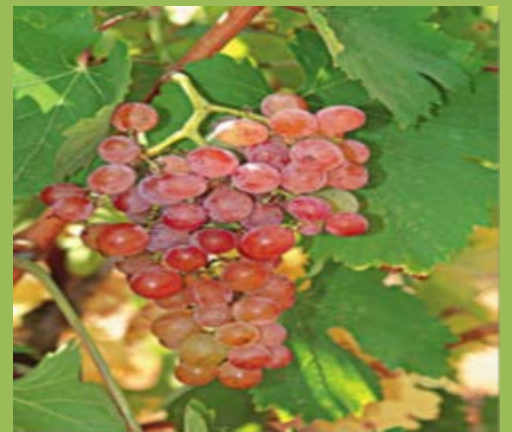
*Τομέας II: Ανάλυση, Σχεδιασμός &
Ανάπτυξη Διεργασιών και Συστημάτων*

Αξιοποίηση παραπροϊόντων οινοποιείου για την ανάκτηση βιοδραστικών ενώσεων με χρήση καινοτόμων μεθόδων εκχύλισης

Διπλωματική εργασία
ΔΡΟΣΟΥ ΧΡΙΣΤΙΝΑ

Επιβλέπουσα: Κροκίδα Μαγδαληνή
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΕΜΠ

Αθήνα, Μάρτιος 2015





ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Τομέας II: Ανάλυση, Σχεδιασμός &

Ανάπτυξη Διεργασιών και Συστημάτων

**Αξιοποίηση παραπροϊόντων οινοποιείου για την ανάκτηση
βιοδραστικών ενώσεων με χρήση καινοτόμων μεθόδων
εκχύλισης**

Διπλωματική εργασία
ΔΡΟΣΟΥ ΧΡΙΣΤΙΝΑ

Επιβλέπουσα: Κροκίδα Μαγδαληνή
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΕΜΠ

Τριμελής Επιτροπή:

Κροκίδα Μαγδαληνή, Αναπλ. Καθηγήτρια ΕΜΠ (Επιβλέπουσα)

Παππά Αθηνά, Αναπλ. Καθηγήτρια ΕΜΠ

Ζιώμας Ιωάννης, Καθηγητής ΕΜΠ

Αθήνα, Μάρτιος 2015

*Αφιερώνεται στους γονείς μου,
Γιώργο και Ζωή*

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εκπόνηση της διπλωματικής εργασίας «Αξιοποίηση παραπροϊόντων οινοποιείου για την ανάκτηση βιοδραστικών ενώσεων με χρήση καινοτόμων μεθόδων εκχύλισης» πραγματοποιήθηκε στα εργαστήρια Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών, Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων και Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Ο προσδιορισμός του φαινολικού φορτίου των εκχυλισμάτων πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Βιολογικών Ελέγχων, του τμήματος Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων στη Φαρμακευτική Σχολή Αθηνών.

Η ανάθεση του θέματος έγινε από την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μαγδαληνή Κροκίδα, ενώ στην τριμελή εξεταστική επιτροπή συμμετείχαν η Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα Αθηνά Παππά και ο Καθηγητής κος Ιωάννης Ζιώμας.

Με την ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη και τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου σε όσους με βοήθησαν και συνέβαλαν στην περάτωσή της.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την υπεύθυνη καθηγήτρια της εργασίας, κα Μαγδαληνή Κροκίδα, για την εμπιστοσύνη και τη συμπαράσταση που μου έδειξε, καθώς και για τις πολύτιμες γνώσεις και εμπειρίες που μου προσέφερε κατά την διάρκεια της διπλωματικής μου εργασίας. Επίσης ευχαριστώ την κα Παππά Α. και τον κο Ζιώμα Ι. για τις χρήσιμες συμβουλές τους.

Ακόμα θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την Υποψήφια Διδάκτορα κα Κωνσταντίνα Κυριακοπούλου (Εργαστήριο Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών) για τη διαρκή βοήθεια και υποστήριξή της καθώς και για τις γνώσεις που μου μετέδωσε. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Υποψήφιο Διδάκτορα κο Γιώργο Παπαευσταθίου για την βοήθεια που μου προσέφερε κατά την εκτέλεση των πειραμάτων στο εργαστήριο της Φαρμακευτικής Σχολής Αθηνών.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη των εργαστηρίων Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών, Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων και Οργανικής Χημείας για τη συμβολή τους στην εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου για την αμέριστη στήριξη και κατανόηση που μου έδειξαν κατά την διάρκεια των σπουδών μου.

Αθήνα, 2015

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η αξιοποίηση παραπροϊόντων οινοποιείου για την ανάκτηση βιοδραστικών ενώσεων με ιδιαίτερη βιολογική αξία μέσω καινοτόμων μεθόδων εκχύλισης.

Στις μέρες μας, υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον για την εκμετάλλευση των υπολειμμάτων που παράγονται από την βιομηχανία κρασιού. Συγκεκριμένα, είναι γνωστό ότι τα σταφύλια περιέχουν μεγάλη ποσότητα φαινολικών ενώσεων με υψηλή αντιοξειδωτική δράση οι οποίες μεταβιβάζονται εν μέρει στο κρασί κατά την οινοποίηση. Έτσι, τα παραπροϊόντα οινοποιείου θα μπορούσαν να είναι μια εναλλακτική πηγή για την ανάκτηση φυσικών αντιοξειδωτικών τα οποία θεωρούνται απολύτως ασφαλή σε σύγκριση με τα συνθετικά αντιοξειδωτικά.

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα και το φαινολικό φορτίο παραπροϊόντων οινοποιείου από τρεις ελληνικές ποικιλίες σταφυλιών. Συγκεκριμένα, παραπροϊόντα από τις ποικιλίες Ροδίτη, Μοσχοφίλερου και Αγιωργίτικου εκχυλίστηκαν με την συμβατική μέθοδο εκχύλισης Soxhlet και με δυο καινοτόμες μεθόδους, την εκχύλιση με μικροκύματα και υπερήχους. Όσον αφορά την εκχύλιση Soxhlet, οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν νερό και αιθανόλη ενώ για τις άλλες δυο μεθόδους χρησιμοποιήθηκαν νερό και νερό : αιθανόλη (1:1). Οι τεχνικές εκχύλισης εφαρμόστηκαν σε φρέσκα και ξηρά δείγματα με σκοπό την μελέτη της επίδρασης της ξήρανσης στην ανάκτηση αντιοξειδωτικών. Οι μέθοδοι ξήρανσης που εφαρμόστηκαν ήταν η ξήρανση σε ρεύμα αέρα και η επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση. Η αποτελεσματικότητα των τριών μεθόδων εκχύλισης εκφράστηκε σε όρους απόδοσης (g εκχυλίσματος/ 100 g ξηρού υλικού), αντιοξειδωτικής ικανότητας και φαινολικού φορτίου. Η αντιοξειδωτική ικανότητα μετρήθηκε αρχικά ποιοτικά με τη μέθοδο χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) για την επιλογή των δειγμάτων με υψηλή αντιοξειδωτική δράση με στόχο την περαιτέρω μελέτη τους. Στα δείγματα που επιλέχθηκαν ακολούθησε ποσοτική μέτρηση της αντιοξειδωτικής τους δράσης με τη μέθοδο μέτρησης της αποικοδόμησης της ρίζας 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλο-υδραζιλίου (DPPH). Τέλος, έγινε ποσοτικός προσδιορισμός του φαινολικού φορτίου με τη μέθοδο Folin- Ciocalteu.

Αρχικά, προσδιορίστηκε η κινητική των μεθόδων ξήρανσης με βάση το μοντέλο λεπτής στοιβάδας του Lewis για κάθε ποικιλία. Όσον αφορά τις μεθόδους εκχύλισης, βρέθηκε ότι η εκχύλιση με μικροκύματα με χρήση νερού ως διαλύτη παρουσίασε την μεγαλύτερη απόδοση και για τις τρεις ποικιλίες. Επιπλέον, τα ξηρά δείγματα εμφάνισαν αυξημένες αποδόσεις σε σύντομους χρόνους εκχύλισης συγκριτικά με τα φρέσκα. Τέλος, διαπιστώθηκε ότι τα εκχυλίσματα που προήλθαν από την εκχύλιση με υπερήχους ξηρών δειγμάτων με χρήση νερού : αιθανόλης ως διαλύτη παρουσίασαν την βέλτιστη αντιοξειδωτική ικανότητα και το υψηλότερο φαινολικό φορτίο και για τις τρεις ποικιλίες σταφυλιών. Ζητούμενο είναι η παρούσα μελέτη να αποτελέσει τη βάση για περαιτέρω έρευνα γύρω από την εκχύλιση ωφέλιμων ενώσεων από τα παραπροϊόντα οινοποιείου.

ABSTRACT

The aim of this thesis is the utilization of grape industry by-products using novel extraction processed for the recovery of bioactive compounds.

Nowadays, there is a growing interest in the exploitation of the residues generated by the wine industry. Specifically, it is known that grapes contain a large amount of phenolic compounds with high antioxidant activity which are partially transferred to wine during winemaking. Therefore, winery wastes could be an alternative source for obtaining natural antioxidants, which are considered completely safe in comparison with synthetic antioxidants.

In this study the antioxidant potential and the total phenolic content of Greek wine pomaces were investigated. Namely, Rhoditis, Moschofilero, and Agiorgitiko grape pomaces were extracted with the conventional Soxhlet Extraction and with two novel extraction techniques such as Microwave Assisted Extraction and Ultrasound Assisted Extraction. As far as Soxhlet extraction is concerned, the samples were extracted using water and ethanol as solvents while in case of the other two techniques were extracted using water and water : ethanol (1:1) as solvents. Extractions were carried out in both fresh and dried samples in order to explore the effect of drying on the recovery of antioxidant compounds. The drying methods included air drying and accelerated solar drying. The efficiency and selectivity of processes were determined in terms of extraction yield (g extract/ g dry sample), antioxidant activity and total phenolic content. The total antioxidant potential of the extracts initially was determined using thin layer chromatographic method which was applied for the preliminary screening for free radical scavengers of the extracted compounds of grape pomaces. Subsequently, the determination of the free-radical scavenging capacity was evaluated with the stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) in selected samples. Finally, the total phenolic contents in the grape pomace extracts were determined using the Folin-Ciocalteu method.

Primarily, the drying kinetics were determined using thin layer model of Lewis for each variety of grape pomaces. As far as extraction methods are concerned, microwave assisted extraction water extracts presented the greatest extraction yield for all samples. Additionally, dried samples were presented high yields within short time of extraction in contrast with fresh samples. Finally, water : ethanol (1:1) extracts derived from ultrasound assisted extraction of dried samples exhibited the highest antioxidant capacity and phenolic content for all varieties. Our goal is the present study to be the basis for new research around the extraction of bioactive compound from winery wastes.

Πίνακας περιεχομένων

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	v
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	vi
ABSTRACT	vii
A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	1
<hr/>	
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΠΑΡΑΠΡΟΪΟΝΤΑ ΟΙΝΟΠΟΙΕΙΟΥ	1
1.1 ΣΥΣΤΑΣΗ ΠΑΡΑΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΟΙΝΟΠΟΙΕΙΟΥ	1
1.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΙΘΑΝΑ ΟΦΕΛΗ ΥΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ ΠΟΥ ΠΡΟΕΡΧΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΠΑΡΑΠΡΟΪΟΝΤΑ ΟΙΝΟΠΟΙΕΙΟΥ	2
1.3 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΣΤΑΦΥΛΙΟΥ	2
1.3.1 ΡΟΔΙΤΗΣ	3
1.3.2 ΜΟΣΧΟΦΙΛΕΡΟ	3
1.3.3 ΑΓΙΩΡΓΓΙΚΟ	4
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΠΑΡΑΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΟΙΝΟΠΟΙΕΙΟΥ	5
2.1 ΞΗΡΑΝΣΗ	5
2.2 ΓΕΝΙΚΑ ΦΑΙΝΟΜΕΝΑ ΞΗΡΑΝΣΗΣ	5
2.2 ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΞΗΡΑΝΣΗΣ	8
2.3 ΕΙΔΗ ΞΗΡΑΝΤΗΡΩΝ	9
2.3.1 ΞΗΡΑΝΣΗ ΣΕ ΡΕΥΜΑ ΑΕΡΑ	10
2.3.2 ΕΠΙΤΑΧΥΝΟΜΕΝΗ ΗΛΙΑΚΗ ΞΗΡΑΝΣΗ	11
2.2 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΩΦΕΛΙΜΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΑΠΟ ΦΥΤΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ	12
2.2.1 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΤΕΡΕΩΝ ΜΕ ΥΓΡΟ ΔΙΑΛΥΤΗ	13
2.2.2 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΜΕ ΜΕΘΟΔΟ SOXHLET	14
2.2.2.1 ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ SOXHLET	14
2.2.2.2 ΕΠΙΛΟΓΗ ΔΙΑΛΥΤΗ	14
2.2.2.3 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΜΗΤΡΑΣ	15
2.2.2.4 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ	15
2.2.2.5 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ SOXHLET	15
2.2.3 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΑΠΟ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ	16
2.2.3.1 ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΑΠΟ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ	16
2.2.3.2 ΕΠΙΛΟΓΗ ΔΙΑΛΥΤΗ	17
2.2.3.3 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΜΗΤΡΑΣ	17
2.2.3.4 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ	17
2.2.3.4 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΠΟ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ	17
2.2.4 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΑΠΟ ΥΠΕΡΗΧΟΥΣ	18
2.2.4.1 ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΑΠΟ ΥΠΕΡΗΧΟΥΣ	18
2.2.4.2 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ	18
2.2.4.3 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΠΟ ΥΠΕΡΗΧΟΥΣ	18
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ	20
3.1 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ	20

3.2 ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΛΙΠΑΡΩΝ	20
3.2.1 ΑΥΤΟΟΞΕΙΔΩΣΗ ΛΙΠΑΡΩΝ	20
3.3 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	21
3.3.1 ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ	22
3.3.2 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ	22
3.3.3 ΣΥΝΘΕΤΙΚΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	23
3.3.4 ΦΥΣΙΚΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	24
3.3.4.1 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	24
3.3 ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ	26
3.3.1 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΙΒΑΔΑΣ (TLC)	26
3.3.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΤΗΣ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ 2,2- ΔΙΦΑΙΝΥΛΟ- 1- ΠΙΚΡΥΛΟ-ΥΔΡΑΖΥΛΙΟΥ (DRPH•)	27
3.3.3 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΟΥ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ FOLIN- CIOCALTEU	28

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ **30**

Ι) ΣΤΟΧΟΙ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	30
ΙΙ) ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ	30

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΞΗΡΑΝΣΗ ΚΑΙ ΕΚΧΥΛΙΣΕΙΣ ΠΑΡΑΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΟΙΝΟΠΟΙΕΙΟΥ **31**

4.1 ΞΗΡΑΝΣΗ ΣΕ ΡΕΥΜΑ ΑΕΡΑ	31
4.1.1 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ- ΥΛΙΚΑ	31
4.1.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ- ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	32
4.1.2.1 ΞΗΡΑΝΣΗ ΣΕ ΡΕΥΜΑ ΑΕΡΑ	32
4.1.2.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΡΧΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΕΛΙΚΗΣ ΥΓΡΑΣΙΑΣ	32
4.1.2.3 ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΞΗΡΑΝΣΗΣ ΣΕ ΡΕΥΜΑ ΑΕΡΑ	33
4.2 ΕΠΙΤΑΧΥΝΟΜΕΝΗ ΗΛΙΑΚΗ ΞΗΡΑΝΣΗ	37
4.2.1 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ- ΥΛΙΚΑ	37
4.2.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ- ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	37
4.2.2.1 ΕΠΙΤΑΧΥΝΟΜΕΝΗ ΗΛΙΑΚΗ ΞΗΡΑΝΣΗ	37
4.2.2.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΡΧΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΕΛΙΚΗΣ ΥΓΡΑΣΙΑΣ	38
4.1.2.3 ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΕΠΙΤΑΧΥΝΟΜΕΝΗΣ ΗΛΙΑΚΗΣ ΞΗΡΑΝΣΗΣ	38
4.3 ΕΚΧΥΛΙΣΕΙΣ	41
4.3.1 ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ ΕΚΧΥΛΙΣΗ SOXHLET	42
4.3.1.1 ΥΛΙΚΑ- ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ	42
4.3.1.2 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ- ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	43
4.3.1.3 ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΡΟΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ SOXHLET	45
4.3.1.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ- ΑΠΟΔΟΣΕΙΣ ΕΚΧΥΛΙΣΕΩΝ SOXHLET	46
4.3.2 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΜΕ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ	48
4.3.2.1 ΥΛΙΚΑ- ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ	48
4.3.2.2 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ- ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	49
4.3.2.3 ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΡΟΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΜΕ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΥΠΕΡΗΧΟΥΣ	51
4.3.2.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ- ΑΠΟΔΟΣΕΙΣ ΕΚΧΥΛΙΣΕΩΝ ΜΕ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ	52
4.3.3 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΜΕ ΥΠΕΡΗΧΟΥΣ	57
4.3.3.1 ΥΛΙΚΑ- ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ	57
4.3.3.2 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ- ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	58
4.3.3.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ- ΑΠΟΔΟΣΕΙΣ ΕΚΧΥΛΙΣΕΩΝ ΜΕ ΥΠΕΡΗΧΟΥΣ	59

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ	65
5.1.1 ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΙΒΑΔΑΣ (TLC)	65
5.1.1.1 ΥΛΙΚΑ	65
5.1.1.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ TLC	65
5.1.1.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ TLC	66
5.1.2 ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ DPPH	67
5.1.2.1 ΥΛΙΚΑ- ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ	67
5.1.2.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ DPPH	67
5.1.2.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ IC50 ΤΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ	68
5.1.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΟΥ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ (TPC) ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ FOLIN- CIOCALTEU	73
5.1.3.1 ΥΛΙΚΑ- ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ	73
5.1.3.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΟΛΙΚΟΥ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ (TPC) ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ FOLIN- CIOCALTEU	74
5.1.3.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΟΛΙΚΟΥ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ (TPC) ΤΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ	74
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	79
6.1 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΞΗΡΑΝΣΗΣ	79
6.2 ΒΕΛΤΙΣΤΕΣ ΑΠΟΔΟΣΕΙΣ ΕΚΧΥΛΙΣΕΩΝ	81
6.3 ΒΕΛΤΙΣΤΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ	85
6.4 ΒΕΛΤΙΣΤΟ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΦΟΡΤΙΟ	86
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. ΕΠΙΛΟΓΟΣ	88
7.1 ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ	88
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	89

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΠΑΡΑΠΡΟΪΟΝΤΑ ΟΙΝΟΠΟΙΕΙΟΥ

Οι καλλιέργειες σταφυλιού αποτελούν τις κύρια εκτεταμένες γεωργικές και οικονομικές δραστηριότητες στον κόσμο με παγκόσμια παραγωγή μεγαλύτερη από 60 εκατομμύρια τόνους κάθε χρόνο. Έτσι, για παράδειγμα, 67 εκατομμύρια τόνοι σταφυλιών παράχθηκαν το 2012, και σχεδόν οι 23 εκατομμύρια τόνοι προέρχονταν από Ευρωπαϊκές χώρες^[1]. Τα σταφύλια απευθύνονται κυρίως σε νωπή κατανάλωση ως επιτραπέζιο φρούτο, χυμό και σταφίδες. Επιπλέον, ένα σημαντικό ποσοστό της παραγωγής σταφυλιού οδηγείται σε διεργασίες οινοποίησης οι οποίες αποτελούν μια παραδοσιακή δραστηριότητα σε πολλές χώρες της Νοτιοδυτικής Ευρώπης (Γαλλία, Ελλάδα, Ιταλία, Πορτογαλία και Ισπανία) καθώς το κρασί είναι ένα από τα πιο διαδεδομένα αλκοολούχα ποτά στον κόσμο^[2].

Η παραγωγή κρασιού συνεπάγεται την δημιουργία τεράστιων ποσοτήτων από παραπροϊόντα τα οποία κυρίως αποτελούνται από οργανικά απόβλητα, λύματα, εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου και ανόργανα υπολείμματα^[3]. Στις μέρες μας, 9 εκατομμύρια τόνοι αποβλήτων της βιομηχανίας κρασιού παράγονται κάθε χρόνο παγκόσμια ^[4] και αντιπροσωπεύουν το 13,5% έως 14,5% του συνολικού όγκου των σταφυλιών και μπορούν να φτάσουν και το 20% ^[5]. Μετά από την εκχύλιση του χυμού από το σταφύλι τα εναπομείναντα στέμφυλα και κοτσάνια κατευθύνονται κυρίως για κομποστοποίηση ή απορρίπτονται σε ανοικτούς χώρους με αποτέλεσμα να προκαλούν σοβαρά περιβαλλοντικά προβλήματα^[6]. Έτσι, η αυξανόμενη ζήτηση για βιομηχανική παραγωγή φιλική προς το περιβάλλον σε συνδυασμό με το στόχο για ελαχιστοποίηση του κόστους διαχείρισης των παραπροϊόντων της βιομηχανίας κρασιού οδηγεί την βιομηχανία προς την υιοθέτηση προληπτικών προσεγγίσεων για την ολοκληρωμένη διαχείριση των αποβλήτων^[7]. Ωστόσο, όταν η πρόληψη δεν είναι εφικτή, η ανάπτυξη καινοτόμων διαδικασιών για την ανακύκλωση, επαναχρησιμοποίηση και ανάκτηση των υπολειμμάτων είναι σύμφωνη με την αυξανόμενη ζήτηση των πράσινων υλικών και των ανανεώσιμων πηγών θρεπτικών ουσιών και βιοδραστικών ενώσεων στους τομείς των ζωοτροφών / τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών. Υπό την έννοια αυτή, η αξιοποίηση αυτών των αποβλήτων θα παράσχει περαιτέρω εναλλακτικές λύσεις για τη μείωση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων της δραστηριότητας του οινοποιείου^[8].

1.1 Σύσταση παραπροϊόντων οινοποιείου

Τα στέμφυλα προσεγγιστικά αποτελούνται από 50% δέρμα, 25% σπόρους και 25% κοτσάνια^[9]. Όσον αφορά τη σύνθεση των κυριότερων συστατικών των στέμφυλων, τα στέμφυλα αποτελούνται από υδατάνθρακες (8% στους σπόρους, 13% στο δέρμα), ίνες (50% της συνολικής μάζας), λίπη (10% στους σπόρους και 4% στο δέρμα), πρωτεΐνες (8% στους σπόρους και 14% στο δέρμα) και μεταλλικά άλατα. Τα κύρια συστατικά των ινών είναι η λιγνίνη (64% στους σπόρους και 59% στο δέρμα) και στη συνέχεια οι ημικυτταρίνες (18% στους σπόρους και 31% στο δέρμα), η κυτταρίνη (17,75 % στους σπόρους και 6% στο δέρμα) και η πηκτίνη (0,25% στους σπόρους και 4% στο δέρμα)^[10,11]. Επίσης έχει βρεθεί ότι λόγω της χαμηλής αποτελεσματικότητας

της μεθόδου εκχύλισης κατά την παραγωγή κρασιού, τα στέμφυλα αποτελούν σημαντική πηγή φαινολικών ενώσεων οι οποίες χαρακτηρίζονται από έντονη αντιοξειδωτική δράση^[12]. Ως αποτέλεσμα, τα στέμφυλα χαρακτηρίζονται ως ενδιαφέρουσα και οικονομική πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών με εφαρμογή στις βιομηχανίες φαρμάκων, καλλυντικών, τροφίμων^[13,14,15]. Οι φαινολικές ενώσεις του σταφυλιού μπορούν να διακριθούν σε δυο γενικές κατηγορίες όπως προτείνεται από τους Shi et al. (2003): σε φαινολικά οξέα (πρόδρομες ουσίες των φλαβονοειδών) και σε φλαβονοειδή. Τα πιο κοινά φαινολικά οξέα που βρίσκονται στα σταφύλια είναι τα κινναμωμικά οξέα (κουμαρικό, καφεϊκό, φερουλικό, χλωρογενικό και νεοχλωρογενικό οξύ) και τα βενζοϊκά οξέα (p-υδροξυβενζοϊκό, πρωτοκατεχουϊκό, βανιλλικό και γαλλικό οξύ). Τα φλαβονοειδή είναι ευρέως διαδεδομένα στα σταφύλια, κυρίως στους σπόρους και τα κοτσάνια και αποτελούνται κυρίως από φλαβαν-3-όλες (κατεχίνη, επικατεχίνη, τα πολυμερή τους και τις μορφές εστέρα με γλυκόζη), φλαβανόνες (η πιο διαδεδομένη είναι η κερκετίνη) και ανθοκυανίνες. Οι ανθοκυανίνες είναι χρωστικές ουσίες και βρίσκονται στο δέρμα των σταφυλιών κυρίως των κόκκινων.

1.2 Βιολογικές δράσεις και πιθανά οφέλη υγείας των πολυφαινολών που προέρχονται από παραπροϊόντα οινοποιείου

Τα παραπροϊόντα που προέρχονται από τη διαδικασία οινοποίησης περιέχουν μεγάλη ποσότητα δευτερογενών μεταβολιτών συμπεριλαμβανομένων των φλαβανόλων, προανθοκυανιδίων, φλαβονόλων, ανθοκυανίνων, φαινολικών οξέων και στιλβένιων^[17]. Στις μέρες μας, υπάρχουν αρκετά στοιχεία που αφορούν τις βιολογικές δράσεις των σταφυλιών όπως είναι η αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή, αντιφλεγμονώδη και αντικαρκινική δράση καθώς και δράσεις που σχετίζονται με την καρδιαγγειακή προστασία κάνοντας τις φαινολικές ενώσεις που προέρχονται από σταφύλια χρήσιμες για τις βιομηχανίες τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών^[18,19]. Μια από τις πιο συνηθισμένες βιολογικές δράσεις που αποδίδονται στις φαινολικές ενώσεις είναι η αντιοξειδωτική ικανότητά τους εμποδίζοντας την οξειδωση των λιποπρωτεϊνών LDL, την συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων και την βλάβη των ερυθρών κυττάρων του αίματος (20). Επιπλέον, οι φαινολικές ενώσεις είναι μεταλλικοί χηλικποιητές, αντικαρκινογόνοι, αντιμικροβιακοί και αντιφλεγμονώδεις παράγοντες^[13,17,21].

Η αντιοξειδωτική δράση των φαινολικών ενώσεων οφείλεται στην δυνατότητα τους να δρουν ως δότες ηλεκτρονίων και αναχαιτιστές των μονήρων οξυγόνων. Οι δράσεις αυτές επιτρέπουν σε αυτές τις ενώσεις να αλληλεπιδρούν με τα βιολογικά συστήματα, εμποδίζοντας την ανάπτυξη εκφυλιστικών νόσων που συνδέονται με το οξειδωτικό στρες στους ιστούς και στα βιολογικά συστήματα^[7].

1.3 Χαρακτηριστικά ελληνικών ποικιλιών σταφυλιού

Στα πειράματα της παρούσας εργασίας χρησιμοποιήθηκαν τρεις ελληνικές ποικιλίες παραπροϊόντων σταφυλιού. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν δυο κόκκινες ποικιλίες σταφυλιού (Μοσχοφίλερο και Αγιωργίτικο) και μια λευκή (Ροδίτης).

1.3.1 Ροδίτης

Η ποικιλία Ροδίτης είναι μια ποικιλία με πολλούς κλώνους. Συγκεκριμένα ο Ροδίτης έχει 8 κλώνους που πολλοί από αυτούς είναι άκρως παραγωγικοί αλλά δεν παράγουν οίνους ποιότητας.

Η ποικιλία αυτή καλλιεργείται εντός της ζώνης για την παραγωγή του οίνου ΟΠΑΠ «ΠΑΤΡΑ», και εκτός ζώνης για την παραγωγή επιτραπέζιων οίνων λευκών και ροζέ. Η ζώνη της ποικιλίας αυτής, καταλαμβάνει πολύ μεγάλη έκταση και εκτείνεται από τα ανατολικά όρια του νομού Αχαΐας μέχρι το νομό Ηλείας.



Εικόνα 1. Ροδίτης

Ποικιλία πολύ ζωνρή, ιδιαίτερα παραγωγική, ευαίσθητη στον περονόσπορο. Τα σταφύλια της ποικιλίας αυτής είναι μέσου ή μεγάλου μεγέθους και η ράγα τους μπορεί να έχει μέγεθος και χρώμα που ποικίλει, από ερυθρωπό μέχρι ανοιχτό πράσινο, ανάλογα με τον κλώνο της ποικιλίας και το μικροκλίμα του τόπου παραγωγής του.

Θεωρείται ευπροσάρμοστη και αρκετά ανθεκτική ποικιλία, τα σταφύλια της οποίας έχουν κουκούτσια και χρησιμοποιείται κυρίως σαν οινοποιήσιμη. Ο τρύγος της, ανάλογα με την περιοχή και την χρονιά μπορεί να ξεκινά από τα τέλη Σεπτεμβρίου και να φτάνει ως τα μέσα Οκτωβρίου.

Η ονομασία «Πάτρα» έχει αναγνωριστεί από το 1970 και άρχισε να κυκλοφορεί από το 1980 από τα οινοποιεία της περιοχής. Ο παραγόμενος οίνος έχει πλούτο αρωμάτων λουλουδιών και φρούτων^[22].

1.3.2 Μοσχοφίλερο

Η ποικιλία αυτή καλλιεργείται στην κεντροδυτική Πελοπόννησο και κυρίως στην περιοχή της Μαντινείας. Ανήκει σε μια ομάδα ποικιλιών που είναι γνωστή με την ονομασία Φιλέρια. Η ποικιλία Φιλέρι είναι μια ντόπια παλιά ποικιλία της Πελοποννήσου, στην οποία παρατηρείται μεγάλη γενετική παραλλακτικότητα από τη συσσώρευση μεταλλάξεων. Πρόκειται για μία έγχρωμη ποικιλία με μοσχάτο άρωμα, η οποία χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή λευκών ξηρών οίνων.

Πρόκειται για ποικιλία πολύ ζωνρή και παραγωγική. Διαμορφώνεται σε κυπελλοειδή ή γραμμοειδή σχήματα μόρφωσης Royat και δέχεται βραχύ κλάδεμα καρποφορίας. Παράγει κατά μέσο όρο δύο σταφύλια ανά καρποφόρο βλαστό, τα οποία βρίσκονται συνήθως στον τέταρτο και έκτο κόμβο. Είναι ποικιλία που προτιμάει τα γόνιμα, βαθιά εδάφη και αντέχει στην υψηλή εδαφική υγρασία. Είναι ευαίσθητη στην ανθόρροια και ωριμάζει όνιμα τα σταφύλια της (τέλη Σεπτεμβρίου με αρχές Οκτωβρίου).

Τα σταφύλια της είναι συνήθως, μεγάλου μεγέθους, κυλινδροκωνικού σχήματος, με μέτρια έως μεγάλη πυκνότητα ραγών. Οι ράγες είναι μέτριου μεγέθους και σφαιρικού

σχήματος. Ο φλοιός έχει ερυθροϊώδη χρωματισμό, η επιδερμίδα του είναι χονδρή και ανθεκτική και η σάρκα είναι μαλακή, άχρωμη και χυμώδης με λεπτό μοσχάτο άρωμα.

Χρησιμοποιείται για την παραγωγή λευκών και ροζέ ξηρών οίνων εκλεκτής ποιότητας. Από αυτήν παράγεται ο οίνος Ονομασίας Προέλευσης Ανωτέρας Ποιότητας (Ο.Π.Α.Π.) "Μαντινεία". Λόγω του ρόδινου χρώματος που έχουν συνήθως τα σταφύλια,



Εικόνα 2. Μοσχοφίλερο

χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή κατά την οινοποίηση για παραγωγή λευκών οίνων. Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την παραγωγή φυσικών αφρωδών οίνων. Για την παραγωγή των οίνων Ο.Π.Α.Π. "Μαντινεία", γίνεται συνοινοποίηση του Μοσχοφίλερου (80%) με διάφορες ασπρούδες (20%) που καλλιεργούνται στην περιοχή. Οι οίνοι αυτοί χαρακτηρίζονται από υψηλή οξύτητα, χαμηλό αλκοολικό τίτλο και θαυμάσιο λεπτό άρωμα^[23].

1.3.3 Αγιωργίτικο

Το Αγιωργίτικο θεωρείται μία από τις πιο εκλεκτές έγχρωμες ελληνικές οινοποιήσιμες ποικιλίες αμπέλου. Καλλιεργείται κυρίως στην Πελοπόννησο, αλλά συναντάται σποραδικά σε πολλά διαμερίσματα της χώρας μας. Οι περισσότερες καλλιεργούμενες εκτάσεις (περίπου 21.000 στρέμματα) βρίσκονται στη ζώνη παραγωγής οίνων Ονομασίας Προέλευσης Ανωτέρας Ποιότητας (Ο.Π.Α.Π.) «Νεμέα», η οποία εκτείνεται σε υψόμετρο που κυμαίνεται από 250-800 μέτρα και περιλαμβάνει εκτάσεις των νομών Αργολίδας και Κορινθίας.



Εικόνα 3. Αγιωργίτικο

Πρόκειται για ποικιλία ζωνρή και πολύ παραγωγική. Διαμορφώνεται κυρίως σε γραμμοειδή σχήματα μόρφωσης Royal αλλά και σε κυπελλοειδή και δέχεται βραχύ κλάδεμα καρποφορίας. Παράγει κατά μέσο όρο δύο σταφύλια ανά καρποφόρο βλαστό, τα οποία βρίσκονται συνήθως στον τέταρτο και πέμπτο κόμβο.

Τα σταφύλια της είναι μεσαίου μεγέθους, πυκνόρραγα, κυλινδροκωνικού σχήματος. Πολλές φορές παρατηρούνται και πτερυγωτά σταφύλια. Οι ράγες είναι σφαιρικές και έχουν μικρό έως μέτριο μέγεθος. Ο φλοιός τους είναι κυανομέλανου χρώματος, και η σάρκα μαλακιά, άχρωμη και χυμώδης.

Είναι μία από τις πιο πλούσιες σε χρώμα ελληνικές ποικιλίες αμπέλου. Χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή ερυθρών ξηρών οίνων, Ο.Π.Α.Π. και

επιτραπέζιων, οι οποίοι έχουν ένα βαθύ ρουμπινί χρώμα, χαρακτηρίζονται από μαλακές τανίνες και είναι επιδεκτικοί παλαίωσης^[24].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΠΑΡΑΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΟΙΝΟΠΟΙΕΙΟΥ

2.1 Ξήρανση

Η ξήρανση είναι μια σύνθετη διεργασία που περιλαμβάνει την σταδιακή μεταφορά μάζας και θερμότητας καθώς και διάφορες φυσικές ή χημικές μετατροπές οι οποίες μπορεί να προκαλέσουν αλλαγές στην ποιότητα του προϊόντος. Οι φυσικές αλλαγές περιλαμβάνουν συρρίκνωση και κρυστάλλωση. Σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να συμβούν επιθυμητές ή ανεπιθύμητες χημικές ή βιοχημικές αντιδράσεις που οδηγούν σε αλλαγές στο χρώμα, στην υφή, στην οσμή ή σε άλλες ιδιότητες του στερεού προϊόντος.

Η ξήρανση λαμβάνει χώρα επηρεάζοντας το ρυθμό εξάτμισης του υγρού με την παροχή θερμότητας στο υγρό στερεό υλικό. Η θερμότητα μπορεί να παρέχεται με συναγωγή, με αγωγή, με ακτινοβολία ή τοποθετώντας το υγρό υλικό σε ένα σύστημα μικροκυμάτων ή ραδιοσυχνοτήτων σε ηλεκτρομαγνητικό πεδίο. Πάνω από το 85% των βιομηχανικών ξηραντήρων είναι τύπου συναγωγής με θερμό αέρα ως μέσο ξήρανσης. Επίσης πάνω από το 99% των εφαρμογών απαιτούν απομάκρυνση του νερού. Όλοι οι τρόποι ξήρανσης εκτός από την ξήρανση με μικροκύματα και ραδιοσυχνότητες παρέχουν θερμότητα στα όρια του υλικού προς ξήρανση και έτσι η θερμότητα διαχέεται στο εσωτερικό του υλικού κατά κύριο λόγο μέσω αγωγής. Η περιεχόμενη υγρασία πρέπει να φτάσει στην επιφάνεια του στερεού υλικού και ύστερα να μεταφερθεί στο ξηρό αέρα (ή με εφαρμογή κενού στους μη αδιαβατικούς ξηραντήρες).

Η μεταφορά της υγρασίας εντός του στερεού μπορεί να συμβεί με οποιοδήποτε (ένα ή περισσότερους) από τους ακόλουθους μηχανισμούς μεταφοράς μάζας:

- Διάχυση του υγρού, αν το υγρό στερεό είναι σε θερμοκρασία κάτω από το σημείο βρασμού του υγρού
- Διάχυση των ατμών, εάν το υγρό εξατμίζεται εντός του υλικού
- Διάχυση Knudsen, εάν η ξήρανση λαμβάνει χώρα σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες και πιέσεις όπως κατά τη ξήρανση με κατάψυξη
- Διαφορές στην υδροστατική πίεση όταν ο εσωτερικός ρυθμός εξάτμισης υπερβεί το ρυθμό μεταφοράς ατμού μέσω του στερεού προς το περιβάλλον
- Συνδυασμός των παραπάνω μηχανισμών ^[25].

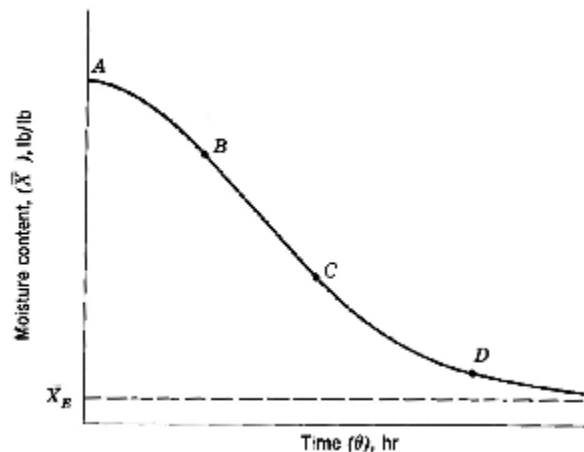
2.2 Γενικά φαινόμενα ξήρανσης

Στην περίπτωση ξήρανσης ενός υγρού στερεού κατά την επαφή του με αέριο σε δεδομένη θερμοκρασία και υγρασία, έχουμε την εμφάνιση μιας συγκεκριμένης συμπεριφοράς στη διεργασία. Αμέσως μετά την αρχική επαφή του υλικού και του μέσου ξήρανσης, η θερμοκρασία του στερεού μεταβάλλεται μέχρι να φτάσει σε σταθερή τιμή. Η θερμοκρασία του στερεού (και ο ρυθμός της ξήρανσης) μπορεί να αυξηθεί ή να μειωθεί μέχρι να επιτευχθούν σταθερές συνθήκες. Σ' αυτές τις

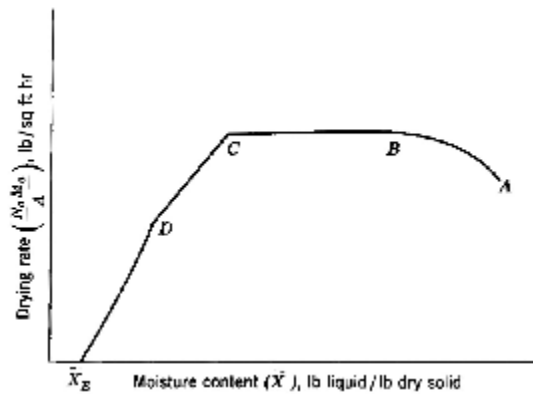
συνθήκες, η θερμοκρασία της επιφάνειας του υλικού είναι η θερμοκρασία του υγρού βολβού του μέσου ξήρανσης. Οι θερμοκρασίες μέσα στο υλικό τείνουν να εξισωθούν με τη θερμοκρασία του υγρού βολβού του αερίου, αλλά αυτό δεν μπορεί να συμβεί λόγω της καθυστέρησης στη μεταφορά της μάζας και της θερμότητας. Όταν λοιπόν οι θερμοκρασίες φτάσουν τη θερμοκρασία του υγρού βολβού του αερίου, ο ρυθμός της ξήρανσης παραμένει σταθερός. Αυτό το στάδιο είναι γνωστό ως περίοδος *σταθερού ρυθμού ξήρανσης* (constant-rate drying period).

Η προηγούμενη περίοδος τελειώνει όταν το υλικό αποκτήσει ένα μεταβατικό, αλλά καθορισμένο για κάθε υλικό ποσοστό υγρασίας που καλείται κρίσιμη υγρασία (critical moisture content). Μετά από αυτό το σημείο η επιφανειακή θερμοκρασία του αυξάνει και ο ρυθμός της ξήρανσης ελαττώνεται γρήγορα. Η περίοδος *ελαττούμενου ρυθμού ξήρανσης* (falling-rate drying period) είναι μεγαλύτερη σε διάρκεια από την περίοδο του σταθερού ρυθμού αν και η αφαίρεση υγρασίας είναι πολύ μικρότερη συγκριτικά. Στην περίοδο αυτή η θερμοκρασία της επιφάνειας αρχίζει και αυξάνει και η αύξηση αυτή συνεχίζεται όσο η ξήρανση προχωρεί και τελικά πλησιάζει τη θερμοκρασία του ξηρού βολβού του αέρα.

Ο ρυθμός της ξήρανσης τείνει στο μηδέν σε κάποιο ποσοστό υγρασίας που ονομάζεται υγρασία ισορροπίας, X_E , (equilibrium moisture content), η οποία είναι το μικρότερο ποσό υγρασίας που μπορεί να παραμένει στο στερεό στις δεδομένες συνθήκες ξήρανσης. Οι εικόνες 4 (Μεταβολή της υγρασίας με το χρόνο) και 5 (Ρυθμός ξήρανσης συναρτήσει της υγρασίας) απεικονίζουν τυπικές καμπύλες ξήρανσης (drying curves). Η μορφή της εικόνας 4 είναι η συνηθέστερη για πειραματικά δεδομένα ξήρανσης, αλλά η εικόνα 5 είναι πιο περιγραφική της διεργασίας. Βέβαια, αυτό προέρχεται από την χρονική παράγωγο των δεδομένων που αποτελούν την εικόνα 4 και έτσι συχνά υπάρχει αρκετή διασπορά των δεδομένων και αβεβαιότητα.



Εικόνα 4. Τυπική καμπύλη ξήρανσης για σταθερές συνθήκες ξήρανσης. Υγρασία ως συνάρτηση του χρόνου



Εικόνα 5. Τυπική καμπύλη ξήρανσης για σταθερές συνθήκες ξήρανσης. Ρυθμός ξήρανσης ως συνάρτηση της υγρασίας

Αυτές οι τυπικές καμπύλες ξήρανσης σχετίζονται με τον μηχανισμό της ίδιας της ξήρανσης. Η περίοδος ξήρανσης του τμήματος AB (Εικόνες 4, 5) είναι η αρχική μεταβατική περίοδος στην οποία η θερμοκρασία του στερεού τείνει προς τις σταθερές συνθήκες. Αν και η μορφή της καμπύλης που απεικονίζεται είναι τυπική, σχεδόν κάθε μορφή είναι πιθανή και η περίοδος AB μπορεί να είναι είτε ελαττούμενου είτε αυξανόμενου ρυθμού. Κατά την περίοδο σταθερού ρυθμού, που είναι το τμήμα BC στα παραπάνω σχήματα, ολόκληρη η εξωτερική επιφάνεια του στερεού είναι κορεσμένη με νερό. Η ξήρανση επιτελείται με τη μετάβαση υδρατμού από την επιφάνεια του υγρού μέσω ενός υμενίου αέρα στην κύρια μάζα του ρεύματος θερμού αέρα.

Ο ρυθμός της ξήρανσης εξαρτάται από το ρυθμό μετάδοσης θερμότητας στην επιφάνεια ξήρανσης. Ο ρυθμός μεταφοράς της μάζας εξισορροπεί το ρυθμό μετάδοσης θερμότητας και έτσι η θερμοκρασία της επιφάνειας ξήρανσης παραμένει σταθερή. Η κινούσα δύναμη που προκαλεί τη κίνηση του υδρατμού μέσω του υμενίου του αέρα είναι η διαφορά της τάσης των υδρατμών μεταξύ της επιφάνειας και της κύριας μάζας του αέρα. Η ξήρανση επιτελείται χωρίς το στερεό υλικό να επηρεάζει το ρυθμό ξήρανσης. Πιθανότατα, η τραχύτητα της επιφάνειας του στερεού υλικού, πάνω στην οποία βρίσκεται το υγρό να αυξάνει τους συντελεστές μετάδοσης θερμότητας και μάζας, αλλά αυτό το φαινόμενο δεν έχει πλήρως αποδειχτεί. Η περίοδος του σταθερού ρυθμού συνεχίζεται, με τη μάζα που απομακρύνεται από την επιφάνεια συνεχώς να αποκαθίσταται από την κίνηση υγρού από το εσωτερικό του υλικού. Ο μηχανισμός της κίνησης του υγρού και συνεπώς ο ρυθμός της, αλλάζει με την δομή του υλικού. Στα στερεά υλικά που έχουν σχετικά μεγάλα διάκενα στη δομή τους, η κίνηση ελέγχεται από την επιφανειακή τάση και τις βαρυτικές δυνάμεις που αναπτύσσονται μέσα στο στερεό υλικό. Στα στερεά με ιώδη ή άμορφη δομή, η κίνηση του υγρού γίνεται με διάχυση διαμέσου του στερεού. Εφόσον οι ρυθμοί διάχυσης είναι πολύ μικρότεροι από τη ροή με τη δύναμη της βαρύτητας ή με την επίδραση τριχοειδών δυνάμεων, στα στερεά όπου έχουμε διάχυση του υγρού έχουμε και μικρότερες περιόδους σταθερού ρυθμού ή ακόμη και μηδενικές περιόδους σταθερού ρυθμού. Στο σημείο C (κρίσιμη υγρασία), το ποσοστό της υγρασίας του στερεού είναι μόλις και μετά βίας αρκετό για να εφοδιάσει με υγρό την ελεύθερη επιφάνεια.

Κατά τη διάρκεια της ξήρανσης, μεταξύ των σημείων C και D της εικόνας 5, που καλείται πρώτη περίοδος ελαττούμενου ρυθμού (first falling-rate period), το υγρό στην επιφάνεια γίνεται όλο και λιγότερο, επειδή ο ρυθμός της κίνησης του υγρού προς την επιφάνεια είναι μικρότερος από το ρυθμό απομάκρυνσης του από την επιφάνεια προς το αέριο ρεύμα. Τελικά στο σημείο D δεν υπάρχει πλέον σημαντικό ποσοστό της επιφάνειας που να είναι κορεσμένο με υγρό. Το μικρό τμήμα της επιφάνειας που παρέμεινε κορεσμένο, ξηραίνεται περαιτέρω με μετάδοση θερμότητας με συναγωγή από το θερμό ρεύμα αέρα και ταυτόχρονη μεταφορά μάζας προς το θερμό ρεύμα αέρα. Υδρατμός από τα εσωτερικά στρώματα του δείγματος διαχέεται προς τα τμήματα της επιφάνειας που δεν είναι κορεσμένα και στη συνέχεια μεταφέρεται στο ρεύμα του αέρα. Αυτός ο μηχανισμός είναι πολύ αργός σε σχέση με τη συναγωγή από τα λίγα εναπομείναντα τμήματα κορεσμένης επιφάνειας.

Για ποσοστά υγρασίας χαμηλότερα απ' αυτά του σημείου D της εικόνας 5, η ξήρανση λαμβάνει χώρα αποκλειστικά στο εσωτερικό του στερεού. Εφόσον το ποσοστό υγρασίας συνεχίζει να μειώνεται, η απόσταση για τη διάχυση της θερμότητας και της μάζας μεγαλώνει και τελικά η διαφορά συγκεντρώσεων (κινούσα δύναμη) ελαττώνεται μέχρι που στο X_E (υγρασία ισορροπίας), δεν υπάρχει περαιτέρω ξήρανση. Η υγρασία ισορροπίας επιτυγχάνεται όταν η τάση ατμών πάνω από το στερεό είναι ίση με την μερική πίεση των υδρατμών στο ρεύμα αέρα. Αυτή η περίοδος καλείται δεύτερη περίοδος ελαττούμενου ρυθμού (second falling rate period)^[26].

2.2 Κινητική ξήρανσης

Μία από τις πιο σημαντικές πτυχές της τεχνολογίας ξήρανσης είναι η μαθηματική μοντελοποίηση των διεργασιών ξήρανσης. Σκοπός των μαθηματικών μοντέλων είναι η επιλογή των κατάλληλων συνθηκών λειτουργίας και στη συνέχεια ο ορισμός του μεγέθους του εξοπλισμού ξήρανσης^[27]. Η αρχή της μοντελοποίησης βασίζεται στο ότι έχει ένα σύνολο μαθηματικών εξισώσεων που μπορούν να χαρακτηρίσουν επαρκώς το σύστημα. Η μαθηματική περιγραφή της εξέλιξης της υγρασίας των τροφίμων κατά την διάρκεια της ξήρανσης είναι γνωστή ως κινητική ξήρανσης^[28,29].

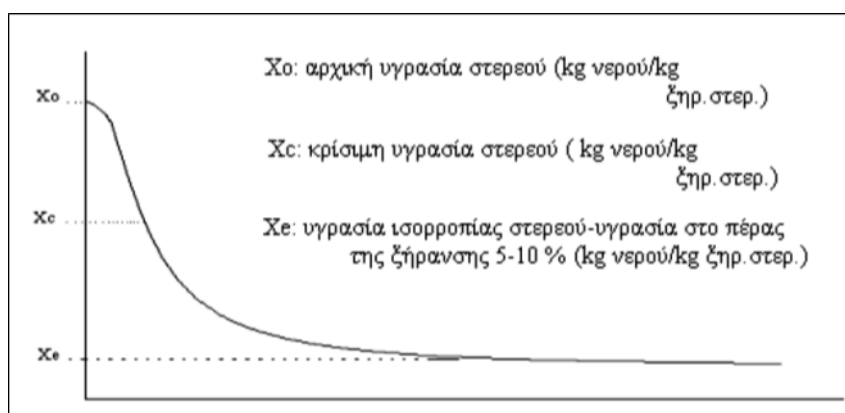
Η κινητική ξήρανση των υλικών μπορεί να περιγραφεί πλήρως χρησιμοποιώντας τις ιδιότητες μεταφοράς τους (θερμική αγωγιμότητα, θερμική διαχυτικότητα, διαχυτότητα υγρασίας, συντελεστές μεταφοράς μάζας) μαζί με αυτές του μέσου ξήρανσης. Στην περίπτωση της ξήρανσης τροφίμων, η σταθερά ξήρανσης k χρησιμοποιείται αντί των ιδιοτήτων μεταφοράς. Η σταθερά ξήρανσης συνδυάζει όλες τις ιδιότητες μεταφοράς και ορίζεται από το μοντέλο λεπτής στοιβάδας. Οι εξισώσεις του μοντέλου λεπτής στοιβάδας περιγράφουν τα φαινόμενα ξήρανσης με ενιαίο τρόπο ανεξαρτήτως του μηχανισμού ελέγχου. Έχουν χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση του χρόνου ξήρανσης πολλών προϊόντων και για τη γενίκευση των καμπύλων ξήρανσης^[30]. Κατά την ανάπτυξη των μοντέλων ξήρανσης λεπτής στοιβάδας για τα αγροτικά προϊόντα, μετράτε η περιεκτικότητα σε υγρασία του υλικού σε διάφορες χρονικές στιγμές αφού πρώτα υποβληθεί σε σταθερή σχετική υγρασία και θερμοκρασία και συσχετίζεται με τις παραμέτρους ξήρανσης^[31].

Τα μοντέλα ξήρανσης λεπτής στοιβάδας εμπίπτουν σε τρεις κατηγορίες: τα θεωρητικά, ημι- θεωρητικά και εμπειρικά μοντέλα. Τα μοντέλα αυτά συνήθως προέρχονται από την απλούστευση γενική λύσης του δεύτερου νόμου του Fick. Αυτά τα εμπειρικά μοντέλα δίνουν μια σχέση ανάμεσα στην μέση περιεκτικότητα σε υγρασία με το χρόνο ξήρανσης.

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε το ημι- θεωρητικό μοντέλου του Lewis για την επεξεργασία των πειραματικών μετρήσεων. Ο Lewis(1921) περιέγραψε ότι η μεταφορά υγρασίας από τα τρόφιμα και τα γεωργικά προϊόντα μπορεί να θεωρηθεί ανάλογη με τη ροή θερμότητας ενός σώματος που βυθίζεται σε κρύο ρευστό. Αυτό το μοντέλο υποθέτει αμελητέα εσωτερική αντίσταση, που σημαίνει ότι δεν υπάρχει αντίσταση στην μεταφορά της υγρασίας από το εσωτερικό του υλικού προς στην επιφάνεια του υλικού. Συγκρίνοντας το φαινόμενο αυτό με το νόμο Newton για την ψύξη, ο ρυθμός ξήρανσης είναι ανάλογος με τη διαφορά της περιεχόμενης υγρασίας ανάμεσα στο υλικό που υπόκειται ξήρανση και στην περιεχόμενη υγρασία ισορροπίας του αέρα ξήρανσης όπως περιγράφεται από την εξίσωση (2.1)

$$MR = \frac{X - X_e}{X_o - X_e} = \exp(-kt) \quad (2.1)$$

Το μοντέλο αυτό χρησιμοποιείται επειδή είναι απλό αλλά το κύριο μειονέκτημα είναι ότι έχει την τάση να εκτιμά καλύτερα τα πρώτα στάδια της ξήρανσης και να υποτιμά τα μεταγενέστερα στάδια της καμπύλης ξήρανσης^[32]. Η χαρακτηριστική καμπύλη ξήρανσης που προκύπτει από την εξίσωση (2.1) φαίνεται στην εικόνα 6.



Εικόνα 6. Μεταβολή της υγρασίας του στερεού με το χρόνο ξήρανσης σύμφωνα με το μοντέλο Lewis

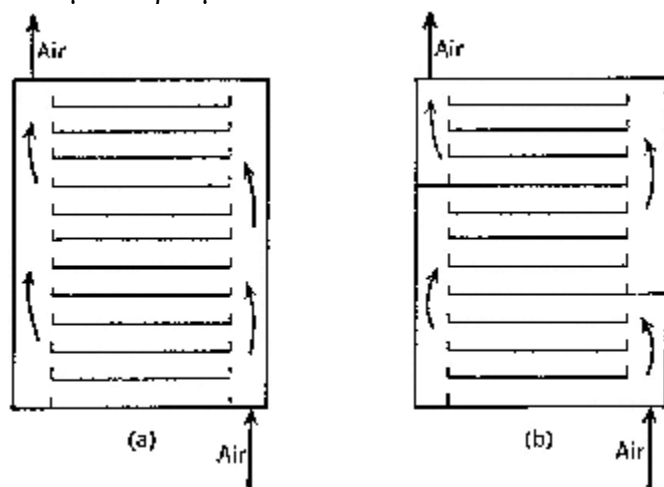
2.3 Είδη ξηραντήρων

Μια μεγάλη ποικιλία μηχανημάτων έχει αναπτυχθεί όλα αυτά τα χρόνια, βασισμένη κυρίως στη βιομηχανική εμπειρία. Συχνά υπάρχουν ξηραντήρες διαφορετικής κατασκευής που χρησιμοποιούνται για παρόμοιες διεργασίες, γιατί είναι συνηθισμένο σε ένα τομέα της βιομηχανίας να χρησιμοποιείται ένας τύπος και σε έναν άλλο τομέα ένας άλλος τύπος, που μπορεί να είναι τελείως διαφορετικός, για τον ίδιο σκοπό. Παρακάτω αναλύονται τα δύο είδη ξηραντήρων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία.

2.3.1 Ξήρανση σε ρεύμα αέρα

Αυτοί οι ξηραντήρες λειτουργούν κάτω από ατμοσφαιρικές συνθήκες ή κενό. Η θέρμανση στους ατμοσφαιρικούς ξηραντήρες γίνεται με κυκλοφορία ενός αερίου μέσα στον ξηραντήρα, όπως προθερμασμένος αέρας ή θερμά καύσιμα αέρια. Το αέριο ξήρανσης εισέρχεται στον ξηραντήρα με την όσο το δυνατόν πιο υψηλή θερμοκρασία που η σταθερότητα του υλικού μπορεί να επιτρέψει. Η χρήση της όσο το δυνατόν πιο υψηλής θερμοκρασίας προτείνεται, επειδή η ικανότητα μεταφοράς υγρασίας του αερίου και ο ρυθμός ξήρανσης του υλικού αυξάνονται με την αύξηση της θερμοκρασίας.

Το υλικό που θα ξηραθεί, τοποθετείται με οποιοδήποτε τρόπο, όπως π.χ. με άπλωμα του υλικού και υποστήριξη του πάνω σε ράφια ή κρεμασμένο από κατάλληλες κρεμάστρες ή τοποθετημένο το ένα πάνω στο άλλο σε σωρό. Οι λεπτομέρειες της κατασκευής αντικατοπτρίζουν την ευκολία στο χειρισμό και την μετέπειτα ξήρανση του υλικού. Για παράδειγμα, οι δίσκοι (ράφια) θα πρέπει να έχουν μια απόσταση μεταξύ τους, έτσι ώστε ο θερμός αέρας ξήρανσης να μπορεί να κυκλοφορεί ανάμεσα και πάνω από κάθε δίσκο με δεδομένη ταχύτητα, χρησιμοποιώντας, αν είναι απαραίτητο, ανακλαστές για ομοιομορφία κατανομής του μέσα στο ξηραντήριο. Δυο πιθανές διατάξεις ραφιών απεικονίζονται στις εικόνες 7 Α,Β. Αν χρησιμοποιώντας μια μόνο διαδρομή του αερίου (single-pass flow), η ταχύτητα του αέρα δεν είναι μεγάλη (Εικόνα 7α), τότε η χρήση πολλαπλών διαδρομών (multiple-pass flow) είναι προτιμότερη (Εικόνα 7β). Έχοντας τη θερμοκρασία εισόδου γνωστή καθώς και την υγρασία εισόδου και εξόδου του αέρα, η παροχή του αέρα καθορίζεται από τον επιθυμητό ρυθμό της ξήρανσης, βασισμένη στην περίοδο σταθερού ρυθμού. Εφόσον η ταχύτητα του αέρα επηρεάζει το ρυθμό ξήρανσης μόνο κατά τη διάρκεια του σταθερού ρυθμού και της πρώτης φάσης του ελαττούμενου ρυθμού (το ίδιο συμβαίνει και με την υγρασία του αέρα) και εφόσον η ικανότητα μεταφοράς υγρασίας του αέρα αξιοποιείται πλήρως μόνο κατά τη διάρκεια του σταθερού ρυθμού, είναι επιθυμητό να μεταβάλλονται οι συνθήκες της ξήρανσης κατά τη δεύτερη φάση της περιόδου του ελαττούμενου ρυθμού.



Εικόνα 7. Ατμοσφαιρικοί ξηραντήρες με χρήση αέρα ως μέσο ξήρανσης

Τα χαρακτηριστικά απόδοσης αυτών των ξηραντήρων μπορούν να μελετηθούν υποθέτοντας ότι ο ξηραντήρας λειτουργεί αδιαβατικά. Δυο σημαντικές προϋποθέσεις ισχύουν ήδη για να είναι η υπόθεση πιο αληθινή: ο ξηραντήρας είναι ασυνεχούς λειτουργίας και είναι μονωμένος. Με την υπόθεση αυτή, η θερμοκρασία του υλικού κατά την περίοδο σταθερού ρυθμού θα είναι ίδια με τη θερμοκρασία υγρού βολβού του εισερχόμενου αέρα. Κατά τη περίοδο ελαττούμενου ρυθμού, η θερμοκρασία του υλικού αυξάνει. Γι' αυτό θερμοευαίσθητα υλικά μπορούν να ξηραθούν, χρησιμοποιώντας μια υψηλότερη θερμοκρασία ξηρού βολβού του εισερχόμενου αέρα κατά τη περίοδο σταθερού ρυθμού και μια χαμηλότερη θερμοκρασία κατά τη περίοδο ελαττούμενου ρυθμού.

Αυτοί οι ξηραντήρες ειδικά χρησιμοποιούνται για μικρές παρτίδες ή για ξήρανση υλικών που πρέπει να ξηραθούν αργά και έτσι ο χρόνος ξήρανσης θα είναι μεγάλος. Ο ξηραντήρας πρέπει να είναι όσο το δυνατόν πιο εργονομικός, δηλαδή να μπορεί να λειτουργεί κάτω από συνθήκες όσο το δυνατόν μεγαλύτερου ρυθμού ξήρανσης. Όταν το υλικό τοποθετείται στα ράφια, ανάλογα και με τη φύση του υλικού, η ξήρανση λαμβάνει χώρα και από τις δυο μεριές των ραφιών ή καλύτερα και ενδιάμεσα^[26].

2.3.2 Επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση

Η ηλιακή ξήρανση είναι η συνηθέστερα χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τη διατήρηση των γεωργικών προϊόντων όπως δημητριακά, φρούτα και λαχανικά στις περισσότερες αναπτυσσόμενες χώρες. Ωστόσο η ηλιακή ξήρανση υπό αντίξοες κλιματικές συνθήκες οδηγεί σε σοβαρές απώλειες στην ποσότητα και την ποιότητα του ξηρού προϊόντος^[33]. Οι απώλειες αυτές σχετίζονται επίσης με την μόλυνση από έντομα, τρωκτικά και τα ζώα. Ως εκ τούτου, η εισαγωγή ξηραντήρων που προσομοιάζουν με την ηλιακή ξήρανση στις αναπτυσσόμενες χώρες μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική μείωση των απωλειών των καλλιεργειών και σε βελτίωση της ποιότητας του ξηρού προϊόντος σε σύγκριση με την παραδοσιακή μέθοδο ηλιακής ξήρανσης^[34]. Οι ξηραντήρες που προσομοιάζουν με την ηλιακή ξήρανση κατατάσσονται σε τέσσερις κατηγορίες ανάλογα με το μηχανισμό με τον οποίο η ενέργεια που χρησιμοποιείται για την απομάκρυνση της υγρασίας μεταφέρεται στο προϊόν. Συγκεκριμένα:

- 1) Φυσικοί ηλιακοί ξηραντήρες: Το υλικό που πρόκειται να ξηραθεί τοποθετείται απευθείας κάτω από μεταβαλλόμενες κλιματολογικές συνθήκες όπως είναι η ηλιακή ακτινοβολία, η θερμοκρασία αέρα του περιβάλλοντος, η σχετική υγρασία και η ταχύτητα του ανέμου για την επίτευξη της ξήρανσης.
- 2) Άμεσοι ηλιακοί ξηραντήρες: Σε αυτό τον τύπο ξηραντήρα, το υλικό που πρόκειται να ξηραθεί τοποθετείται μέσα σε περίβλημα με διαφανή καλύμματα ή πλευρικά τμήματα. Η θερμότητα δημιουργείται από την απορρόφηση της ηλιακής ακτινοβολίας από το προϊόν και από τις εσωτερικές επιφάνειες του θαλάμου ξήρανσης. Αυτή η θερμότητα εξατμίζει την υγρασία από το προϊόν ξήρανσης και προάγει την φυσική κυκλοφορία του αέρα ξήρανσης.
- 3) Έμμεσοι ηλιακοί ξηραντήρες: Σε αυτό τον τύπο ξηραντήρα, ο αέρας θερμαίνεται πρώτα σε έναν ηλιακό θερμαντήρα αέρα και στη συνέχεια οδηγείται στο θάλαμο ξήρανσης.

4) Μικτού τύπου ηλιακοί ξηραντήρες: Η δράση της ηλιακής ακτινοβολίας απευθείας στο υλικό και ο προθερμασμένος αέρας προσκομίζουν την απαιτούμενη ενέργεια για τη διαδικασία ξήρανσης^[35].

Με βάση τους τύπους των ξηραντήρων, οι ξηραντήρες που προσομοιάζουν την ηλιακή ξήρανση χρησιμοποιούν την ηλιακή ενέργεια είτε ως μοναδική πηγή της απαιτούμενης θερμότητας ή ως συμπληρωματική πηγή. Η ροή του αέρα μπορεί να παράγεται είτε φυσικά είτε μέσω βεβιασμένης κυκλοφορίας. Η διαδικασία της θέρμανσης περιλαμβάνει τη διέλευση προθερμασμένου αέρα μέσα από το προϊόν ή την άμεση έκθεση σε ηλιακή ακτινοβολία ή έναν συνδυασμό και των δύο. Η κύρια απαίτηση είναι η μεταφορά της θερμότητας στο υγρό προϊόν με συναγωγή και αγωγή από την μάζα του περιβάλλοντα αέρα σε θερμοκρασίες πάνω από εκείνη του προϊόντος ή με ακτινοβολία από την πηγή ηλιακού φωτός^[36]. Η απορρόφηση της θερμότητας από το προϊόν παρέχει την αναγκαία ενέργεια για την εξάτμιση του νερού η οποία ισούται με περίπου 2,5 kJ^[37]. Η διαδικασία που λαμβάνει χώρα στην επιφάνεια του προϊόντος είναι απλώς η εξάτμιση. Το νερό αρχίζει να εξατμίζεται από την επιφάνεια του υγρού τροφίμου όταν η απορροφούμενη ενέργεια έχει αυξήσει αρκετά την θερμοκρασία του τροφίμου ώστε η τάση ατμών του νερού στην επιφάνεια του τροφίμου να ξεπερνά την μερική πίεση του αέρα. Η αναπλήρωση της υγρασίας της επιφάνειας του υλικού πραγματοποιείται μέσω διάχυσης από το εσωτερικό του και η διαδικασία αυτή εξαρτάται από τη φύση του προϊόντος και την περιεχόμενη υγρασία. Αν η διάχυση είναι αργή τότε καθίσταται ο περιοριστικός παράγοντας στην διεργασία της ξήρανσης αλλά αν η διάχυση είναι γρήγορη τότε το ελέγχον στάδιο είναι ο ρυθμός εξάτμισης από την επιφάνεια του προϊόντος^[36]. Στην ξήρανση με άμεση ακτινοβολία, μέρος της ηλιακής ακτινοβολίας διεισδύει στο υλικό και απορροφάται από αυτό με αποτέλεσμα να δημιουργείται θερμότητα στο εσωτερικό του υλικού καθώς και στην επιφάνεια ενισχύοντας έτσι την μεταφορά θερμότητας. Η απορρόφηση της ηλιακής ακτινοβολίας από το υλικό είναι σημαντικός παράγοντας στην άμεση ηλιακή ξήρανση. Τα περισσότερα γεωργικά προϊόντα έχουν υψηλή απορροφητικότητα η οποία μπορεί να αυξηθεί ή να μειωθεί καθώς η διεργασία της ξήρανσης προχωρά^[38].

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε ως ηλιακός ξηραντήρας η μονάδα γήρανσης των υλικών του εργαστηρίου Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών η οποία αποτελείται από 6 λάμπες UV που προσομοιώνουν την ηλιακή ακτινοβολία.

2.2 Εκχύλιση ωφέλιμων ενώσεων από φυτικές πρώτες ύλες

Η ζήτηση για φυσικά αντιοξειδωτικά έχει οδηγήσει την έρευνα προς την εκχύλιση αντιοξειδωτικών από φυτά και παραπροϊόντα της αγροτικής βιομηχανίας. Η εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών από παραπροϊόντα της αγροτικής βιομηχανίας αποτελεί μια οικονομικά αποδοτική και αποτελεσματική διαδικασία. Δεδομένου ότι η απόδοση των αντιοξειδωτικών ενώσεων από φυτικά υλικά επηρεάζεται κυρίως από τις συνθήκες υπό τις οποίες η μέθοδος διεξάγεται, πρέπει κανείς να βελτιστοποιήσει τη διαδικασία εκχύλισης. Μερικές από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες συμβατικές και νέες τεχνικές εκχύλισης αναφέρονται παρακάτω^[39,40].

2.2.1 Εκχύλιση στερεών με υγρό διαλύτη

Η εκχύλιση στερεών με υγρό διαλύτη είναι μια μη σταθερή διαδικασία μεταφοράς μάζας η οποία περιλαμβάνει την απομάκρυνση του επιθυμητού συστατικού από την στερεά μήτρα χρησιμοποιώντας έναν οργανικό διαλύτη ικανό για να διαλύει την επιθυμητή διαλυμένη ουσία. Μια σειρά από βήματα απαιτούνται για τη μεταφορά μάζας των διαλυμένων ουσιών από τη στερεά μήτρα προς τον διαλύτη:

1. διείσδυση του διαλύτη μέσα στη στερεά μήτρα
2. διαλυτοποίηση των συστατικών
3. μεταφορά της διαλυμένης ουσίας προς το εξωτερικό της στερεάς μήτρας
4. μετακίνηση της διαλυμένης ουσίας από τη στερεά επιφάνεια εντός του όγκου του διαλύτη^[41]

Η εκχύλιση βιοδραστικών ενώσεων από φυτικές πρώτες ύλες είναι το πρώτο βήμα για την χρησιμοποίησή τους στην παρασκευή συμπληρωμάτων διατροφής, φαρμακευτικών και καλλυντικών προϊόντων καθώς και στη χρήση τους ως συστατικά τροφίμων. Οι φαινολικές ενώσεις μπορούν να εκχυλιστούν από φρέσκα ή αποξηραμένα φυτικά δείγματα. Συνήθως πριν από την εκχύλιση τα δείγματα ξηραίνονται σε ρεύμα αέρα ή πραγματοποιείται ξήρανση με κατάψυξη (ανάλογα με την ευαισθησία των βιοδραστικών συστατικών) και στη συνέχεια αλέθονται και ομογενοποιούνται^[42]. Ωστόσο, επειδή οι διεργασίες ξήρανσης συμπεριλαμβανομένης της ξήρανσης με κατάψυξη μπορούν να προκαλέσουν ανεπιθύμητες επιπτώσεις στα συστατικά των φυτικών δειγμάτων, θα πρέπει να δίνεται προσοχή κατά το σχεδιασμό και την ανάλυση της έρευνας σχετικά με τις θεραπευτικές ιδιότητες των φυτών^[43].

Η εκχύλιση με χρήση διαλυτών είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη διεργασία για την παρασκευή εκχυλισμάτων από φυτικές πρώτες ύλες λόγω της ευκολίας χρήσης της, της αποτελεσματικότητας και της ευρείας εφαρμογής της. Είναι γενικά γνωστό ότι η απόδοση της εκχύλισης με χρήση διαλυτών εξαρτάται από τον τύπο των διαλυτών με βάση τις πολικότητες τους, τον χρόνο εκχύλισης, την θερμοκρασία, την αναλογία δείγματος προς διαλύτη καθώς και από τη χημική σύνθεση και τα φυσικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων. Η διαλυτότητα των φαινολικών ενώσεων διέπεται από τη χημική φύση του φυτικού δείγματος καθώς επίσης και από την πολικότητα των διαλυτών που χρησιμοποιούνται.

Τα φυτικά υλικά μπορεί να περιέχουν φαινολικές ενώσεις που κυμαίνονται από απλές όπως φαινολικά οξέα και ανθοκυανίνες έως υψηλά πολυμερισμένες ουσίες όπως τανίνες σε διαφορετικές ποσότητες. Επιπλέον οι φαινολικές ενώσεις μπορούν επίσης να συνδέονται με άλλα φυτικά συστατικά όπως υδατάνθρακες και πρωτεΐνες. Ως εκ τούτου, δεν υπάρχει καμία καθολική διαδικασία εκχύλισης κατάλληλη για την εξαγωγή όλων των φυτικών φαινολικών ενώσεων. Ανάλογα με το σύστημα διαλύτη που χρησιμοποιείται κατά τη διάρκεια της εκχύλισης, ένα μίγμα φαινολικών ενώσεων διαλυτών στον διαλύτη θα εξαχθεί από τα φυτικά υλικά. Το μίγμα αυτό μπορεί επίσης να περιέχει ορισμένες μη φαινολικές ουσίες όπως σάκχαρα, οργανικά οξέα και λίπη. Ως εκ τούτου, πρόσθετα βήματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αφαίρεση των ανεπιθύμητων συστατικών^[44].

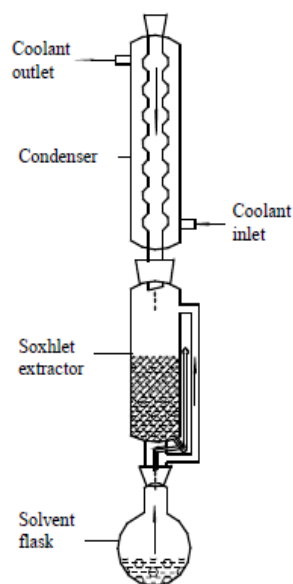
2.2.2 Εκχύλιση με μέθοδο Soxhlet

2.2.2.1 Αρχές και μηχανισμοί εκχύλισης Soxhlet

Οι κλασικές τεχνικές εκχύλισης φαρμακοδιατροφικών ουσιών με διαλύτη από φυτικές πρώτες ύλες βασίζονται στην επιλογή διαλύτη σε συνδυασμό με τη χρήση θερμότητας ή διέγερσης.

Η εκχύλιση Soxhlet, η οποία έχει χρησιμοποιηθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα, είναι μια πρότυπη τεχνική και το κύριο σημείο αναφοράς για την αξιολόγηση της απόδοσης των άλλων μεθόδων εκχύλισης στερεού-υγρού. Η εκχύλιση Soxhlet είναι μια γενική και καθιερωμένη τεχνική η οποία ξεπερνά σε απόδοση άλλες συμβατικές τεχνικές εκχύλισης με εξαίρεση την εκχύλιση θερμοευαίσθητων ενώσεων.

Σε ένα συμβατικό σύστημα Soxhlet όπως εμφανίζεται στην εικόνα 8, το φυτικό υλικό τοποθετείται σε μία «δακτυλήθρα» η οποία γεμίζεται με συμπυκνωμένο φρέσκο διαλύτη από μία φιάλη απόσταξης. Όταν το υγρό φθάσει στο επίπεδο υπερχειλίσης, ένα σιφόνι αναρροφά το διάλυμα της «δακτυλήθρας» και αδειάζει τον διαλυτή πίσω στη φιάλη απόσταξης, μεταφέροντας τις εκχυλισμένες διαλυμένες ουσίες εντός της μάζας του υγρού. Στη φιάλη του διαλύτη, οι διαλυμένες ουσίες διαχωρίζονται από τον διαλύτη μέσω της μεθόδου απόσταξης. Οι διαλυμένες ουσίες αφήνονται στη φιάλη και φρέσκος διαλύτης λόγω της θέρμανσης περνά σε μορφή ατμού στον συμπυκνωτήρα και πέφτει στη δακτυλήθρα για να γίνει εκ νέου σιφονισμός. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται έως ότου ολοκληρωθεί η εκχύλιση^[45].



Εικόνα 8. Πειραματική συσκευή εκχύλισης Soxhlet

2.2.2.2 Επιλογή διαλύτη

Οι διαλύτες, όπως μεθανόλη, αιθανόλη, ακετόνη, οξικός αιθυλεστέρας και οι συνδυασμοί τους έχουν χρησιμοποιηθεί για την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από φυτικά υλικά, συχνά με διαφορετικές αναλογίες νερού. Η επιλογή του σωστού διαλύτη επηρεάζει την ποσότητα και το ρυθμό εκχύλισης των πολυφαινολών^[44]. Πιο

συγκεκριμένα, η μεθανόλη έχει βρεθεί να είναι πιο αποτελεσματική στην εκχύλιση χαμηλού μοριακού βάρους πολυφαινολών ενώ οι υψηλότερου μοριακού βάρους φλαβανόλες είναι καλύτερα να εκχυλίζονται με υδατικό διάλυμα ακετόνης. Η αιθανόλη είναι ένας καλός διαλύτης για την εκχύλιση πολυφαινολών και είναι ασφαλής για την κατανάλωση από τον άνθρωπο. Για την απομόνωση εκχυλίσματος πλούσιο σε ανθοκυανίνες κατάλληλη θεωρείται η χρήση μεθανόλης ή αιθανόλης ως διαλύτη. Αυτοί οι διαλύτες αποδιατάσσουν τις κυτταρικές μεμβράνες και ταυτόχρονα διαλύουν τις ανθοκυανίνες και τις σταθεροποιούν^[46].

2.2.2.3 Χαρακτηριστικά μήτρας

Η εκχύλιση εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τα χαρακτηριστικά της μήτρας και το μέγεθος των σωματιδίων καθώς η εσωτερική διάχυση μπορεί να περιορίσει τη διάρκεια της εκχύλισης^[47].

2.2.2.4 Συνθήκες λειτουργίας

Κατά τη διάρκεια της εκχύλισης Soxhlet, ο διαλύτης συνήθως ανακτάται με εξάτμιση. Οι θερμοκρασίες εκχύλισης και εξάτμισης έχουν σημαντική επίδραση στην ποιότητα του εκχυλίσματος. Η υψηλή θερμοκρασία βρασμού για ανάκτηση του διαλύτη μπορεί να μειωθεί με τη χρήση κενού ή μεμβράνης διαχωρισμού για την ανάκτησή του^[48].

2.2.2.5 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα εκχύλισης Soxhlet

Τα πλεονεκτήματα της συμβατικής εκχύλισης Soxhlet περιλαμβάνουν:

- ✓ Μετατόπιση της κατάστασης ισορροπίας καθώς έρχεται επανειλημμένα φρέσκος διαλύτης σε επαφή με το φυτικό υλικό.
- ✓ Το σύστημα παραμένει σε σχετικά υψηλή θερμοκρασία εξαιτίας της διαρκούς θέρμανσης της φιάλης αποστάξεως από τον μανδύα.
- ✓ Δεν απαιτείται διήθηση μετά το πέρας της εκχύλισης.
- ✓ Η Soxhlet χαρακτηρίζεται ως απλή και φθηνή μέθοδος εκχύλισης.

Τα μειονεκτήματα της συμβατικής εκχύλισης Soxhlet περιλαμβάνουν:

- ✓ Μεγάλος χρόνος εκχύλισης.
- ✓ Μεγάλη ποσότητα διαλύτη που χρησιμοποιείται.
- ✓ Δεν μπορεί να παρασχεθεί ανάδευση στη συσκευή Soxhlet ώστε να επιταχυνθεί η διαδικασία.
- ✓ Για την παραλαβή του εκχυλίσματος απαιτείται εξάτμιση της ποσότητας του διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε.
- ✓ Η δυνατότητα θερμικής υποβάθμισης των ενώσεων που ενδιαφέρουν να απομονωθούν καθώς η εκχύλιση πραγματοποιείται συνήθως στο σημείο βρασμού του διαλύτη για μεγάλο χρονικό διάστημα^[45].

Έτσι η μεγάλη απαίτηση χρόνου και η απαίτηση μεγάλων ποσοτήτων διαλύτη καθιστά τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης Soxhlet λιγότερο ελκυστική σε σύγκριση με νέες μεθόδους εκχύλισης.

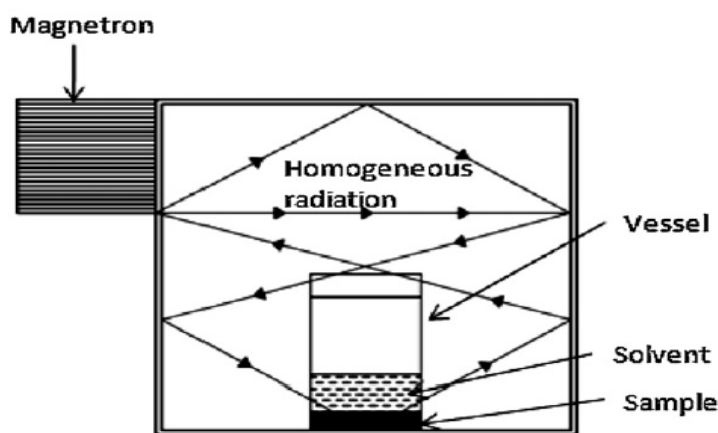
2.2.3 Εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα

2.2.3.1 Αρχές και μηχανισμοί εκχύλισης υποβοηθούμενη από μικροκύματα

Τα μικροκύματα είναι ηλεκτρομαγνητικές ακτινοβολίες με συχνότητα 0,3 έως 300 GHz. Οικιακά και βιομηχανικά μικροκύματα γενικά λειτουργούν σε 2,45 GHz και περιστασιακά σε 0,915 GHz στις ΗΠΑ και σε 0,896 GHz στην Ευρώπη. Τα μικροκύματα μεταδίδονται σαν κύματα τα οποία μπορούν να διαπερνούν βιολογικά και να αλληλεπιδρούν με πολικά μόρια όπως το νερό δημιουργώντας θερμότητα. Κατά συνέπεια, τα μικροκύματα μπορούν να θερμάνουν ένα ολόκληρο υλικό διεισδύοντας σε βάθος ταυτόχρονα.

Η υποβοηθούμενη από μικροκύματα εκχύλιση προσφέρει μια γρήγορη παροχή ενέργειας στον συνολικό όγκο του διαλύτη και της στερεάς φυτικής μήτρας με επακόλουθη τη θέρμανση του διαλύτη και της στερεάς μήτρας αποτελεσματικά και ομοιόμορφα. Επειδή το νερό μέσα στο φυτό απορροφά την ενέργεια των μικροκυμάτων, προκαλείται κυτταρική διάσπαση από την εσωτερική υπερθέρμανση η οποία διευκολύνει την εκρόφιση των συστατικών από τη μήτρα^[49]. Επιπλέον, η μετανάστευση των διαλυμένων ιόντων αυξάνει την διείσδυση του διαλύτη μέσα στην μήτρα και έτσι διευκολύνεται η απελευθέρωση των χημικών ουσιών. Η επίδραση της ενέργειας μικροκυμάτων σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με την διηλεκτρική επιδεκτικότητα τόσο του διαλύτη όσο και της στερεάς φυτικής μήτρας.

Υπάρχουν δύο τύποι εμπορικών διαθέσιμων συστημάτων εκχύλισης με μικροκύματα: τα κλειστά δοχεία εκχύλισης υπό ελεγχόμενες συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας, και οι εστιασμένοι φούρνοι μικροκυμάτων σε ατμοσφαιρική πίεση^[50]. Το κλειστό σύστημα εκχύλισης με μικροκύματα χρησιμοποιείται γενικά για την εκχύλιση υπό δραστικές συνθήκες, όπως υψηλή θερμοκρασία εκχύλισης. Η πίεση στο δοχείο εξαρτάται ουσιαστικά από τον όγκο και το σημείο ζέσεως των διαλυτών. Το εστιασμένο σύστημα μπορεί να λειτουργεί σε ένα μέγιστο όριο θερμοκρασίας που καθορίζεται από το σημείο ζέσεως του διαλύτη σε ατμοσφαιρική πίεση^[51].



Εικόνα 9. Συσκευή εκχύλισης με μικροκύματα

2.2.3.2 Επιλογή διαλύτη

Η επιλογή του διαλύτη που ενδείκνυται για εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα υπαγορεύεται από την διαλυτότητα των εκχυλισμένων ουσιών που ενδιαφέρουν σε κάθε περίπτωση στο διαλύτη, από την αλληλεπίδραση μεταξύ διαλύτη και φυτικής μήτρας και τέλος από την ιδιότητα του διαλύτη να απορροφά τα μικροκύματα που προσδιορίζεται με βάση τη διηλεκτρική του σταθερά. Διαλύτες όπως η αιθανόλη, η μεθανόλη και το νερό είναι επαρκώς πολικοί ώστε να θερμαίνονται με την ενέργεια των μικροκυμάτων^[52].

2.2.3.3 Χαρακτηριστικά μήτρας

Η εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα εξαρτάται από την διηλεκτρική επιδεκτικότητα του διαλύτη και της μήτρας και ως εκ τούτου καλύτερες ανακτήσεις μπορούν να ληφθούν με ύγρανση δειγμάτων με μια ουσία που έχει σχετικά υψηλή διηλεκτρική σταθερά, όπως το νερό. Η θέρμανση του νερού της μήτρας από τα μικροκύματα οδηγεί σε ρήξη των κυτταρικών τοιχωμάτων και ακολουθεί απελευθέρωση των χημικών ουσιών στο διαλύτη^[53]. Σε αυτήν την περίπτωση, ο διαλύτης που περιβάλλει τη στερεά φυτική μήτρα πρέπει να έχει χαμηλή διηλεκτρική σταθερά ώστε να παραμένει κρύος κατά τη διάρκεια της εκχύλισης. Αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εξαγωγή θερμοευαίσθητων ενώσεων όπως τα αιθέρια έλαια.

Επίσης το φυτικό υλικό όταν βρίσκεται υπό μορφή σκόνης μπορεί να ενισχύσει την εκχύλιση επειδή το στάδιο περιορισμού της είναι συχνά η διάχυση των χημικών ουσιών από τη μήτρα των φυτών^[52].

2.2.3.4 Συνθήκες λειτουργίας

Κατά τη διάρκεια της εκχύλισης, ο όγκος του διαλύτη πρέπει να είναι επαρκής ώστε να εξασφαλιστεί ότι η στερεά μήτρα είναι εντελώς βυθισμένη. Η θερμοκρασία είναι ένας άλλος σημαντικός παράγοντας που συμβάλλει στην απόδοση της εκχύλισης. Σε γενικές γραμμές οι υψηλές θερμοκρασίες έχουν ως αποτέλεσμα τη βελτίωση της απόδοσης της εκχύλισης. Ωστόσο, κατά την εκχύλιση θερμοευαίσθητων ενώσεων οι υψηλές θερμοκρασίες μπορούν να προκαλέσουν αποικοδόμηση των εκχυλισμάτων. Στην περίπτωση αυτή, η ισχύς πρέπει να επιλεγεί σωστά για να αποφευχθεί η περίσσεια θερμοκρασίας που οδηγεί σε υποβάθμιση της διαλυμένης ουσίας^[54].

2.2.3.4 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα εκχύλισης υποβοηθούμενη από μικροκύματα

Η εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα θεωρείται ως μια πιθανή εναλλακτική μέθοδος έναντι της συμβατικής εκχύλισης Soxhlet καθώς παρουσιάζει:

- ✓ Μικρότερο χρόνο εκχύλισης.
- ✓ Μικρότερη ποσότητα διαλύτη.
- ✓ Βελτιωμένη απόδοση εκχύλισης.
- ✓ Απλή χρήση και χαμηλό κόστος.

Τα αντίστοιχα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι:

- ✓ Μειωμένη αποτελεσματικότητα στην περίπτωση που οι διαλύτες εκχύλισης είναι μη πολικοί ή οι ενώσεις- στόχοι είναι ασταθείς^[55].

2.2.4 Εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερήχους

2.2.4.1 Αρχές και μηχανισμοί εκχύλισης υποβοηθούμενη από υπερήχους

Τα ηχητικά κύματα, τα οποία έχουν συχνότητες υψηλότερες από 20 kHz, είναι μηχανικές δονήσεις σε ένα στερεό, υγρό και αέριο μέσο. Σε αντίθεση με τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα, τα ηχητικά κύματα περιλαμβάνουν κύκλους διαστολής και συμπίεσης κατά τη μετάδοση τους στο μέσο. Η διαστολή δημιουργεί φυσαλίδες στο διαλύτη οι οποίες παράγουν αρνητική πίεση. Οι φυσαλίδες σχηματίζονται μεγαλώνουν και τελικά καταρρέουν. Κοντά στην επιφάνεια του στερεού, η κοιλότητα κατάρρευσης είναι ασύμμετρη και παράγει πίδακες υγρού υψηλής ταχύτητας. Οι πίδακες υγρού έχουν ισχυρό αντίκτυπο στην στερεή επιφάνεια^[56].

Υπάρχουν δύο τύποι εμπορικών διαθέσιμων συστημάτων εκχύλισης με υπερήχους: τα λουτρά υπερήχων και τα κλειστά συστήματα εκχύλισης με πομπό υπερήχων. Οι μηχανικές επιδράσεις των υπερήχων προκαλούν διείδυση του διαλύτη μέσα στα κυτταρικά υλικά και βελτιώνουν την μεταφορά μάζας. Οι υπέρηχοι επίσης καταστρέφουν τα κυτταρικά τοιχώματα και ελευθερώνονται οι ουσίες. Σε αντίθεση με τις συμβατικές εκχυλίσεις, τα φυτικά εκχυλίσματα διαχέονται κατά μήκος των κυτταρικών τοιχωμάτων λόγω των υπερήχων προκαλώντας ρήξη των κυττάρων σε συντομότερο χρόνο^[57].

2.2.4.2 Συνθήκες λειτουργίας

Η χρήση των υπερήχων επιτρέπει αλλαγές στις συνθήκες εκχύλισης όπως μείωση της θερμοκρασίας και της πίεσης σε σχέση με αυτές που χρησιμοποιούνται σε εκχυλίσεις χωρίς υπέρηχους. Η χρήση εκχύλισης υποβοηθούμενης από υπερήχους συνιστάται για θερμοασταθείς ενώσεις οι οποίες μπορεί να αποικοδομηθούν κατά την εκχύλιση Soxhlet λόγω της υψηλής θερμοκρασίας εκχύλισης. Ωστόσο, θα πρέπει να σημειωθεί ότι οι υπέρηχοι παράγουν θερμότητα και έτσι είναι σημαντικό να ελέγχεται με ακρίβεια η θερμοκρασία εκχύλισης. Τέλος, ο χρόνος εκχύλισης με υπερήχους πρέπει επίσης να εξεταστεί προσεκτικά καθώς η εκτεταμένη έκθεση σε υπερήχους μπορεί να βλάψει την ποιότητα του εκχυλίσματος^[58].

2.2.4.3 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα εκχύλισης υποβοηθούμενη από υπερήχους

Τα πλεονεκτήματα της εκχύλισης υποβοηθούμενης από υπερήχους περιλαμβάνουν:

- ✓ Απλή, φθηνή και αποτελεσματική μέθοδος σε σχέση με τις συμβατικές τεχνικές εκχύλισης.
- ✓ Αύξηση απόδοσης εκχύλισης και ταχύτερη κινητική.
- ✓ Μείωση της θερμοκρασίας εκχύλισης με αποτέλεσμα να επιτρέπεται η εκχύλιση θερμοευαίσθητων ενώσεων.

- ✓ Χρήση οποιουδήποτε διαλύτη για την εκχύλιση ευρείας ποικιλίας φυσικών ενώσεων.

Τα αντίστοιχα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι:

- ✓ Η εξάρτηση της απόδοσης και της κινητικής εκχύλισης από τη φύση της μήτρας του υλικού.
- ✓ Η παρουσία διασπαρμένης φάσης συμβάλλει στην εξασθένηση του κύματος των υπερήχων καθώς το ενεργό μέρος των υπερήχων εντός του εκχυλιστήρα περιορίζεται σε μια ζώνη που βρίσκεται στην περιοχή του υπερηχητικού πομπού^[55].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ

3.1 Ελεύθερες ρίζες

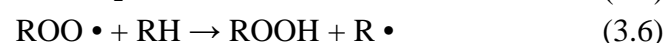
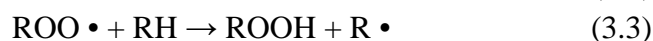
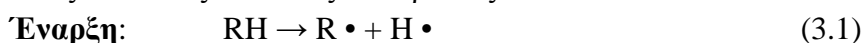
Η οξειδωση των λιπαρών είναι μια διαδικασία με επιβλαβείς επιδράσεις που συμβαίνει στα τρόφιμα και στα μεταβολικά ενεργά κύτταρα του σώματος. Στα τρόφιμα μπορεί να οδηγήσει σε ταγγισμό, σε απώλεια θρεπτικής αξίας, γεύσης, οσμής, σε αλλοίωση και σε πιθανή τοξικότητα. Στο κύτταρο, ωστόσο η οξειδωση των λιπαρών και τα προϊόντα της οξειδωσης συνδέονται με κυτταρικές βλάβες και με εμφάνιση κυτταροτοξικότητας. Αυτό οφείλεται στις αλλαγές στη δομή της μεμβράνης με αποτέλεσμα να αυξάνεται η διαπερατότητα των μεμβρανών. Ως αποτέλεσμα προκαλούνται βλάβες σε σημαντικά βιολογικά μόρια όπως το DNA και η πρωτεΐνες με συνέπεια να εμφανίζονται ασθένειες όπως η αθηροσκλήρωση και ο καρκίνος^[59].

Η οξειδωση των λιπαρών οδηγεί σε παραγωγή ελευθέρων ριζών. Ως ελεύθερη ρίζα ορίζεται οποιοδήποτε μοριακό είδος ικανό να υπάρξει ανεξάρτητο και να περιέχει ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο σε μια ατομική τροχιά. Υπάρχουν αρκετοί μέθοδοι που οδηγούν στην οξειδωση των λιπαρών συμπεριλαμβανομένης της αυτοοξειδωσης, φωτοοξειδωσης και λιπόλυσης^[60].

3.2 Οξείδωση λιπαρών

3.2.1 Αυτοοξείδωση λιπαρών

Η αυτοοξείδωση είναι μια φυσική διαδικασία που λαμβάνει χώρα μεταξύ του μοριακού οξυγόνου και των ακόρεστων λιπαρών. Η διαδικασία της αυτοοξείδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών στα τρόφιμα περιλαμβάνει μια αλυσιδωτή αντίδραση ελευθέρων ριζών που γενικά καταλύεται από την έκθεση των λιπαρών στο φως, τη θερμότητα, την ιονίζουσα ακτινοβολία, τα μεταλλικά ιόντα ή τις μεταλλοπρωτεΐνες. Το ένζυμο λιποξυγεννάση μπορεί επίσης να καταλύσει την οξείδωση. Η κλασική διαδρομή της αυτοοξειδώσεως περιλαμβάνει τις αντιδράσεις έναρξης (παραγωγή ελευθέρων ριζών), διάδοσης και τερματισμού (παραγωγή μη ριζικών προϊόντων) όπως απεικονίζονται στις αντιδράσεις 3.1- 3.6^[61].



Όπου RH: ακόρεστα λιπαρά οξέα

R·, ROO·: ελεύθερες ρίζες

ROOH: υπεροξειδία

Το στάδιο έναρξης συμβαίνει όταν ένα ακόρεστο λιπαρό (RH) χάνει ένα άτομο υδρογόνου σχηματίζοντας μια ελεύθερη ρίζα (R·). Οι ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται αντιδρούν με το οξυγόνο στο στάδιο της διάδοσης και σχηματίζουν μια ασταθή υπεροξυλική ρίζα (ROO·) η οποία αποσπά το υδρογόνο από ένα άλλο

ακόρεστο λιπαρό με αποτέλεσμα να σχηματίζεται το ασταθές υπεροξειδίο (ROOH), το πρωτοταγές προϊόν αυτοοξειδωσης, και μια άλλη ελεύθερη ρίζα. Οι νέες ομάδες (R•) αντιδρούν με το οξυγόνο και η αλληλουχία των αντιδράσεων που μόλις περιγράφηκε επαναλαμβάνεται. Αυτή η αλυσιδωτή αντίδραση συνεχίζεται μέχρις ότου η ακόρεστη ένωση εξαντληθεί ή οι ελεύθερες ρίζες αδρανοποιηθούν η μία με την άλλη. Η αντίδραση διάδοσης καθίσταται μία συνεχής διαδικασία όσο τα ακόρεστα λιπαρά οξέα είναι διαθέσιμα^[62]. Τα μέταλλα μετάπτωσης επιταχύνουν την υποβάθμιση των λιπαρών στα τρόφιμα καθώς δρουν ως ισχυροί καταλύτες της αυτοοξειδωσης. Συγκεκριμένα, δρουν ως εκκινητές της αλυσιδωτής αντίδρασης ελευθέρων ριζών καθώς μεταφέρουν τα ηλεκτρόνια^[63].

3.3 Αντιοξειδωτικά

Ως αντιοξειδωτικό ορίζεται κάθε ουσία η οποία όταν υπάρχει σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε σύγκριση με τη συγκέντρωση ενός οξειδούμενου υποστρώματος, καθυστερεί σημαντικά ή αναστέλλει την οξείδωσή του. Ο φυσιολογικός ρόλος των αντιοξειδωτικών είναι να αποτρέπουν την καταστροφή των κυτταρικών συστατικών που προκύπτει ως συνέπεια των χημικών αντιδράσεων με ελεύθερες ρίζες^[60]. Τα αντιοξειδωτικά δίνουν ηλεκτρόνια στις ελεύθερες ρίζες ή αδρανοποιούν τα χημικά ενδιάμεσα που παράγουν ελεύθερες ρίζες. Τα αντιοξειδωτικά μπορούν να παρέμβουν στην διαδικασία οξείδωσης αντιδρώντας με τις ελεύθερες ρίζες με έναν ή περισσότερους από τους ακόλουθους τρόπους: (I) ως αναγωγικοί παράγοντες, (II) ως απενεργοποιητές της ελεύθερης ρίζας, (III) ως χηλικοποιητές μετάλλων (IV) ως δεσμευτές οξυγόνου. Για να είναι ένα αντιοξειδωτικό αποτελεσματικό πρέπει να:

- ✓ Ανταγωνίζεται αποτελεσματικά με το υπόστρωμα για την ενεργή διάμεση ουσία
- ✓ Αναγεννιέται γρήγορα από το βιολογικό σύστημα. Αν το αντιοξειδωτικό καταστρέφεται ανεπανόρθωτα σε κάθε επαφή με τα οξειδωτικά είδη τότε το σύστημα γρήγορα θα φτάσει σε μια κατάσταση όπου δεν θα προστατεύεται πλέον.
- ✓ Είναι προσβάσιμο στην ενεργή διάμεση ουσία στο μικροπεριβάλλον. Δηλαδή το αντιοξειδωτικό θα πρέπει να βρίσκεται στο ίδιο μικροπεριβάλλον με τις οξειδωτικές ρίζες
- ✓ Είναι σχετικά αδρανές προς το υπόστρωμα. Τα προϊόντα δεν πρέπει να είναι τοξικά για το σύστημα και δεν πρέπει να λαμβάνουν μέρος στην αντίδραση^[64].

Τα αντιοξειδωτικά παρέχονται μέσω της διατροφής ή παράγονται από τον οργανισμό. Τα αντιοξειδωτικά δεν μπορούν να αναστείλουν τις βλάβες που προέρχονται από αντιδράσεις οξείδωσης αλλά μπορούν να καθυστερήσουν την πρόοδο τους. Οι βλάβες που οδηγούν σε χρόνιες ασθένειες είναι αθροιστικές και εμφανίζονται κατά την διάρκεια δεκαετιών. Είναι πολύ σημαντικό το γεγονός ότι οι απαιτήσεις σε αντιοξειδωτικά πρέπει να πληρούνται σε καθημερινή βάση ώστε να επιβραδυνθούν οι βλάβες οι οποίες συσσωρεύονται κατά τη διάρκεια της ζωής^[65].

3.3.1 Κατηγοριοποίηση αντιοξειδωτικών

Τα αντιοξειδωτικά μπορούν να ταξινομηθούν σε πρωτοταγή αντιοξειδωτικά και δευτεροταγή αντιοξειδωτικά σύμφωνα με τον μηχανισμό με τον οποίο αυτά εμποδίζουν ή επιβραδύνουν την διαδικασία οξείδωσης^[66]. Τα πρωτοταγή αντιοξειδωτικά διακόπτουν την οξείδωση δίνοντας υδρογόνα ή ηλεκτρόνια στις ελεύθερες ρίζες ($R\bullet$, $ROO\bullet$, $RO\bullet$) με αποτέλεσμα να σχηματίζονται σταθερά προϊόντα όπως αυτό της ελεύθερης αντιοξειδωτικής ρίζας ($A\bullet$). Τα δευτεροταγή αντιοξειδωτικά αναστέλλουν την οξείδωση των λιπαρών καθυστερώντας τον ρυθμό οξείδωσης και όχι σταματώντας την αλυσιδωτή αντίδραση ελευθέρων ριζών. Ορισμένα αντιοξειδωτικά μπορεί να εμφανίζουν περισσότερους από ένα μηχανισμό και ως εκ τούτου ονομάζονται αντιοξειδωτικά πολλαπλών λειτουργιών^[65].

Οι αντιοξειδωτικές ενώσεις φυσικά κατανέμονται με βάση τη διαλυτότητα τους σε δύο κατηγορίες: τα υδατοδιαλυτά αντιοξειδωτικά όπως το ασκορβικό οξύ, φαινολικές ενώσεις (φλαβονοειδή) και τα λιποδιαλυτά αντιοξειδωτικά όπως η βιταμίνη E και τα καροτενοειδή^[67].

3.3.2 Μηχανισμοί δράσης αντιοξειδωτικών

Απενεργοποίηση ελευθέρων ριζών: Η αντίδραση του απενεργοποιητή με μια ενδιάμεση ελεύθερη ρίζα και ο σχηματισμός περισσότερο ή λιγότερο σταθερής ρίζας συνήθως οδηγεί σε τελικά προϊόντα τα οποία διαφέρουν από τα προϊόντα απουσία του απενεργοποιητή. Οι απενεργοποιητές ριζών συνήθως δίνουν ένα ηλεκτρόνιο στο μονήρες ηλεκτρόνιο της ελεύθερης ρίζας και έτσι τις μειώνουν. Οι πολυφαινόλες είναι πολύ δραστικοί απενεργοποιητές ελευθέρων ριζών όπως τα φλαβονοειδή, το ασκορβικό οξύ και η τοκοφερόλη οφείλοντας την δράση τους σε αυτόν το μηχανισμό^[68].

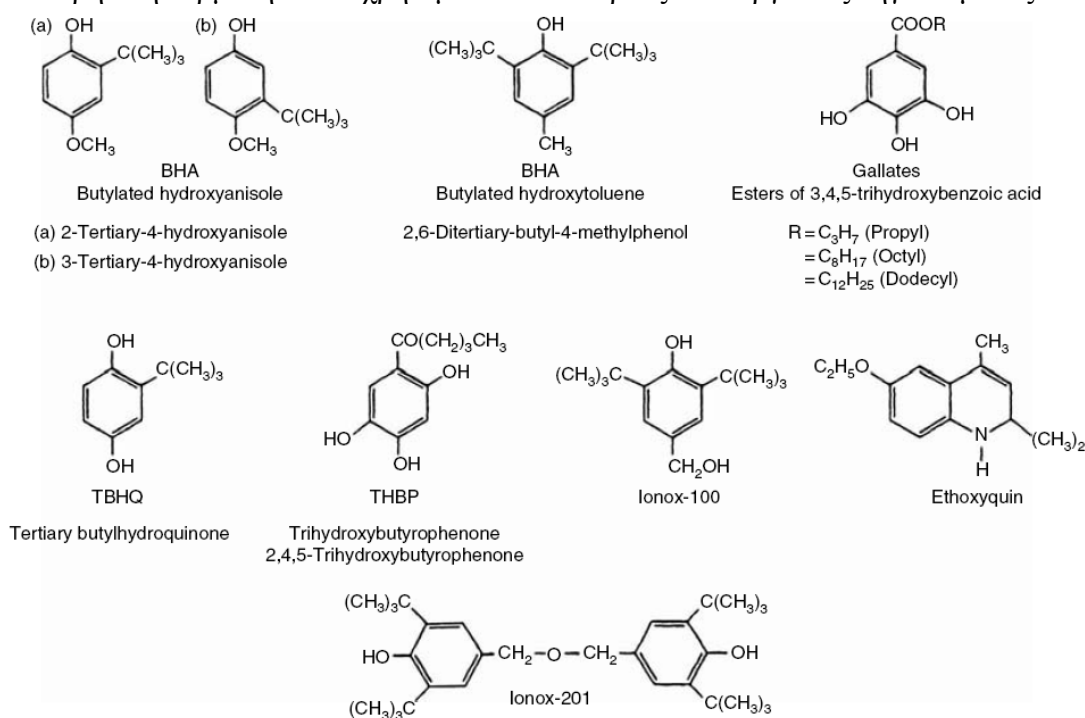
Αποδιέγερση του μονήρους οξυγόνου: Το μονήρες οξυγόνο είναι ένα μόριο υψηλής ενέργειας υπεύθυνο για την φωτοοξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων και την επακόλουθη παραγωγή υδροϋπεροξειδίων. Οι αποδιεγέρτες του μονήρους οξυγόνου καταστρέφουν το μονήρες οξυγόνο και διαχέουν την ενέργεια με τη μορφή θερμότητας. Τα καροτενοειδή συμπεριλαμβανομένων του β-καροτένιου, του λυκοπένιου και της λουτεΐνης δραστηριοποιούνται ως αποδιεγέρτες του μονήρους οξυγόνου^[69].

Χηλικοποίηση μετάλλου: Οι περισσότερες αντιδράσεις οξείδωσης εξαρτώνται από τη διαθεσιμότητα σε μέταλλα. Η παρέμβαση στην διαδικασία κατάλυσης μέσω χηλικοποίησης έχει ισχυρή επίδραση στην πρόοδο της αντίδρασης ριζών. Οι μεταλλικοί χηλικοί παράγοντες επιδρούν αυξάνοντας την οξειδωτική σταθερότητα μέσω της παρεμπόδισης των προοξειδωτικών μεταλλικών ιόντων και έτσι περιορίζουν τον σχηματισμό των εκκινητών της αλυσιδωτής αντίδρασης καθώς εμποδίζουν την ομόλυση των υπεροξειδίων που καταλύεται από μέταλλα. Πολλές χηλικές μεταλλικές ουσίες βρίσκονται στα τρόφιμα ειδικά στις φυτικές πρώτες ύλες. Τα άλατα του φυτικού οξέος, τα φωσφολιπίδια και τα οξαλικά είναι οι πιο κοινός εκπρόσωποι αυτής της ομάδας. Επίσης, το φωσφορικό, κιτρικό, τρυγικό, καφεϊκό, μηλικό και ασκορβικό οξύ προσφέρονται ως χηλικοί παράγοντες^[70].

Συνέργεια: Η συνέργεια παίζει σημαντικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα των αντιοξειδωτικών. Τα συνεργικά αντιοξειδωτικά μπορούν να διακριθούν ως απενεργοποιητές ή χηλικοί παράγοντες. Αυτά λειτουργούν συνδυάζοντας διαφορετικούς μηχανισμούς. Σε αυτή την περίπτωση, τα αντιοξειδωτικά είναι πιο δραστικά από ότι αν δρουν μόνα τους. Αυτή η συνεργική δράση είναι σημαντική για τη μείωση του επιπέδου των αντιοξειδωτικών που προστίθενται στα τρόφιμα ελαχιστοποιώντας έτσι τις ανεπιθύμητες παρενέργειες των αντιοξειδωτικών καθώς και τα έξοδα παραγωγής. Έντονες συνεργιστικές δράσεις συμβαίνουν μεταξύ φαινολικών ενώσεων και ορισμένων όξινων ουσιών όπως το ασκορβικό, το κιτρικό και το φωσφορικό οξύ^[71].

3.3.3 Συνθετικά αντιοξειδωτικά

Στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης της βιομηχανίας τροφίμων, τα συνθετικά αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνταν ευρέως εξαιτίας της καλής αποτελεσματικότητας, του χαμηλού κόστους και της υψηλής σταθερότητας. Τα περισσότερα συνθετικά αντιοξειδωτικά είναι ενώσεις όμοιες με τις φαινόλες και περιέχουν ένα ή δύο αρωματικούς δακτυλίους (Εικόνα 10). Λόγω της διαφοράς στη φυσική δομή των συνθετικών αντιοξειδωτικών, τα φυσικά χαρακτηριστικά τους ποικίλουν και καθορίζουν την επιλογή σε διάφορα προϊόντα τροφίμων. Συγκεκριμένα, τα BHA και BHT είναι θερμικά σταθερά αντιοξειδωτικά και έχουν επίσης καλή διαλυτότητα τόσο σε υδρόφοβα όσο και σε υδρόφιλα συστήματα. Η PG είναι μία υδρόφοβη ένωση και δεν είναι σταθερή σε υψηλές θερμοκρασίες με αποτέλεσμα η εφαρμογή της να είναι πιο περιορισμένη από ότι των BHT και BHA. Η TBHQ είναι επίσης μια ένωση σταθερή στη θερμότητα και χρησιμοποιείται κυρίως σε διεργασίες τηγανίσματος^[72].



Εικόνα 10 . Δομές μερικών συνθετικών αντιοξειδωτικών^[72].

Τα ΒΗΤ και ΒΗΑ είναι πρωτοταγή αντιοξειδωτικά. Συμπεριφέρονται όπως η συνθετική βιταμίνη Ε και ενεργούν ως απενεργοποιητές των ελευθέρων ριζών. Η αυτοοξειδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων διακόπτεται από τέτοια αντιοξειδωτικά μετατρέποντας τις υπεροξικές ρίζες σε υπεροξείδια όπως φαίνεται στις αντιδράσεις 3.7, 3.8[73].



3.3.4 Φυσικά αντιοξειδωτικά

Παρά την ευκολία χρήσης των συνθετικών αντιοξειδωτικών υπάρχουν αυξημένες ανησυχίες ότι αυτά τα αντιοξειδωτικά προωθούν την εμφάνιση καρκινογένεσης. Εξαιτίας λοιπόν αυτών των ανησυχιών υπάρχει αυξημένη τάση για την χρησιμοποίηση φυσικών αντιοξειδωτικών.

Υπάρχουν αρκετές μελέτες που αναφέρονται στα φυσικά αντιοξειδωτικά όπως είναι το ασκορβικό οξύ, οι τοκοφερόλες, τα καροτενοειδή, τα φλαβονοειδή, τα προϊόντα της αντίδρασης Maillard, τα φωσφολιπίδια, οι στερόλες και τα φαινολικά οξέα. Πρέπει όμως να σημειωθεί ότι δεν είναι όλα τα αντιοξειδωτικά που προέρχονται από φυσικές πηγές ασφαλή για κατανάλωση. Ωστόσο, υπάρχουν λιγότερες ανησυχίες εάν τα αντιοξειδωτικά είναι από φυσικές πηγές όπως από φρούτα και λαχανικά καθώς αυτά εμφανίζονται στην καθημερινή διατροφή των ανθρώπων. Στον πίνακα 1 συνοψίζονται μερικά φυσικά αντιοξειδωτικά που υπάρχουν συνήθως στην καθημερινή διατροφή μας. Αυτές οι ενώσεις είναι γνωστές για χρόνια όχι μόνο για την αντιοξειδωτική δράση τους αλλά και λόγω των ωφελειών τους στην ανθρώπινη υγεία^[72].

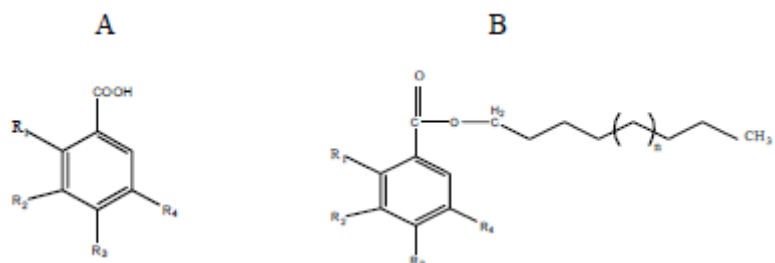
Πίνακας 1. Κύρια αντιοξειδωτικά από φυσικές πρώτες ύλες [72]

Αντιοξειδωτικά	Παραδείγματα	Πηγές
Τοκοφερόλες	Α-, β-, γ-, και δ- τοκοφερόλες	Σπόροι, δημητριακά, ξηροί καρποί, φυτικά έλαια
Ασκορβικό οξύ		Φρούτα, λαχανικά
Καροτενοειδή	β- καροτένιο, λυκοπένιο, ασταξανθίνη, φουκοξανθίνη	Καρότα, ντομάτα, φύκια, οστρακοειδή/ ψάρια
Φαινολικές ενώσεις	Φερουλικό οξύ, κουαρκετίνη, κατεχίνη, ρεσβερατρόλη, κυανιδίνη	Φρούτα, λαχανικά, ξηροί καρποί, δημητριακά

3.3.4.1 Μηχανισμός δράσης φαινολικών ενώσεων

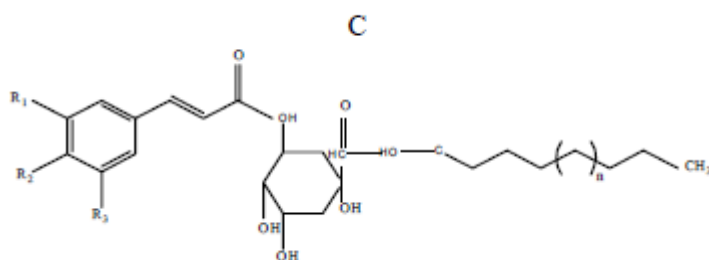
Ενώσεις από την οικογένεια του φαινολικού οξέος είναι ευρέως κατανομημένες σε λαχανικά και φρούτα και το μεγαλύτερο μέρος τους έχουν ιατρικά οφέλη για τον άνθρωπο[74]. Η οικογένεια των φαινολικών οξέων αποτελείται από τα παράγωγα του κινναμωμικού (C6- C3) και βενζοϊκού (C6-C1) οξέος των οποίων χαρακτηριστικό είναι ο βενζολικός δακτύλιος υποκατεστημένος με μια ή περισσότερες ομάδες υδροξυλίου ή μεθοξυλίου ή καρβοξυλικές ομάδες (Πίνακας 2, 3)^[75].

Πίνακας 2. Χημικές δομές παράγωγων βενζοϊκού οξέος (A) και εστέρων λιπαρών αλκοολών παραγώγων βενζοϊκού οξέος (B)^[76]



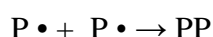
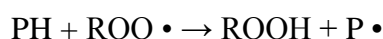
Ένωση	R1	R2	R3	R4
p- Υδροξυβενζοϊκό οξύ	H	H	OH	H
Γαλλικό οξύ	H	OH	OH	OH
Γεντισικό οξύ	OH	H	H	OH
Ισοβανιλικό οξύ	H	OH	OCH ₃	H
Πρωτοκατεχουϊκό οξύ	H	OH	OH	H
Σαλικυλικό οξύ	OH	H	H	H
Συριγγικό οξύ	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Βανιλικό οξύ	H	OCH ₃	OH	H

Πίνακας 3. Χημικές δομές παράγωγων κινναμωμικού οξέος (A) και εστέρων λιπαρών αλκοολών παραγώγων του κινναμωμικού οξέος με R4=H (B) και R4=C₇H₁₁O₅ (C)^[76]



Ένωση	R1	R2	R3	R4
p- Κουμαρικό οξύ	H	OH	H	H
Καφεϊκό οξύ	OH	OH	H	OH
Φερουλικό οξύ	OCH ₃	OH	H	H
Ισοφερουλικό οξύ	OH	OCH ₃	H	H
Σιναπικό οξύ	OCH ₃	OH	OCH ₃	H
Caffeoyl κουϊνικό οξύ	OH	OH	H	C ₇ H ₁₁ O ₅
Feruloyl κουϊνικό οξύ	OCH ₃	OH	H	C ₇ H ₁₁ O ₅
Sinaroyl κουϊνικό οξύ	OCH ₃	OH	OCH ₃	C ₇ H ₁₁ O ₅

Τα φαινολικά οξέα σχετίζονται δομικά με τα φλαβονοειδή και χρησιμεύουν ως πρόδρομοι της βιοσύνθεσης τους. Οι ομάδες υδροξυλίου που σχετίζονται με τις φαινολικές ενώσεις είναι οι πιο κοινές και συνήθως πιο αποτελεσματικές στην απενεργοποίηση των ελευθέρων ριζών στα τρόφιμα^[77] καθώς δίνουν εύκολα ένα ηλεκτρόνιο ή υδρογόνο στις ελεύθερες ρίζες ώστε να τις μετατρέψουν σε σταθερές ενώσεις^[76]. Τα περισσότερα φυσικά αντιοξειδωτικά όπως αυτά που βρίσκονται στα φυτά είναι φαινολικές ενώσεις και διαθέτουν πολλούς μηχανισμούς δράσης. Τα φαινολικά αντιοξειδωτικά που δρουν ως πρωτοταγή αντιοξειδωτικά αναστέλλουν την οξειδωση των λιπαρών καθώς παγιδεύουν την υπεροξική ρίζα^[78].



Το PH αντιπροσωπεύει τα φαινολικά οξέα. Αρχικά, τα φαινολικά οξέα δίνουν ένα υδρογόνο στην υπεροξική ρίζα που παράγεται από τα ακόρεστα λιπαρά οξέα μετατρέποντας τα φαινολικά οξέα σε φαινολικές ρίζες. Στη συνέχεια, οι φαινολικές ρίζες τερματίζουν την ριζική αντίδραση είτε αντιδρώντας με τις υπεροξικές ρίζες είτε με άλλες φαινολικές ρίζες^[72].

3.3 Πρωτόκολλα προσδιορισμού αντιοξειδωτικών

Διάφορες χημικές *in vitro* δοκιμασίες έχουν αναπτυχθεί για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των φυτικών προϊόντων. Μεγάλο μέρος από αυτές εξαρτώνται από την δημιουργία ελευθέρων ριζών. Όμως λόγω της πολύπλοκης φύσης των βιολογικών συστημάτων δεν υπάρχει μια ενιαία καθολική μέθοδος για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας^[79]. Με βάση τους μηχανισμούς αντίδρασης που υπάρχουν, οι μετρήσεις της αντιοξειδωτικής ικανότητας χωρίζονται σε δυο κατηγορίες: σε εκείνες που βασίζονται στη μεταφορά υδρογόνου και σε εκείνες που σχετίζονται με τη μεταφορά μονήρους ηλεκτρονίου. Υπάρχει και μια τρίτη κατηγορία που περιλαμβάνει και τους δυο παραπάνω μηχανισμούς αντίδρασης^[79,80].

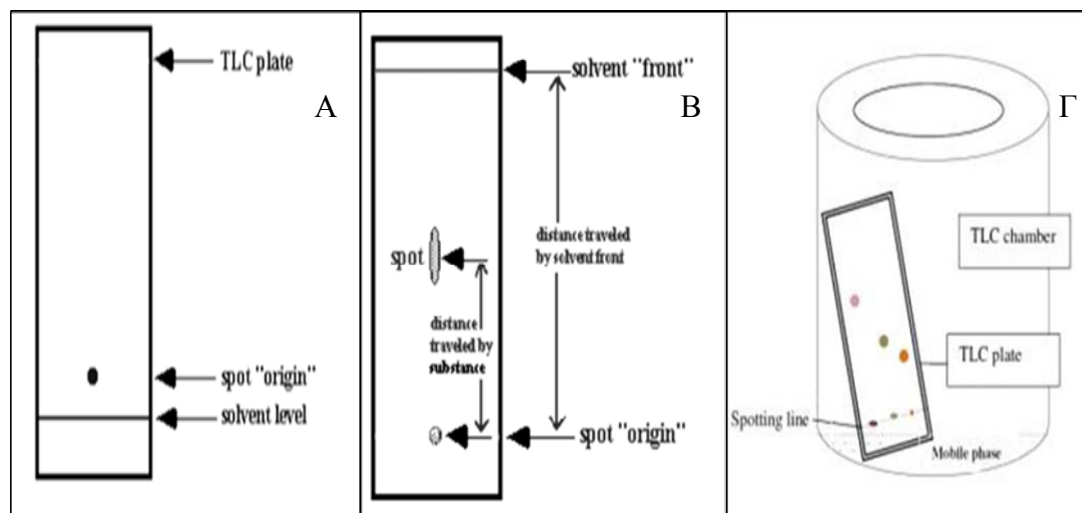
Η μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας βασίζεται στην αλλαγή χρώματος η οποία συμβαίνει κατά την αφαίρεση του ηλεκτρονίου από το αντιοξειδωτικό και ο βαθμός αλλαγής χρώματος είναι ανάλογος με τη συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών στο μίγμα. Το τέλος της αντίδρασης σηματοδοτείται όταν σταματά η αλλαγή χρώματος^[80].

Παρακάτω θα αναφερθούν οι τεχνικές οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία για την μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων και οι οποίες ανήκουν στην πρώτη κατηγορία μέτρησης αντιοξειδωτικής ικανότητας (μεταφορά υδρογόνου).

3.3.1 Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC)

Μια πρώτη ποιοτική ένδειξη της αντιοξειδωτικής ικανότητας μπορεί να ληφθεί μέσω χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC). Σε αυτή τη χρωματογραφική τεχνική χρησιμοποιούνται γυάλινες ή αλουμινένιες πλάκες επιστρωμένες με μια λεπτή

στοιβάδα στατικής φάσης. Η στατική φάση συνήθως είναι γέλη πυριτίου ή λιγότερο συχνά οξείδιο αργιλίου ή κυτταρίνη. Το διάλυμα του υπό εξέταση δείγματος τοποθετείται υπό τη μορφή κηλίδας στην αρχή της πλάκας σε απόσταση περίπου 2cm (Εικόνα 11(A,B)).



Εικόνα 11. Τεχνική χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC)

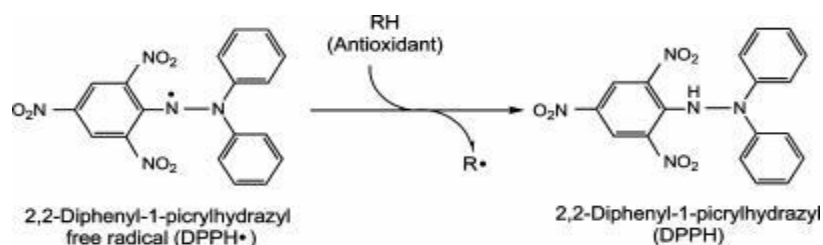
Στη συνέχεια η πλάκα τοποθετείται όρθια εντός αεροστεγούς θαλάμου (Εικόνα 11(Γ)) στον οποίο έχει ήδη εισαχθεί κατάλληλο σύστημα διαλυτών σε ύψος κάτω από αυτό της κηλίδας. Οι διαλύτες πρέπει να έχουν τοποθετηθεί εντός του θαλάμου τουλάχιστον 10 min πριν την τοποθέτηση της πλάκας ώστε να έχει κορεσθεί ο υπερκείμενος χώρος από τους ατμούς των διαλυτών. Ακολούθως, ο διαλύτης αφήνεται να ανέλθει με τη βοήθεια τριχοειδών φαινομένων (περίπου 10-20 min, ανάλογα με το ύψος της πλάκας) μέχρι το μέτωπό του να φτάσει λίγα εκατοστά πριν το τέλος της πλάκας. Ύστερα, η πλάκα αποσύρεται και στεγνώνει σε ρεύμα αέρα. Οι διάφορες ουσίες που περιέχονται στο υπό εξέταση δείγμα μετακινούνται επί της πλάκας με διαφορετική ταχύτητα ανάλογα με την πολικότητά τους και εμφανίζονται με τη μορφή διακριτών κηλίδων. Η παρατήρηση των κηλίδων γίνεται με εξέταση στο υπεριώδες φως (254 ή 356 nm). Από το χρώμα των κηλίδων στο ορατό και την απορρόφηση στο υπεριώδες μπορεί να εξαχθούν συμπεράσματα για την κατηγορία των ουσιών που παρατηρούμε (φλαβονοειδές, αλκαλοειδές, σάκχαρο κτλ).

Στη συνέχεια, η πλάκα ψεκάζεται με διάλυμα DPPH και αναλόγως την αντιοξειδωτική δράση του υπό εξέταση δείγματος παρατηρείται ο ανάλογος αποχρωματισμός του DPPH (όσο πιο έντονα τα αντιοξειδωτικά τόσο πιο έντονος και ο αποχρωματισμός)^[81].

3.3.2 Μέθοδος μέτρησης της αποικοδόμησης της ρίζας 2,2-διφαινυλο- 1- πικρυλο-υδραζυλίου (DPPH•)

Ο προσδιορισμός της ικανότητας απενεργοποίησης των ελευθέρων ριζών μέσω της χρήσης της ρίζας 2,2- διφαινυλο- 1- πικρυλο-υδραζυλίου (DPPH•) προτάθηκε για πρώτη φορά από τον Bios^[82]. Αυτή η μέθοδος είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης φυτικών δειγμάτων. Το DPPH• είναι μια σταθερή ρίζα και αντιδρά με ενώσεις που δίνουν άτομα υδρογόνου και έχει

μέγιστη απορρόφηση στα 515nm όπως φαίνεται στην εικόνα 12^[80]. Η μέθοδος βασίζεται στην απενεργοποίηση του DPPH• από τα αντιοξειδωτικά όπου κατά την αντίδραση αναγωγής αποχρωματίζεται το βαθύ μωβ μεθανολικό διάλυμα DPPH•^[79]. Όσο πιο έντονος είναι ο αποχρωματισμός του μεθανολικού διαλύματος DPPH• τόσο χαμηλότερη είναι η απορρόφηση του μίγματος αντίδρασης υποδεικνύοντας έτσι την αποτελεσματικότητα της απενεργοποίησης των ελευθέρων ριζών^[83].



Εικόνα 12. Αντίδραση αποικοδόμησης της ρίζας 2,2- διφαινυλο- 1- πικρυλο-υδραζυλίου (DPPH•)

Η ικανότητα απενεργοποίησης των ελευθέρων ριζών (RSA) όπως ερμηνεύεται από τον αποχρωματισμό του διαλύματος DPPH• υπολογίζεται με βάση τη σχέση:

$$\%RSA = 100 \times (1 - A_E/A_D)$$

όπου A_E είναι η απορρόφηση του μίγματος της αντίδρασης που περιέχει το εκχύλισμα του δείγματος ή του προτύπου αντιοξειδωτικού και A_D είναι η απορρόφηση του διαλύματος DPPH μόνο.

Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται συχνά επειδή είναι τεχνικά απλή και δίνει ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα. Ως μέτρο σύγκρισης της αντιοξειδωτικής ικανότητας χρησιμοποιείται το μέγεθος IC_{50} το οποίο περιγράφεται ως η ποσότητα του αντιοξειδωτικού που απαιτείται για την μείωση στο 50% της αρχικής συγκέντρωσης DPPH•^[80].

3.3.3 Μέτρηση ολικού φαινολικού φορτίου με την μέθοδο Folin-Ciocalteu

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu αναπτύχθηκε αρχικά από τους Folin και Denis^[84] και Folin και Ciocalteu^[85] για τον προσδιορισμό της τυροσίνης (που περιέχει μια ομάδα φαινόλης) σε πρωτεΐνες και τροποποιήθηκε από τους Singleton and Rossi Jr. για την ανάλυση των συνολικών φαινολικών ενώσεων^[86]. Η μέθοδος Folin-Ciocalteu, στην οποία ο βασικός μηχανισμός είναι μια αντίδραση οξειδοαναγωγής, έχει χρησιμοποιηθεί για πολλά χρόνια για την ποσοτικοποίηση των ολικών διαλυτών φαινολικών ενώσεων σε φυσικά προϊόντα χρησιμοποιώντας ως πρότυπο το γαλλικό οξύ. Η αντίδραση περιλαμβάνει την μείωση των φαινολών μέσω του αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu. Οι φαινολικές ενώσεις οξειδώνονται σε βασικό μέσο με αποτέλεσμα το σχηματισμό ιόντος υπεροξειδίου το οποίο με τη σειρά του αντιδρά με το μολυβδαινικό αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu και σχηματίζεται το ιόν οξειδίου του μολυβδαινίου (MoO_4^{+})^[85,86]. Το οξύ του μολυβδαινίου έχει έντονη απορρόφηση στα 725 nm. Το ολικό φαινολικό φορτίο υπολογίζεται μέσω αναγωγής του

αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu. Τα μείγματα της αντίδρασης αποτελούνται από το δείγμα, το αποσταγμένο νερό, 1 N αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu και 2-40% ανθρακικό νάτριο τα οποία επωάζονται σε θερμοκρασία δωματίου για 40 min. Η απορρόφηση στη συνέχεια μετράται στα 725 nm. Ένα μίγμα αντίδρασης που περιέχει τον διαλύτη εκχύλισης (συνήθως 50% μεθανόλη) αντί των δειγμάτων χρησιμοποιείται ως τυφλό. Η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων υπολογίζεται με βάση τα ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE). Οι φαινολικές ενώσεις αντιδρούν με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu κάτω από αλκαλικές συνθήκες. Το μειονέκτημα με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu είναι ότι άλλες μη-φαινολικές ενώσεις οι οποίες είναι κοινές σε φυτικά προϊόντα, όπως ασκορβικό οξύ, σάκχαρα, αρωματικές αμίνες, οργανικά οξέα και πρωτεΐνες μειώνονται επίσης από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu^[79,87]. Επίσης μερικές ανόργανες ενώσεις όπως θειικός σίδηρος, νιτρώδες κάλιο, φωσφορικό νάτριο και θεικό μαγγάνιο μπορούν επίσης να αντιδράσουν με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu με αποτέλεσμα να υπερεκτιμηθεί η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων. Για τη λήψη αξιόπιστων αποτελεσμάτων από τη μέθοδο πρέπει να τηρούνται οι συνθήκες που όρισαν οι Singleton and Rossi Jr. καθώς επίσης να χρησιμοποιείται ως πρότυπο αναφοράς το γαλλικό οξύ^[79].

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

i) ΣΤΟΧΟΙ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Στόχος της παρούσας πειραματικής μελέτης είναι η εύρεση βέλτιστων συνθηκών εκχύλισης για την παραγωγή εκχυλισμάτων με υψηλό φαινολικό φορτίο και υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα χρησιμοποιώντας ως πηγή παραπροϊόντα οινοποιείου από τρεις ποικιλίες σταφυλιών, συγκεκριμένα Ροδίτη, Μοσχοφίλερου και Αγιωργίτικου. Επίσης στην παρούσα μελέτη εξετάζεται η επίδραση της διεργασίας δυο μεθόδων ξήρανσης, συγκεκριμένα της ξήρανσης σε ρεύμα αέρα και της επιταχυνόμενης ηλιακής ξήρανσης, στην διεργασία εκχύλισης των παραπροϊόντων οινοποιείου. Οι μέθοδοι εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκαν είναι η συμβατική μέθοδος Soxhlet και οι καινοτόμες μέθοδοι εκχύλισης με μικροκύματα και υπερήχους. Οι συνθήκες που μελετήθηκαν ήταν ο χρόνος εκχύλισης (για τις καινοτόμες μεθόδους), ο διαλύτης και η επίδραση της ξήρανσης. Η αποδοτικότητα της εκχύλισης εκφράστηκε σε όρους απόδοσης (g εκχυλίσματος/ 100 g ξηρού υλικού), αντιοξειδωτικής ικανότητας και φαινολικού φορτίου.

Τέλος, η Ελλάδα αποτελεί μια χώρα με μεγάλη παραγωγή παραπροϊόντων οινοποιείου ετησίως. Οπότε θεωρείται σκόπιμη και ωφέλιμη η αξιοποίηση τους για την παραγωγή εκχυλισμάτων με υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα.

ii) ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ

Οι τρεις ποικιλίες παραπροϊόντων οινοποιείου από την σοδειά του έτους 2013 δωρίστηκαν από την Οينوπραξία Βοιωτίας – ΙΝΟ Α.Ε.. Τα δείγματα κατά την παραλαβή τους τοποθετήθηκαν στην κατάψυξη στους -30°C . Αρχικά, πραγματοποιήθηκε ξήρανση των δειγμάτων με τις μεθόδους ξήρανσης σε ρεύμα αέρα σε θερμοκρασία 55°C και επιταχυνόμενης ηλιακής ξήρανσης. Για τις μεθόδους ξήρανσης προσδιορίστηκαν οι κινητικές ξήρανσης με βάση το μοντέλο λεπτής στοιβάδας του Lewis καθώς και οι αρχικές και τελικές υγρασίες των δειγμάτων. Τα δείγματα που προήλθαν από την ξήρανση αλέστηκαν και στη συνέχεια ακολούθησαν οι εκχυλίσεις. Οι εκχυλίσεις πραγματοποιήθηκαν τόσο σε ξηρά όσο και σε φρέσκα δείγματα με σκοπό να προσδιοριστεί η επίδραση της ξήρανσης στην διεργασία της εκχύλισης. Στη συμβατική μέθοδο Soxhlet χρησιμοποιήθηκαν νερό και αιθανόλη ως διαλύτες και η εκχύλιση ολοκληρώθηκε έπειτα από 10 σιφωνισμούς. Στην εκχύλιση με μικροκύματα και υπερήχους χρησιμοποιήθηκαν νερό και νερό :αιθανόλη (1:1) ως διαλύτες και η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε σε χρόνους 5, 10, 20, 60 min. Τα εκχυλίσματα που προέκυψαν από τις δυο τελευταίες μεθόδους εκχύλισης φυγοκεντρήθηκαν με σκοπό να διαχωριστή το στερεό υπόλειμμα από το εκχύλισμα. Τα υδατικά εκχυλίσματα τοποθετήθηκαν στην κατάψυξη στους -30°C και στη συνέχεια ακολούθησε ξήρανση με κατάψυξη για την απομάκρυνση του διαλύτη ενώ τα εκχυλίσματα νερού : αιθανόλης τοποθετήθηκαν αρχικά σε περιστροφικό εξατμιστήρα για την απομάκρυνση της αιθανόλης και στην συνέχεια ακολούθησε ξήρανση με κατάψυξη για την απομάκρυνση του νερού. Η απομάκρυνση της καθαρής αιθανόλης από τα εκχυλίσματα πραγματοποιήθηκε σε περιστροφικό εξατμιστήρα. Στη συνέχεια ακολούθησε ποιοτική εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης με τη

μέθοδο χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) για την επιλογή των δειγμάτων με υψηλή αντιοξειδωτική δράση με στόχο την περαιτέρω μελέτη τους. Στα δείγματα που επιλέχθηκαν ακολούθησε ποσοτική μέτρηση της αντιοξειδωτικής τους δράσης με τη μέθοδο μέτρησης της αποικοδόμησης της ρίζας 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλο-υδραζιλίου (DPPH). Τέλος, έγινε ποσοτικός προσδιορισμός του φαινολικού φορτίου με τη μέθοδο Folin- Ciocalteu .

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΞΗΡΑΝΣΗ ΚΑΙ ΕΚΧΥΛΙΣΕΙΣ ΠΑΡΑΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΟΙΝΟΠΟΙΕΙΟΥ

Τα οινοποιεία παράγουν ετήσια μεγάλες ποσότητες αποβλήτων μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα οι οποίες μπορούν να θέσουν το περιβάλλον σε κίνδυνο. Έτσι, η επεξεργασία των παραπροϊόντων του οινοποιείου μετά την παραγωγή κρασιού θεωρείται απαραίτητη. Η ξήρανση θεωρείται μια κατάλληλη επεξεργασία επειδή μειώνει την ενεργότητα του νερού των στέμφυλων με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η ανάπτυξη των μικροοργανισμών και να καθυστερούνται οι χημικές αντιδράσεις με συνέπεια να επιμηκύνεται η διάρκεια ζωής των στέμφυλων σε θερμοκρασία δωματίου. Επιπλέον, με την ξήρανση μειώνεται ο όγκος των παραπροϊόντων με αποτέλεσμα η αποθήκευσή τους να καταλαμβάνει μικρότερο χώρο και η μεταφορά τους να γίνεται ευκολότερη. Η ξήρανση σε ρεύμα αέρα και η επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση είναι οι πιο γνωστές μέθοδοι ξήρανσης για την παραγωγή ξηρών τροφίμων και αγροτικών προϊόντων λόγω της χαμηλής επένδυσης και του κόστους λειτουργίας. Η μέθοδοι ξήρανσης καθώς και οι συνθήκες που πραγματοποιούνται επηρεάζουν την απόδοση και την αντιοξειδωτική ικανότητα των υλικών προς ξήρανση. Με σκοπό να μην αλλοιωθούν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των στέμφυλων, στην περίπτωση της ξήρανσης σε ρεύμα αέρα επιλέγεται θερμοκρασία αέρα ίση με 55°C. Με βάση βιβλιογραφικές αναφορές, οι ωφέλιμες ενώσεις των στέμφυλων καταστρέφονται σε θερμοκρασία μεγαλύτερη των 60 °C.

4.1 ΞΗΡΑΝΣΗ ΣΕ ΡΕΥΜΑ ΑΕΡΑ

4.1.1 Εξοπλισμός- υλικά

Τα πειράματα της ξήρανσης σε ρεύμα αέρα πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου (ΣΑΔ) και χρησιμοποιήθηκαν:

- Πνευματικός ξηραντήρας (προβιομηχανικής κλίμακας του εργαστηρίου Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών
- Μονάδα ξήρανσης υπό κενό – Φούρνος κενού (Sanyo Gallenkamp PLC, Leicester, England)
- Ζυγός ακριβείας (Kern ABS/ABJ, Balingen, Germany)

Τα παραπροϊόντα οινοποιείου τριών ελληνικών ποικιλιών (Ροδίτης, Αγιωργίτικο, Μοσχοφίλερο) παρέμειναν τουλάχιστον ένα εικοσιτετράωρο σε καταψύκτη στους -30°C.

4.1.2 Διαδικασία- Αποτελέσματα

4.1.2.1 Ξήρανση σε ρεύμα αέρα

Πραγματοποιήθηκε ξήρανση σε ρεύμα αέρα στον εργαστηριακό ξηραντήρα ραφιών σε θερμοκρασία 55 ± 2 °C και ταχύτητα αέρα 1m/s σε δείγματα παραπροϊόντων σταφυλιού των ποικιλιών Ροδίτη, Μοσχοφίλερου και Αγιωργίτικου (Εικόνα 13). Τα δείγματα ήταν τοποθετημένα υπό ψύξη στους -30 °C και πριν την έναρξη της ξήρανσης αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου έως ότου ξεπαγώσουν. Στη συνέχεια, καθένα από τα δείγματα ζυγίστηκε ώστε να καταγραφεί το αρχικό του βάρος και τοποθετήθηκαν σε ειδικούς περιέκτες στα ράφια του ξηραντήρα ώστε να ξεκινήσει η ξήρανση. Ανά τακτά χρονικά διαστήματα τα δείγματα απομακρύνονταν από τον ξηραντήρα, ζυγίζονταν και καταγραφόταν το βάρος την εκάστοτε χρονική στιγμή και στη συνέχεια επανατοποθετούνταν στον ξηραντήρα. Η παραπάνω διαδικασία επαναλήφθηκε τρεις φορές για τα δείγματα Ροδίτη, Μοσχοφίλερου και Αγιωργίτικου.



Εικόνα 13. Πνευματικός ξηραντήρας (προβιομηχανικής κλίμακας του εργαστηρίου Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών

4.1.2.2 Μέτρηση αρχικής και τελικής υγρασίας

Η υγρασία των παραπροϊόντων των τριών ποικιλιών σταφυλιού μετρήθηκε ζυγίζοντας το αρχικό και τελικό βάρος των δειγμάτων, πριν την είσοδό τους και μετά την παραμονή τους στο φούρνο κενού. Τα δείγματα παρέμειναν στο φούρνο κενού στους $70 \pm 0,3$ °C μέχρι σταθερού βάρους για 24 h. Ως **αρχική υγρασία** θεωρείται η υγρασία που περιείχαν τα φρέσκα δείγματα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ενώ ως **τελική υγρασία** θεωρείται η υγρασία που περιείχαν τα δείγματα μετά την ξήρανση σε ρεύμα αέρα.

Το ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας επί υγρής βάσης (kg νερού/ kg νωπού στερεού) υπολογίστηκε από τη διαφορά βάρους των δειγμάτων πριν και μετά την παραμονή τους στον φούρνο κενού σύμφωνα με τον τύπο 4.1.

$$\text{Υγρασία \%} = \frac{W_{\alpha\rho\chi} - W}{W_{\alpha\rho\chi}} (4.1)$$

Σύμφωνα με τον τύπο 4.1 προέκυψαν οι αρχικές και τελικές υγρασίες των δειγμάτων Ροδίτη, Μοσχοφίλερο, Αγιωργίτικου όπως φαίνονται στον πίνακα 4.

Πίνακας 4. Αρχικές και τελικές υγρασίες δειγμάτων Ροδίτη, Μοσχοφίλερο, Αγιωργίτικου κατά την ξήρανση σε ρεύμα αέρα

	Ροδίτης	Μοσχοφίλερο	Αγιωργίτικο
Αρχική υγρασία (kgνερού/kg v.στ.) (%)	62,42 ± 3,30	65,60 ± 2,29	61,34 ± 0,55
Τελική υγρασία (kgνερού/kg v.στ.) (%)	2,40 ± 0,25	2,45 ± 0,24	2,32 ± 0,13

Με βάση τον πίνακα 4 παρατηρείται ότι οι αρχικές και τελικές υγρασίες των τριών υλικών διαφέρουν μεταξύ τους. Συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι το Μοσχοφίλερο έχει την μεγαλύτερη αρχική καθώς και τελική υγρασία, ακολουθεί ο Ροδίτης και τέλος το Αγιωργίτικο. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην διαφορετική φύση κάθε υλικού. Συγκεκριμένα, τα παραπροϊόντα σταφυλιών από την ποικιλία Μοσχοφίλερο και Ροδίτη αποτελούνταν κυρίως από κοτσάνια, κουκούτσια και δέρματα ενώ η ποικιλία Αγιωργίτικο αποτελούνταν κυρίως από κουκούτσια και δέρματα.

4.1.2.3 Κινητική ξήρανσης σε ρεύμα αέρα

Από τη μεταβολή του βάρους των προϊόντων υπολογίστηκε το νερό που εξατμίστηκε και συνεπώς η μεταβολή υγρασίας του κάθε δείγματος. Από τις επαναλήψεις που πραγματοποιήθηκαν υπολογίστηκε η μέση μεταβολή υγρασίας επί ξηρής βάσης (kg νερού/kg ξηρού στερεού) κατά τη διάρκεια της ξήρανσης για κάθε δείγμα με βάση τον τύπο 4.2:

$$X = \frac{W_{αρχ} - W}{W_{τελ}} \quad (4.2)$$

Όπου X : ποσοστό υγρασίας επί ξηρής βάσης

$W_{αρχ}$: Αρχικό βάρος δείγματος

W : Βάρος δείγματος σε μια συγκεκριμένη χρονική στιγμή

$W_{τελ}$: Τελικό βάρος ξηρού δείγματος

Με δεδομένη την υγρασία ισορροπίας μετά το πέρας της ξήρανσης X_e (kg νερού / kg ξ.στ.) και το ποσοστό αρχικής υγρασίας X_o (kg νερού / kg ξ.στ.), υπολογίστηκε η μεταβολή της θεωρητικής υγρασίας $X_{θεωρ}$, με βάση το μοντέλο λεπτής στιβάδας του Lewis (4.3) :

$$X_{θεωρητικο} = X_e + (X_o - X_e) \cdot e^{-kt} \quad (4.3)$$

Όπου $X_{θεωρ}$: θεωρητικό ποσοστό υγρασίας

X_e : ποσοστό υγρασίας ισορροπίας μετά το πέρας της ξήρανσης

X_o : ποσοστό αρχικής υγρασίας

k : σταθερά ξήρανσης

Η υγρασία του στερεού υπολογίζεται με βάση τη σχέση 4.4:

$$X_{\sigma\tau\epsilon\rho\epsilon\upsilon\acute{o}} = \frac{m_i - m_\xi}{m_\xi} \quad (4.4)$$

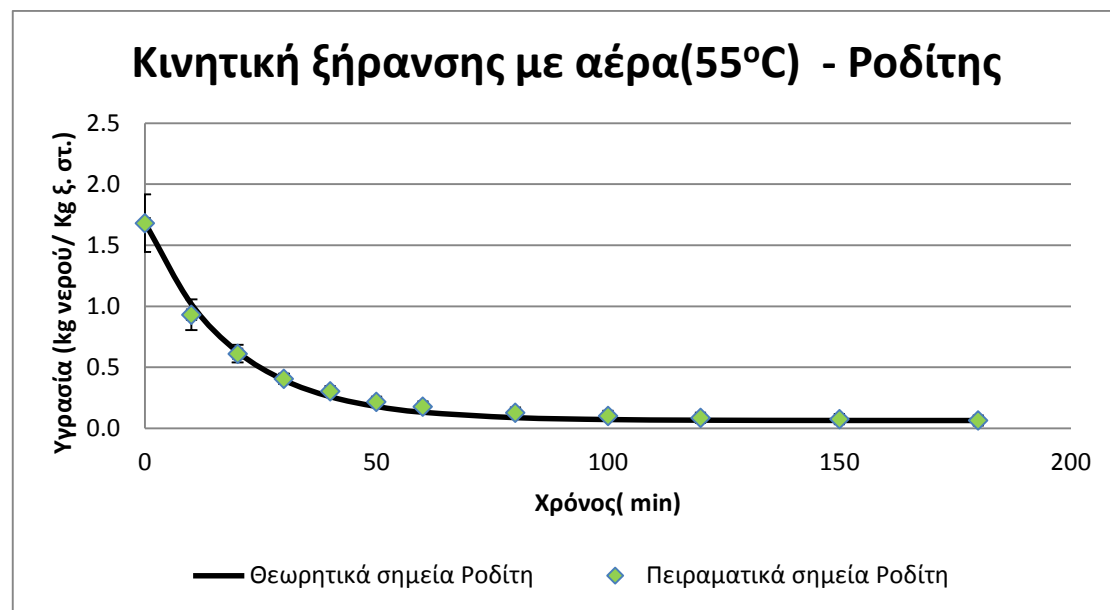
Όπου m_i : η μάζα του υλικού κάποια χρονική στιγμή

m_ξ : η μάζα του υλικού μετά την παραμονή του στο φούρνο κενού

Με τη χρήση της εντολής solver του excel προέκυψε η σταθερά της ξήρανσης (k) για τα δείγματα. Τα αποτελέσματα για τα τρία δείγματα σταφυλιού, Ροδίτη, Μοσχοφίλερου και Αγιωργίτικου, παρουσιάζονται στα διαγράμματα 1, 2, 3 αντίστοιχα και στον πίνακα 5.

Αποτελέσματα ξήρανσης σε ρεύμα αέρα παραπροϊόντων σταφυλιού της ποικιλίας Ροδίτη

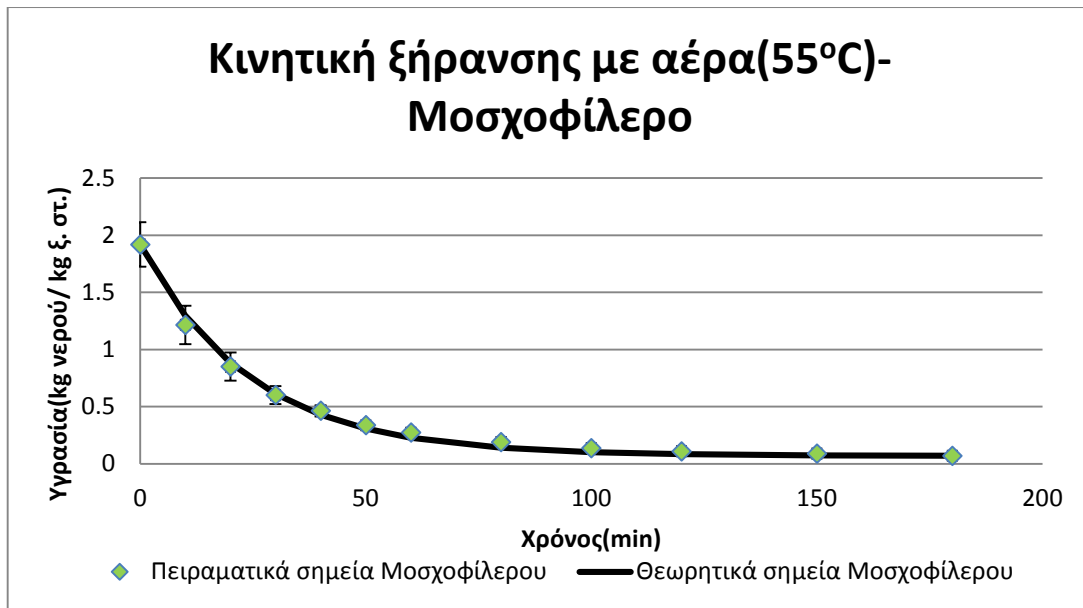
Παρακάτω παρουσιάζεται η καμπύλη μεταβολής της υγρασίας επί ξηρής βάσης συναρτήσει του χρόνου, καθώς και η καμπύλη θεωρητικής υγρασίας από την οποία προέκυψε η σταθερά της ξήρανσης k για το Ροδίτη.



Διάγραμμα 1. Μεταβολή υγρασίας των παραπροϊόντων σταφυλιού της ποικιλίας Ροδίτη συναρτήσει του χρόνου ξήρανσης σε ρεύμα αέρα

Αποτελέσματα ξήρανσης σε ρεύμα αέρα παραπροϊόντων σταφυλιού της ποικιλίας Μοσχοφίλερου

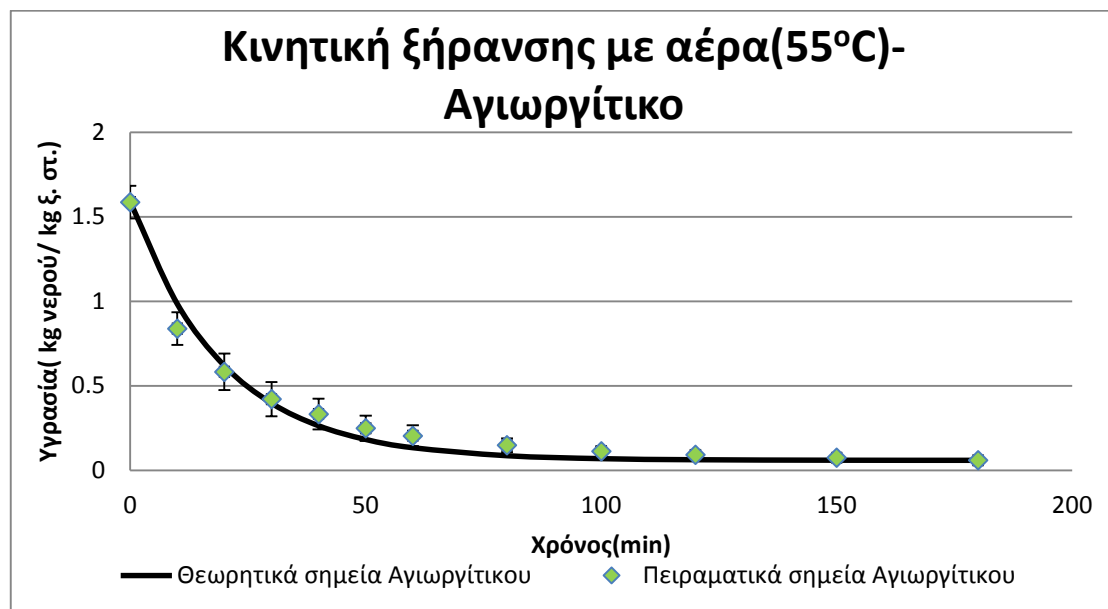
Παρακάτω παρουσιάζεται η καμπύλη μεταβολής της υγρασίας επί ξηρής βάσης συναρτήσει του χρόνου, καθώς και η καμπύλη θεωρητικής υγρασίας από την οποία προέκυψε η σταθερά της ξήρανσης k για το Μοσχοφίλερο.



Διάγραμμα 2. Μεταβολή υγρασίας των παραπροϊόντων σταφυλιού της ποικιλίας Μοσχοφίλερο συναρτήσεσι του χρόνου ξήρανσης σε ρεύμα αέρα

Αποτελέσματα ξήρανσης σε ρεύμα αέρα παραπροϊόντων σταφυλιού της ποικιλίας Αγιωργίτικο

Παρακάτω παρουσιάζεται η καμπύλη μεταβολής της υγρασίας επί ξηρής βάσης συναρτήσεσι του χρόνου, καθώς και η καμπύλη θεωρητικής υγρασίας από την οποία προέκυψε η σταθερά της ξήρανσης k για το Αγιωργίτικο.



Διάγραμμα 3. Μεταβολή υγρασίας των παραπροϊόντων σταφυλιού της ποικιλίας Αγιωργίτικο συναρτήσεσι του χρόνου ξήρανσης σε ρεύμα αέρα

Πίνακας 5. Σταθερά ξήρανσης (k), ποσοστό αρχικής υγρασίας (X₀) και ποσοστό υγρασίας ισορροπίας μετά το πέρας της ξήρανσης (X_e) για τις ποικιλίες Ροδίτη, Μοσχοφίλερο και Αγιωργίτικο με βάση το μοντέλο λεπτής στιβάδας Lewis για την ξήρανση σε ρεύμα αέρα

Ποικιλία παραπροϊόντος οινοποιείου	Σταθερά ξήρανσης k (min ⁻¹)	Ποσοστό αρχικής υγρασίας X ₀ (kg νερού/kg ξ.στ.)	Ποσοστό υγρασίας ισορροπίας X _e (kg νερού/kg ξ.στ.)
Ροδίτης	5,29 10 ⁻²	1,6815	0,0637
Μοσχοφίλερο	4,10 10 ⁻²	1,9195	0,0710
Αγιωργίτικο	5,03 10 ⁻²	1,5871	0,0600

Με βάση τα διαγράμματα 1, 2, 3 παρατηρείται ότι το ποσοστό υγρασίας μειώνεται εκθετικά με το χρόνο ξήρανσης. Το ποσοστό υγρασίας μειώνεται γρήγορα στην αρχή της ξήρανσης ενώ στη συνέχεια μειώνεται αργά με την αύξηση του χρόνου ξήρανσης. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι αρχικά η επιφάνεια του υλικού είναι κορεσμένη με νερό και η απομάκρυνση της υγρασίας ελέγχεται από το ρυθμό εξάτμισης του νερού από την επιφάνεια προς τον περιβάλλοντα χώρο. Η περίοδος αυτή διαρκεί όσο η μεταφορά υγρασίας προς την επιφάνεια είναι ταχύτερη από την εξάτμιση από την επιφάνεια. Αντίθετα, όταν η μεταφορά υγρασίας προς την επιφάνεια του τροφίμου είναι το ελέγχον στάδιο και η επιφάνεια δεν είναι πια κορεσμένη με νερό, η μεταβολή της υγρασίας ελαττώνεται^[88].

Όσον αφορά τον Ροδίτη, με βάση το διάγραμμα 1 η υγρασία μειώνεται σημαντικά έως τα 50 min ενώ μετά από αυτόν το χρόνο σχηματίζεται πλατό κατά το οποίο η μεταβολή της υγρασίας είναι ελάχιστη. Για το Μοσχοφίλερο (Διάγραμμα 2) ο χρόνος έπειτα από τον οποίο σημειώνεται πλατό είναι 80 min και για το Αγιωργίτικο (Διάγραμμα 3) είναι 50 min. Επίσης με βάση τον πίνακα 5 η ποικιλία με το μεγαλύτερο ποσοστό αρχικής υγρασίας και υγρασίας ισορροπίας είναι το Μοσχοφίλερο γεγονός που δικαιολογεί και τον μεγαλύτερο χρόνο για την δημιουργία πλατό και ακολουθεί ο Ροδίτης και τέλος το Αγιωργίτικο. Η διεργασία της ξήρανσης ολοκληρώνεται στα 180 min όπου και τα τρία υλικά βρίσκονται στην υγρασία ισορροπίας.

Όσον αφορά το ρυθμό ξήρανσης, όσο μεγαλύτερη τιμή έχει η σταθερά ξήρανσης ενός υλικού τόσο ταχύτερη είναι η ξήρανσή του. Με βάση τον πίνακα 5, ο Ροδίτης παρουσιάζει την μεγαλύτερη σταθερά και ακολουθούν το Αγιωργίτικο και το Μοσχοφίλερο.

Η διαφορά στο ποσοστό υγρασίας και στη σταθερά ξήρανσης οφείλεται στην διαφορετική φύση κάθε υλικού με αποτέλεσμα να πραγματοποιούνται διαφορετικά φαινόμενα διάχυσης και αντίστασης στην μεταφορά μάζας.

Τέλος, από τα διαγράμματα παρατηρείται καλή προσαρμογή των πειραματικών σημείων με τα θεωρητικά τα οποία προκύπτουν με βάση το μοντέλο λεπτής στιβάδας του Lewis.

4.2 ΕΠΙΤΑΧΥΝΟΜΕΝΗ ΗΛΙΑΚΗ ΞΗΡΑΝΣΗ

4.2.1 Εξοπλισμός- Υλικά

Τα πειράματα της επιταχυνόμενης ηλιακής ξήρανσης πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου και χρησιμοποιήθηκαν:

- Μονάδα γήρανσης υλικών
- Μονάδα ξήρανσης υπό κενό – Φούρνος κενού (Sanyo Gallenkamp PLC, Leicester, England)
- Ζυγός ακριβείας (Kern ABS/ABJ, Balingen, Germany)

Τα παραπροϊόντα οινοποιείου τριών ελληνικών ποικιλιών (Ροδίτης, Αγιωργίτικο, Μοσχοφίλερο) παρέμειναν τουλάχιστον ένα εικοσιτετράωρο σε καταψύκτη στους -30°C.

4.2.2 Διαδικασία- Αποτελέσματα

4.2.2.1 Επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση

Στη μονάδα γήρανσης υλικών πραγματοποιήθηκε επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση υπό λαμπτήρες ορατής και υπεριώδους ακτινοβολίας σε δείγματα παραπροϊόντων σταφυλιού των ποικιλιών Ροδίτη, Μοσχοφίλερου και Αγιωργίτικου (Εικόνα 14). Τα δείγματα ήταν τοποθετημένα υπό ψύξη στους -30 °C και πριν την έναρξη της ξήρανσης αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου έως ότου ξεπαγώσουν. Στη συνέχεια, καθένα από τα δείγματα τοποθετήθηκε σε ειδικούς περιέκτες και ζυγίστηκε ώστε να καταγραφεί το αρχικό του βάρος. Έπειτα τοποθετήθηκαν στη μονάδα γήρανσης υλικών ώστε να ξεκινήσει η ξήρανση. Ανά τακτά χρονικά διαστήματα τα δείγματα απομακρύνονταν από τον ξηραντήρα, ζυγίζονταν και καταγραφόταν το βάρος τους την εκάστοτε χρονική στιγμή και στη συνέχεια επανατοποθετούνταν στον ξηραντήρα. Η παραπάνω διαδικασία επαναλήφθηκε τρεις φορές για τα δείγματα Ροδίτη, Μοσχοφίλερου και Αγιωργίτικου.



Εικόνα 14. Μονάδα γήρανσης υλικών

4.2.2.2 Μέτρηση αρχικής και τελικής υγρασίας

Η υγρασία των παραπροϊόντων των τριών ποικιλιών σταφυλιού μετρήθηκε ζυγίζοντας το αρχικό και τελικό βάρος των δειγμάτων, πριν την είσοδό τους και μετά την παραμονή τους στο φούρνο κενού. Τα δείγματα παρέμειναν στο φούρνο κενού στους $70 \pm 0,3$ °C μέχρι σταθερού βάρους για 24 h. Ως **αρχική υγρασία** θεωρείται η υγρασία που περιείχαν τα φρέσκα δείγματα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ενώ ως **τελική υγρασία** θεωρείται η υγρασία που περιείχαν τα δείγματα μετά την επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση.

Το ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας επί υγρής βάσης (kg νερού/ kg νωπού στερεού) υπολογίστηκε από τη διαφορά βάρους των δειγμάτων πριν και μετά την παραμονή τους στον φούρνο κενού σύμφωνα με τον τύπο 4.1.

Σύμφωνα με τον τύπο 4.1 προέκυψαν οι αρχικές και τελικές υγρασίες των δειγμάτων Ροδίτη, Μοσχοφίλερου, Αγιωργίτικου όπως φαίνονται στον πίνακα 6.

Πίνακας 6. Αρχικές και τελικές υγρασίες δειγμάτων Ροδίτη, Μοσχοφίλερου, Αγιωργίτικου κατά την επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση

	Ροδίτης	Μοσχοφίλερο	Αγιωργίτικο
Αρχική υγρασία (kgνερού/kg ν.στ.) (%)	$63,43 \pm 2,84$	$68,06 \pm 0,35$	$57,55 \pm 0,69$
Τελική υγρασία (kgνερού/kg ν.στ.) (%)	$3,08 \pm 0,49$	$2,00 \pm 0,43$	$2,31 \pm 0,16$

Με βάση τον πίνακα 6 παρατηρείται ότι οι αρχικές και τελικές υγρασίες των τριών υλικών διαφέρουν μεταξύ τους. Συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι το Μοσχοφίλερο έχει την μεγαλύτερη αρχική υγρασία, ακολουθεί ο Ροδίτης και τέλος το Αγιωργίτικο. Όσον αφορά την τελική υγρασία, ο Ροδίτης παρουσιάζει την μεγαλύτερη και ακολουθούν το Μοσχοφίλερο και το Αγιωργίτικο. Η διαφορά στο ποσοστό υγρασίας ανάμεσα στις τρεις ποικιλίες σταφυλιού οφείλεται στην διαφορετική φύση κάθε υλικού.

4.1.2.3 Κινητική επιταχυνόμενης ηλιακής ξήρανσης

Από τη μεταβολή του βάρους των προϊόντων υπολογίστηκε το νερό που εξατμίστηκε και συνεπώς η μεταβολή υγρασίας του κάθε δείγματος. Από τις επαναλήψεις που πραγματοποιήθηκαν υπολογίστηκε η μέση μεταβολή υγρασίας επί ξηρής βάσης (kg νερού/kg ξηρού στερεού) κατά τη διάρκεια της ξήρανσης για κάθε δείγμα με βάση τον τύπο 4.2.

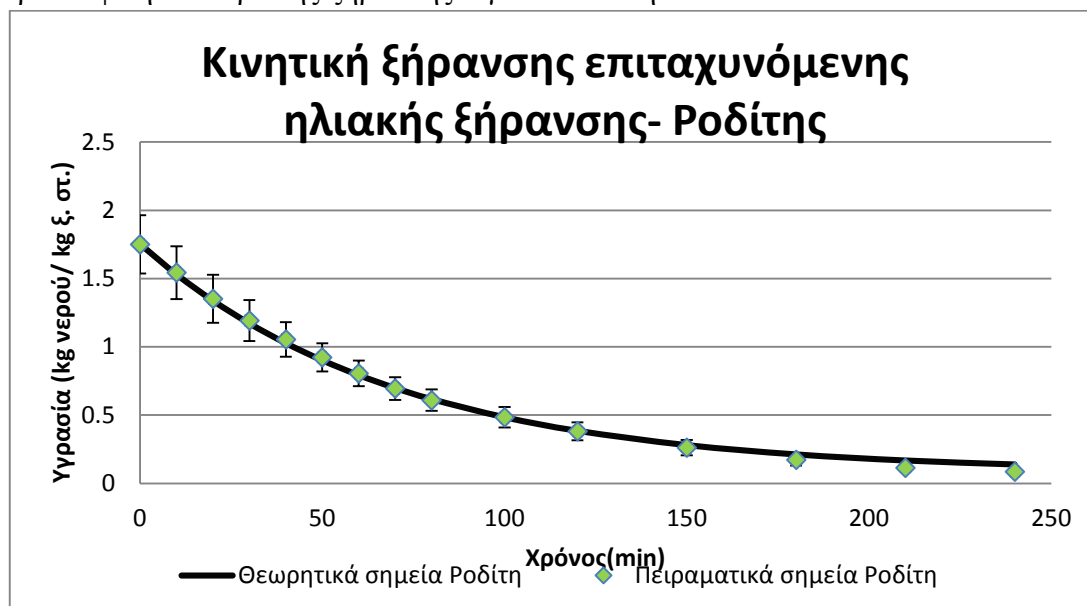
Με δεδομένη την υγρασία ισορροπίας μετά το πέρας της ξήρανσης X_e (kg νερού / kg ξ.στ.) και το ποσοστό αρχικής υγρασίας X_o (kg νερού / kg ξ.στ.), υπολογίστηκε η μεταβολή της θεωρητικής υγρασίας $X_{\thetaεωρ}$, με βάση το μοντέλο λεπτής στιβάδας του Lewis (4.3).

Η υγρασία του στερεού υπολογίζεται με βάση τη σχέση 4.4.

Με τη χρήση της εντολής solver του excel προέκυψε η σταθερά της ξήρανσης (k) για τα δείγματα. Τα αποτελέσματα για τα τρία δείγματα σταφυλιού, Ροδίτη, Μοσχοφίλερου και Αγιωργίτικου, παρουσιάζονται στα διαγράμματα 4, 5, 6 αντίστοιχα και στον πίνακα 7.

Αποτελέσματα επιταχυνόμενης ηλιακής ξήρανσης παραπροϊόντων σταφυλιού της ποικιλίας Ροδίτη

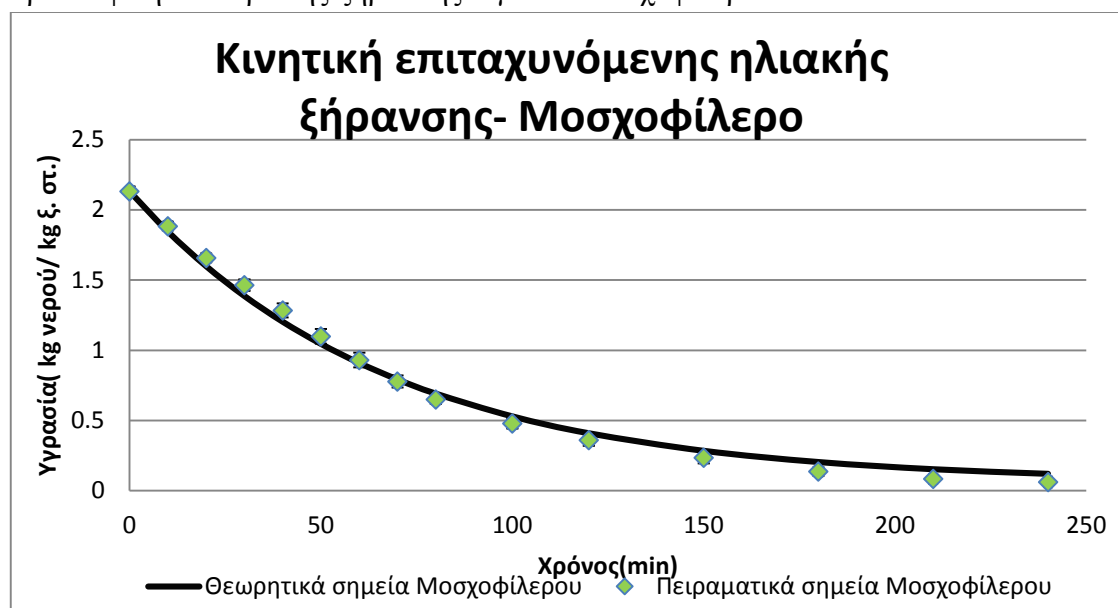
Παρακάτω παρουσιάζεται η καμπύλη μεταβολής της υγρασίας επί ξηρής βάσης συναρτήσεως του χρόνου, καθώς και η καμπύλη θεωρητικής υγρασίας από την οποία προέκυψε η σταθερά της ξήρανσης k για το Ροδίτη.



Διάγραμμα 4. Μεταβολή υγρασίας των παραπροϊόντων σταφυλιού της ποικιλίας Ροδίτη συναρτήσεως του χρόνου επιταχυνόμενης ηλιακής ξήρανσης

Αποτελέσματα επιταχυνόμενης ηλιακής ξήρανσης παραπροϊόντων σταφυλιού της ποικιλίας Μοσχοφίλερου

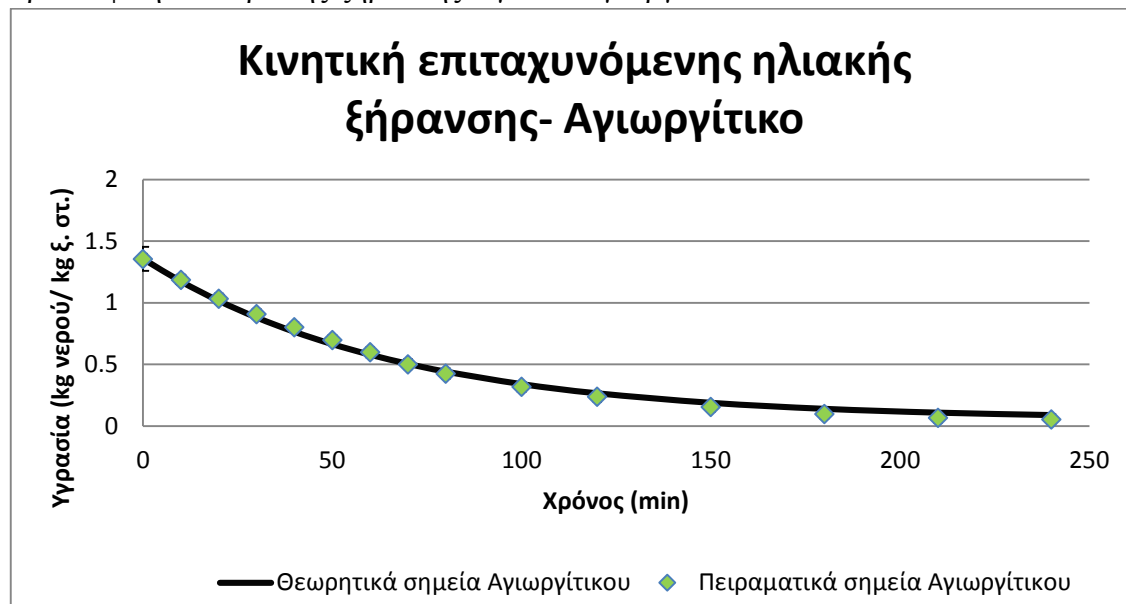
Παρακάτω παρουσιάζεται η καμπύλη μεταβολής της υγρασίας επί ξηρής βάσης συναρτήσεως του χρόνου, καθώς και η καμπύλη θεωρητικής υγρασίας από την οποία προέκυψε η σταθερά της ξήρανσης k για το Μοσχοφίλερο.



Διάγραμμα 5. Μεταβολή υγρασίας των παραπροϊόντων σταφυλιού της ποικιλίας Μοσχοφίλερου συναρτήσεως του χρόνου επιταχυνόμενης ηλιακής ξήρανσης

Αποτελέσματα επιταχυνόμενης ηλιακής ξήρανσης παραπροϊόντων σταφυλιού της ποικιλίας Αγιωργίτικο

Παρακάτω παρουσιάζεται η καμπύλη μεταβολής της υγρασίας επί ξηρής βάσης συναρτήσει του χρόνου, καθώς και η καμπύλη θεωρητικής υγρασίας από την οποία προέκυψε η σταθερά της ξήρανσης k για το Αγιωργίτικο.



Διάγραμμα 6. Μεταβολή υγρασίας των παραπροϊόντων σταφυλιού της ποικιλίας Αγιωργίτικο συναρτήσει του χρόνου επιταχυνόμενης ηλιακής ξήρανσης

Πίνακας 7. Σταθερά ξήρανσης (k), ποσοστό αρχικής υγρασίας (X_0) και ποσοστό υγρασίας ισορροπίας μετά το πέρας της ξήρανσης (X_e) για τις ποικιλίες Ροδίτη, Μοσχοφίλερο και Αγιωργίτικο με βάση το μοντέλο λεπτής στιβάδας Lewis στην περίπτωση της επιταχυνόμενης ηλιακής ξήρανσης

Ποικιλία παραπροϊόντος οινοποιείου	Σταθερά ξήρανσης k (min^{-1})	Ποσοστό αρχικής υγρασίας X_0 (kg νερού/kg ξ.στ.)	Ποσοστό υγρασίας ισορροπίας X_e (kg νερού/kg ξ.στ.)
Ροδίτης	$1,42 \cdot 10^{-2}$	1,7510	0,0857
Μοσχοφίλερο	$1,48 \cdot 10^{-2}$	2,1316	0,0627
Αγιωργίτικο	$1,52 \cdot 10^{-2}$	1,3565	0,0546

Με βάση τα διαγράμματα 4, 5, 6 παρατηρείται ότι το ποσοστό υγρασίας μειώνεται εκθετικά με το χρόνο ξήρανσης. Το ποσοστό υγρασίας μειώνεται γρήγορα στην αρχή της ξήρανσης ενώ στη συνέχεια μειώνεται αργά με την αύξηση του χρόνου ξήρανσης. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι αρχικά απορροφάται περισσότερη θερμική ενέργεια από το νερό στην επιφάνεια του υλικού ενώ στη συνέχεια, που η υγρασία της επιφάνειας του υλικού έχει απομακρυνθεί, η διεύδυση της θερμότητας στο ξηρό στρώμα μειώνεται επιβραδύνοντας τον ρυθμό ξήρανσης^[89].

Η μεταβολή της υγρασίας είναι έντονη στην αρχή της ξήρανσης και στη συνέχεια ελαττώνεται έως ότου φτάσει σε ένα πλατό όπου η μεταβολή της είναι ελάχιστη. Ο χρόνος στον οποίο εμφανίζεται το πλατό και για τις τρεις ποικιλίες είναι τα 180 min.

Η διεργασία της ξήρανσης ολοκληρώνεται στα 240 min όπου και τα τρία υλικά βρίσκονται στην υγρασία ισορροπίας. Ο χρόνος που απαιτήθηκε για να επιτευχθεί η υγρασία ισορροπίας είναι μεγαλύτερος στην επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση σε σχέση με την ξήρανση σε ρεύμα αέρα. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η μεταφορά θερμότητας λόγω συναγωγής στην δεύτερη περίπτωση είναι εντονότερη με αποτέλεσμα να επιταχύνεται η διάχυση της υγρασίας. Επίσης, η μεταφορά θερμότητας στην περίπτωση της ξήρανσης σε ρεύμα αέρα γίνεται και από τις δυο επιφάνειες του υλικού καθώς τα ράφια είναι διάτρητα σε αντίθεση με την επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση που πραγματοποιείται από την μια επιφάνεια με αποτέλεσμα να επιβραδύνεται η μεταφορά θερμότητας και μάζας. Με βάση τον πίνακα 7, η ποικιλία με το μεγαλύτερο ποσοστό αρχικής υγρασίας είναι το Μοσχοφίλερο, ακολουθεί ο Ροδίτης και τέλος το Αγιωργίτικο ενώ μεγαλύτερο ποσοστό τελικής υγρασίας παρουσιάζει ο Ροδίτης και ακολουθούν το Μοσχοφίλερο και Αγιωργίτικο. Όσον αφορά τη σταθερά ξήρανσης, το Αγιωργίτικο παρουσιάζει την μεγαλύτερη σταθερά και ακολουθούν ο Ροδίτης και το Μοσχοφίλερο. Η διαφορά ανάμεσα στις σταθερές ξήρανσης οφείλεται στην διαφορετική φύση των υλικών. Συγκρίνοντας τις σταθερές ξήρανσης που προκύπτουν από τις δυο μεθόδους ξήρανσης, η ξήρανση σε ρεύμα αέρα παρουσιάζει μεγαλύτερες σταθερές καθώς η μεταφορά θερμότητας αυξάνεται λόγω συναγωγής.

Τέλος, από τα διαγράμματα παρατηρείται καλή προσαρμογή των πειραματικών σημείων με τα θεωρητικά τα οποία προκύπτουν με βάση το μοντέλο λεπτής στοιβάδας του Lewis.

4.3 Εκχυλίσεις

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν τρεις μέθοδοι εκχύλισης: η συμβατική μέθοδος Soxhlet και οι πράσινες τεχνολογίες εκχύλισης με μικροκύματα και υπερήχους. Οι εκχυλίσεις πραγματοποιήθηκαν σε τρεις ποικιλίες παραπροϊόντων οινοποιείου συγκεκριμένα σε Ροδίτη, Μοσχοφίλερο και Αγιωργίτικο τόσο σε φρέσκα δείγματα όσο και σε δείγματα που προέρχονταν από ξήρανση σε ρεύμα αέρα και επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν στις εκχυλίσεις ήταν νερό, νερό: αιθανόλη (1:1) και αιθανόλη.

4.3.1 Συμβατική εκχύλιση Soxhlet

4.3.1.1 Υλικά- Εξοπλισμός

Για την εκχύλιση με τη μέθοδο Soxhlet χρησιμοποιήθηκαν φρέσκα δείγματα Ροδίτη, Μοσχοφίλερου και Αγιωργίτικου καθώς και ξηρά που προέρχονταν από τη ξήρανση σε ρεύμα αέρα και από την επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση.

Χρησιμοποιήθηκαν τα εξής αντιδραστήρια του εργαστηρίου (ΣΑΔ):

- Αιθανόλη
- Απιονισμένο νερό



Εικόνα 15. Συσκευή Soxhlet

Οι εκχυλίσεις με τη συμβατική μέθοδο Soxhlet (Εικόνα 15) πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο ΣΑΔ και ο εξοπλισμός που απαιτήθηκε ήταν:

- Φιάλη απόσταξης
- Συσκευή Soxhlet
- Μανδύας
- Ψυκτήρας νερού
- Δακτυλήθρα ξεχωριστή για κάθε υλικό

Η απομάκρυνση των οργανικών διαλυτών από τα εκχυλίσματα έγινε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Ο εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκε για την απομάκρυνση των οργανικών διαλυτών είναι :

- Περιστροφικός εξατμιστήρας (Rotary evaporator) (Εικόνα 16)
- Αντλία υψηλού κενού



Εικόνα 16. Περιστροφικός εξατμιστήρας

Τέλος, η απομάκρυνση του νερού από τα υδατικά εκχυλίσματα έγινε στο εργαστήριο ΣΑΔ με ξήρανση υπό κατάψυξη (Leybold-Heraeus GT 2A), μετά από εικοσιτετράωρη παραμονή των εκχυλισμάτων σε κατάψυξη στους -30°C (Εικόνα 17).



Εικόνα 17. Συσκευή ξήρανσης υπό κατάψυξη (Leybold-Heraeus GT 2A).

4.3.1.2 Συνθήκες εκχύλισης- Διαδικασία

Τα δείγματα που ήταν τοποθετημένα υπό ψύξη στους -30°C πριν την έναρξη της εκχύλισης αφήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου έως ότου ξεπαγώσουν. Στη συνέχεια, τα ξηρά δείγματα αλέστηκαν σε σκόνη.

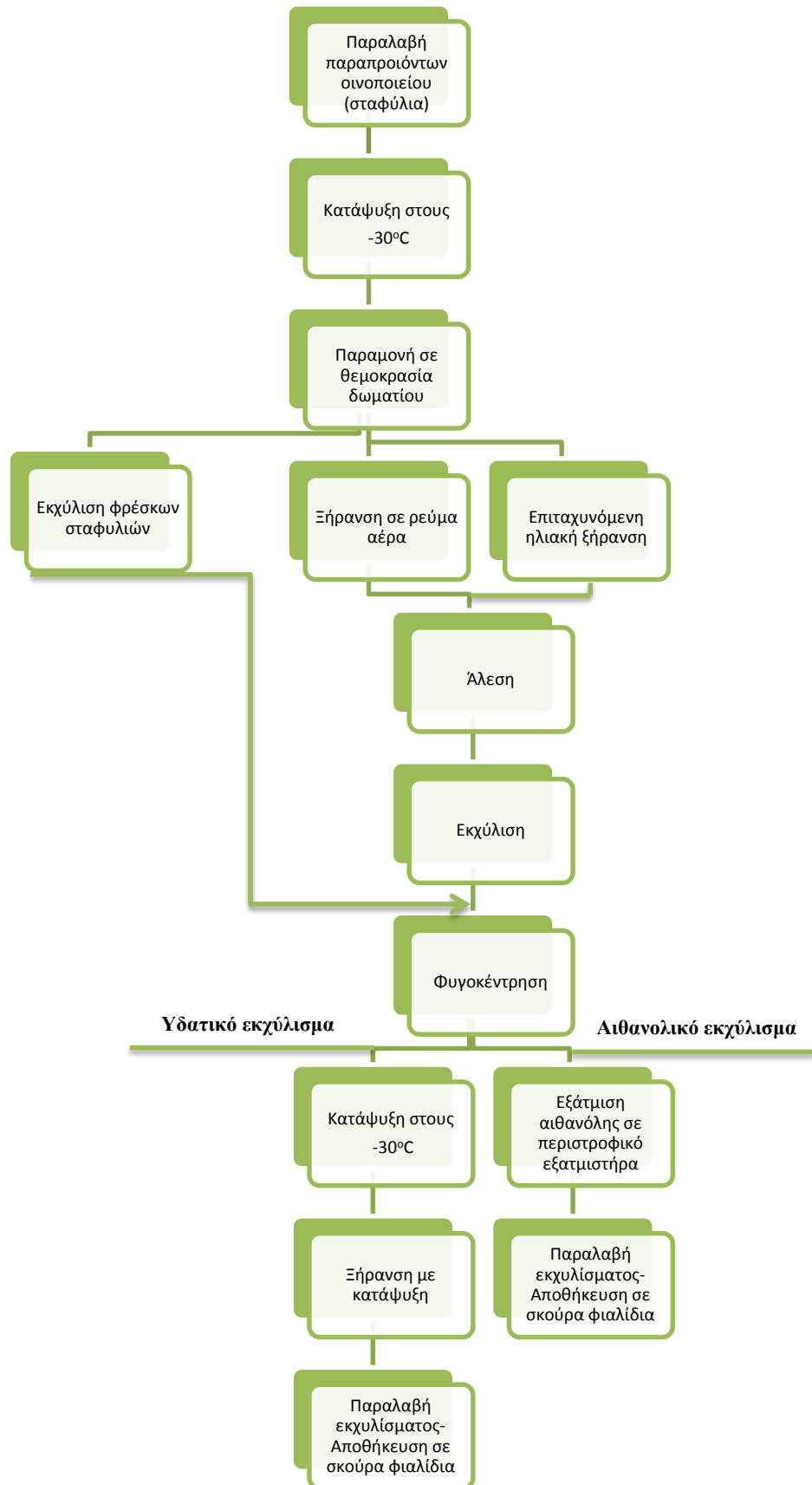
Αρχικά ζυγίζονται περίπου 3 g δείγματος και τοποθετούνται στην δακτυλήθρα. Ογκομετρούνται 100 ml διαλύτη και στη συνέχεια στήνεται η πειραματική διάταξη Soxhlet. Η εκχύλιση ολοκληρώνεται μετά από δέκα σιφωνισμούς, με διαφορετικό συνολικό χρόνο εκχύλισης για κάθε διαλύτη. Συγκεκριμένα, η εκχύλιση των δειγμάτων με απιονισμένο νερό διήρκεσε 360 min ενώ με την αιθανόλη 180 min.

Κατά την εκχύλιση Soxhlet, ο διαλύτης θερμαίνεται μέσω του μανδύα και οι ατμοί περνούν από τις σωληνώσεις και μόλις συναντήσουν το συμπυκνωτήρα πέφτουν σταγόνα-σταγόνα πίσω στη δακτυλήθρα και τη γεμίζουν μέχρι τον επόμενο σιφωνισμό. Μετά το πέρας των δέκα σιφωνισμών ο μανδύας απενεργοποιείται, η συσκευή αποσυναρμολογείται και παραλαμβάνεται το εκχύλισμα το οποίο στη συνέχεια μεταφέρεται στην περίπτωση του αιθανολικού εκχυλίσματος στη συσκευή του περιστροφικού εξατμιστήρα για την απομάκρυνση της αιθανόλης ενώ στην περίπτωση του υδατικού εκχυλίσματος τοποθετείται στην κατάψυξη για 24 h και στη συνέχεια πραγματοποιείται ξήρανση με κατάψυξη. Τέλος το εκχύλισμα που παραλαμβάνεται ζυγίζεται και τοποθετείται σε σκούρα φιαλίδια τα οποία αποθηκεύονται στο ψυγείο για περαιτέρω χρήση. Οι εκχύλισεις επαναλήφθηκαν δυο φορές με σκοπό τον προσδιορισμό του σφάλματος των αποδόσεων τους. Στην συνέχεια παρουσιάζεται το διάγραμμα ροής για την εκχύλιση Soxhlet.



Εικόνα 18 . Εκχύλιση Soxhlet παραπροϊόντων οινοποιείου των ποικιλιών Α,Β. Αγιοργίτικου, Γ,Δ. Ροδίτη και Ε,Ζ. Μοσχοφίλερου

4.3.1.3 Διάγραμμα ροής εκχύλισης Soxhlet



4.3.1.4 Αποτελέσματα- Αποδόσεις εκχυλίσεων Soxhlet

Η απόδοση εκχύλισης σε κάθε περίπτωση εκφράζεται ως το ποσοστό του ληφθέντος εκχυλίσματος σε σχέση με το ξηρό υλικό του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλιση, όπως περιγράφεται από την εξίσωση 4.5:

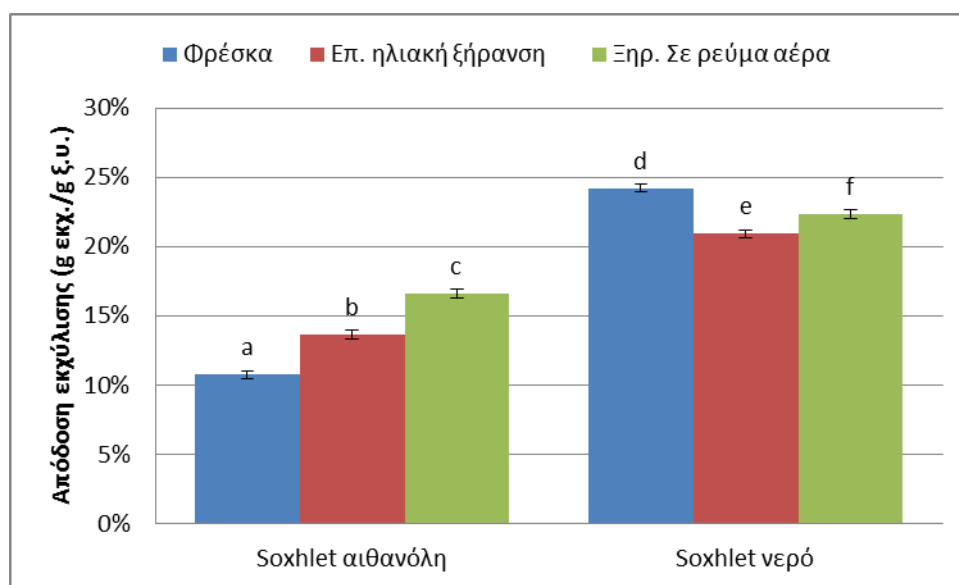
$$\text{Απόδοση εκχύλισης \%} = \frac{\text{Μάζα εκχυλίσματος (g)}}{\text{Μάζα ξηρού υλικού (g)}} \times 100 \quad (4.5)$$

Στατιστική ανάλυση

Ανάλυση διακύμανσης κατά δυο παράγοντες και το κριτήριο ελέγχου του Tukey's HSD εφαρμόστηκαν ώστε να ανιχνευθούν οι διαφορές στην απόδοση των εκχυλισμάτων λαμβάνοντας ως παράγοντες την μέθοδο ξήρανσης και τον διαλύτη εκχύλισης. Επιλέχθηκε ένα επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$ και οι διαφορές θεωρήθηκαν σημαντικές για $p < 0,05$.

Παρακάτω παρουσιάζονται οι αποδόσεις για τις τρεις ποικιλίες σταφυλιών (Ροδίτης, Μοσχοφίλερο, Αγιωργίτικο) σε μορφή διαγραμμάτων. Τιμές με διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά $p < 0,05$.

Αποτελέσματα αποδόσεων Soxhlet για τον Ροδίτη

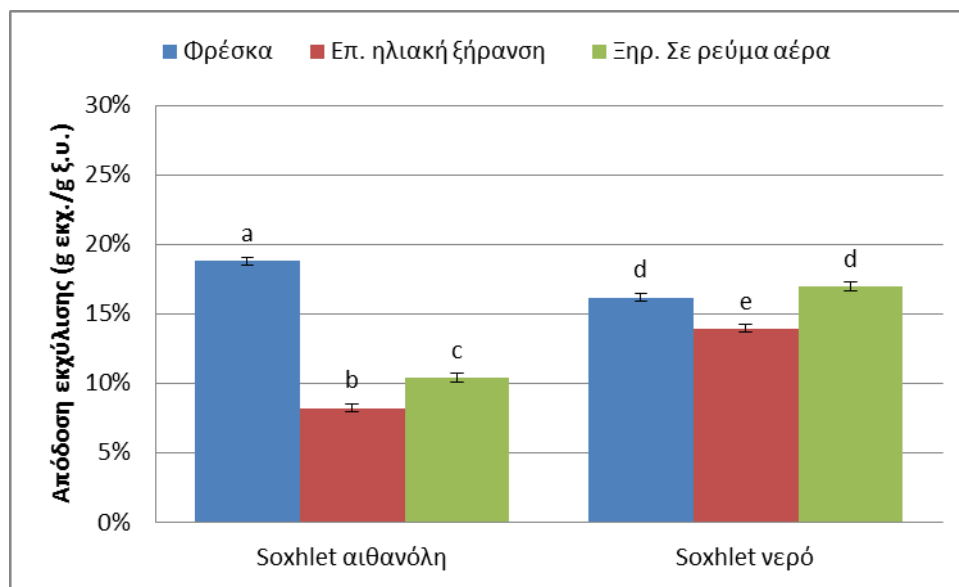


Διάγραμμα 7. Απόδοση Soxhlet για ξηρά και φρέσκα δείγματα Ροδίτη

Όσον αφορά την εκχύλιση Soxhlet δειγμάτων Ροδίτη, τα υδατικά εκχυλίσματα παρουσίασαν την μεγαλύτερη απόδοση σε σχέση με τα αιθανολικά τόσο για τα ξηρά όσο και τα φρέσκα δείγματα και οι αποδόσεις τους παρουσίασαν σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$). Αυτό πιθανώς οφείλεται στην αυξημένη πολικότητα του νερού σε σχέση με την αιθανόλη. Συγκεκριμένα, τα φρέσκα δείγματα παρουσίασαν την υψηλότερη απόδοση ($24,2 \pm 0,37\%$ ξ.β) και ακολούθησαν τα δείγματα που προέκυψαν έπειτα από ξήρανση σε ρεύμα αέρα (ΞΡΑ) ($22,40 \pm 0,35\%$ ξ.β.) και τέλος τα δείγματα από επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση (ΕΗΞ) ($20,90 \pm 0,28\%$ ξ.β.). Στην περίπτωση των αιθανολικών εκχυλισμάτων, την μεγαλύτερη απόδοση παρουσίασαν τα ξηρά δείγματα, $16,70 \pm 0,31\%$ και $10,8 \pm 0,35\%$ ξ. β. για τα δείγματα ΕΗΞ και

ΞΡΑ αντίστοιχα και ακολούθησαν τα φρέσκα με απόδοση $10,8 \pm 0,35\%$ ξ.β.. Η διαφορά ανάμεσα στα ξηρά και φρέσκα δείγματα οφείλεται στο γεγονός ότι η ξήρανση επηρεάζει την μήτρα του υλικού με αποτέλεσμα να ευνοείται η εκχύλιση των ενώσεων^[90].

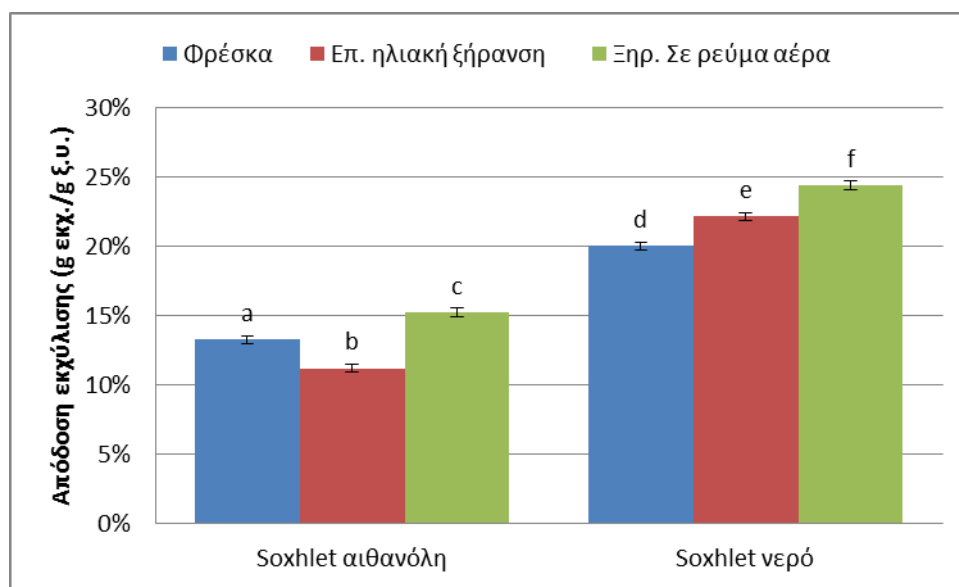
Αποτελέσματα αποδόσεων Soxhlet για το Μοσχοφίλερο



Διάγραμμα 8. Απόδοση Soxhlet για ξηρά και φρέσκα δείγματα Μοσχοφίλερου

Όσον αφορά την εκχύλιση Soxhlet δειγμάτων Μοσχοφίλερου, την μεγαλύτερη απόδοση παρουσίασε το αιθανολικό εκχύλισμα για τα φρέσκα δείγματα ($18,8 \pm 0,28\%$ ξ.β.) σε αντίθεση με τα ξηρά που έδειξαν την χαμηλότερη απόδοση, ($8,2 \pm 0,24\%$ ξ.β.) για τα δείγματα ΕΗΞ και ($10,4 \pm 0,32\%$ ξ.β.) για τα δείγματα ΞΡΑ. Το γεγονός υποδεικνύει ότι η υγρασία στο υλικό δρα ως συνδιαλύτης και ευνοεί την εκχύλιση των διαλυμένων ουσιών. Συγκεκριμένα, η υγρασία στο υλικό θερμαίνεται, εξατμίζεται και δημιουργεί εσωτερική πίεση στο κύτταρο, η οποία θραύει το κύτταρο και απελευθερώνει τις διαλυμένες ουσίες, βελτιώνοντας έτσι την απόδοση εκχύλισης^[91]. Όσον αφορά τα υδατικά εκχυλίσματα, τα δείγματα ΞΡΑ ($17,0 \pm 0,35\%$ ξ.β.) παρουσίασαν την μεγαλύτερη απόδοση και ακολουθούν τα φρέσκα δείγματα ($16,2 \pm 0,32\%$ ξ.β.) χωρίς σημαντικές διαφορές στην απόδοση ($p > 0,05$) και τέλος τα ΕΗΞ ($14,0 \pm 0,27\%$ ξ.β.).

Αποτελέσματα αποδόσεων Soxhlet για το Αγιωργίτικο



Διάγραμμα 9. Απόδοση Soxhlet για ξηρά και φρέσκα δείγματα Αγιωργίτικου

Όσον αφορά την εκχύλιση Soxhlet δειγμάτων Αγιωργίτικου, τα δείγματα ΞΡΑ παρουσίασαν την μεγαλύτερη απόδοση εκχύλισης τόσο χρησιμοποιώντας νερό ή αιθανόλη για διαλύτες με απόδοση $24,35 \pm 0,34$ και $15,21 \pm 0,32$ % ξ.β., αντίστοιχα. Στην περίπτωση των υδατικών εκχυλισμάτων, τα δείγματα ΕΗΞ παρουσίασαν την δεύτερη καλύτερη απόδοση ($22,13 \pm 0,25$ % ξ.β.) και ακολούθησαν τα φρέσκα δείγματα ($20,02 \pm 0,30$ % ξ.β.). Η διαφορά ανάμεσα στην απόδοση ξηρών και φρέσκων δειγμάτων δείχνει ότι η διεργασία της ξήρανσης ευνοεί την εκχύλιση καθώς ο διαλύτης εισέρχεται ευκολότερα στο υλικό και παρασύρει τις βιοδραστικές ενώσεις^[92]. Από την άλλη μεριά, τα φρέσκα δείγματα παρουσίασαν καλύτερη απόδοση ($13,28 \pm 0,27$ % ξ.β.) από τα ΕΗΞ ($11,20 \pm 0,28$ % ξ.β.) χρησιμοποιώντας αιθανόλη ως διαλύτη. Αυτή η διαφορά δείχνει ότι η απόδοση της εκχύλισης βελτιώνεται από την υγρασία του υλικού, η οποία δρα ως συνδιαλύτης^[93].

4.3.2 Εκχύλιση με μικροκύματα

4.3.2.1 Υλικά- Εξοπλισμός

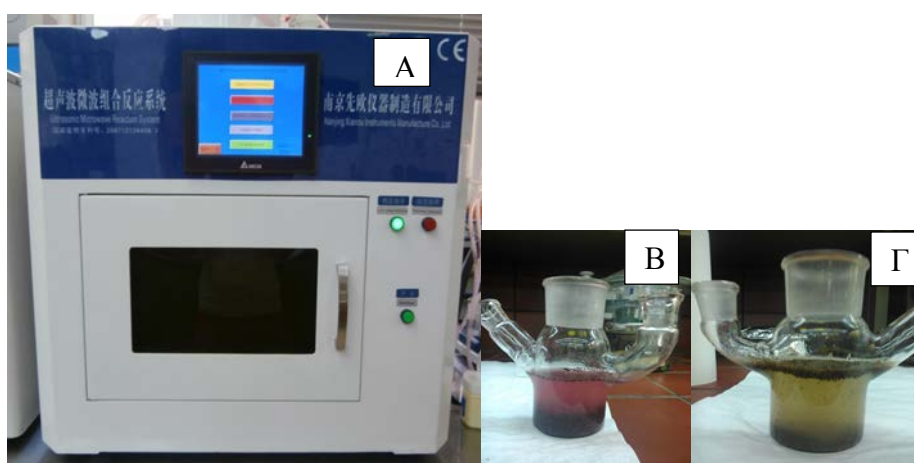
Για την εκχύλιση με μικροκύματα χρησιμοποιήθηκαν φρέσκα δείγματα Ροδίτη, Μοσχοφίλερου και Αγιωργίτικου καθώς και ξηρά που προέρχονταν από ξήρανση σε ρεύμα αέρα και από επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση.

Ως διαλύτες χρησιμοποιήθηκαν απιονισμένο νερό και σύστημα διαλυτών νερού: αιθανόλης (1:1).

Τα πειράματα των εκχυλίσεων με μικροκύματα και η απομάκρυνση του νερού από τα εκχυλίσματα μέσω ξήρανσης με κατάψυξη πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών της Σχολής Χημικών Μηχανικών. Ο διαχωρισμός του συστήματος διαλυτών νερού: αιθανόλης πραγματοποιήθηκε με χρήση του περιστροφικού εξατμιστήρα για την απομάκρυνση της αιθανόλης στο

εργαστήριο Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου και με τη χρήση της ξήρανσης με κατάψυξη για την απομάκρυνση του νερού. Μετά το τέλος της εκχύλισης ο διαχωρισμός του εκχυλίσματος από την στερεή πρώτη ύλη έγινε με τη βοήθεια φυγοκεντρικού διαχωριστή στο εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών. Ο εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκε είναι:

- Ultrasonic Microwave Reaction System (Nanjing Xianou Instruments Manufacture co.,ltd., Nanjing City, China) (Εικόνα 19)
- Ζυγός ακριβείας (Kern ABS/ABJ, Balingen, Germany)
- Μονάδα ξήρανσης με κατάψυξη (Leybold – Heraeus GT 2A, Koln, Germany)
- Περιστροφικός εξατμιστήρας
- Φυγοκεντρικός διαχωριστής



Εικόνα 19 . Α. Συσκευή εκχύλισης με μικροκύματα (Nanjing Xianou Instruments Manufacture co.,ltd., Nanjing City, China) και δοχείο εκχύλισης με εκχύλισμα Β. Αγιωργίτικου και Γ. Μοσχοφίλερου

4.3.2.2 Συνθήκες εκχύλισης- Διαδικασία

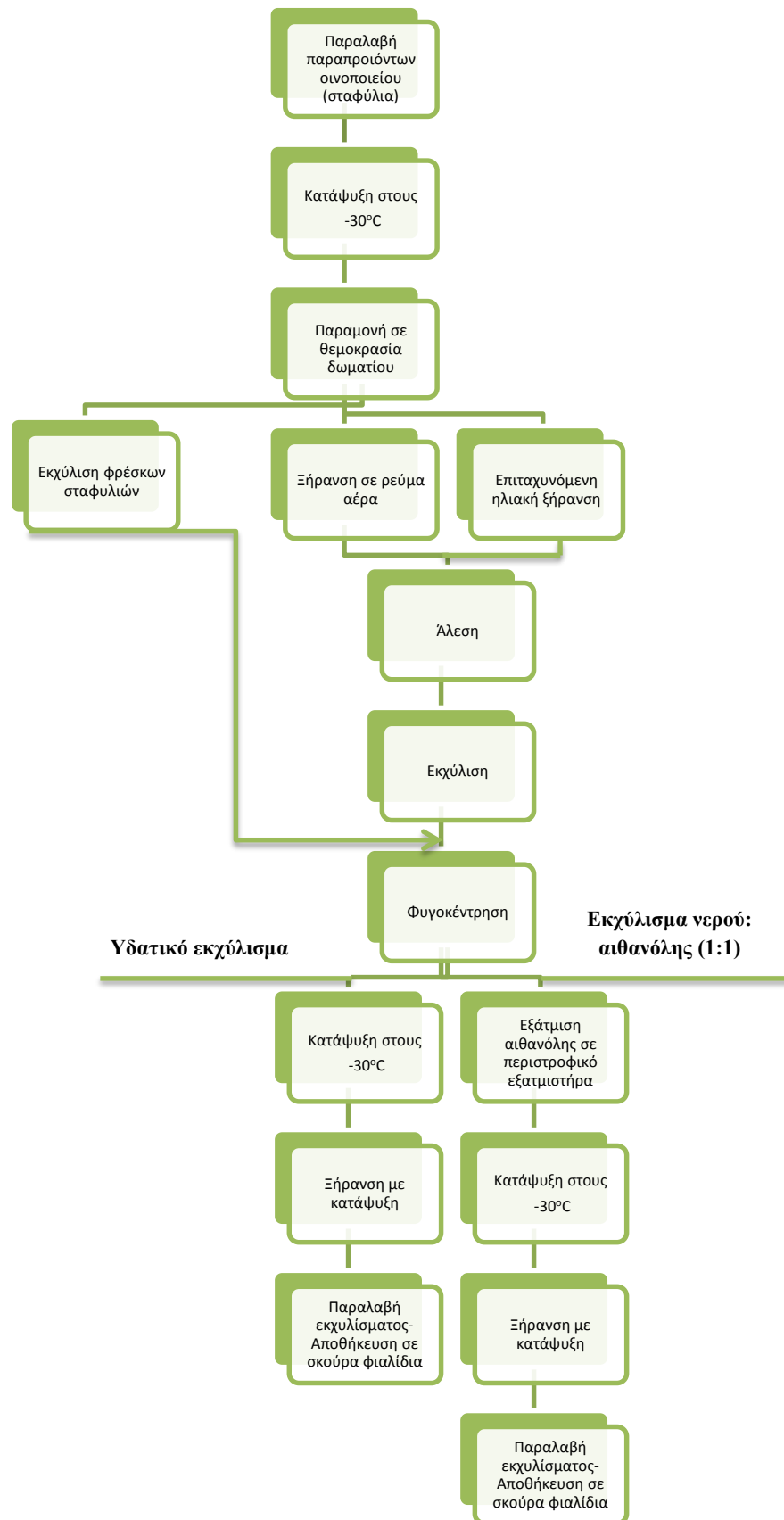
Τα δείγματα που ήταν τοποθετημένα υπό ψύξη στους $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ πριν την έναρξη της εκχύλισης αφήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου έως ότου ξεπαγώσουν. Στη συνέχεια, τα ξηρά δείγματα αλέστηκαν σε σκόνη.

Αρχικά ζυγίζονται περίπου 2 g δείγματος και ογκομετρούνται 100 ml διαλύτη και στη συνέχεια τοποθετούνται στο ειδικό δοχείο εκχύλισης της συσκευής μικροκυμάτων. Ενεργοποιείται η συσκευή ψύξης και ρυθμίζεται η θερμοκρασία στους $10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Το δοχείο εκχύλισης τοποθετείται στο θάλαμο συσκευής μικροκυμάτων. Το δοχείο έχει δύο υποδοχείς όπου στον ένα τοποθετείται το θερμόμετρο το οποίο καταγράφει και ρυθμίζει τη θερμοκρασία στο δοχείο εκχύλισης ενώ στον άλλο τοποθετείται ένα εξάρτημα το οποίο λειτουργεί ως συμπυκνωτήρας ώστε να μειώνονται οι απώλειες του διαλύτη. Κλείνεται η πόρτα της συσκευής μικροκυμάτων και ρυθμίζεται η θερμοκρασία στους $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ και στα 200 W. Η εκχύλιση πραγματοποιείται σε χρόνους εκχύλισης 5, 10, 20, 60 min. Οι εκχυλίσεις έγιναν σε τρεις επαναλήψεις.

Μετά το πέρας της εκχύλισης ο διαχωρισμός του εκχυλίσματος από τη στερεή πρώτη ύλη έγινε με χρήση φυγοκεντρικού διαχωριστή. Στη συνέχεια, το υδατικό εκχύλισμα

τοποθετείται σε περιέκτες στην κατάψυξη στους $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 24h. Ακολουθεί ξήρανση με κατάψυξη για 24 h, για την παραλαβή του καθαρού εκχύλισματος, χωρίς να υπάρχει αλλοίωση των συστατικών του. Όσον αφορά το εκχύλισμα νερού: αιθανόλης, αρχικά μεταφέρεται στη συσκευή του περιστροφικού εξατμιστήρα για λίγα λεπτά ώστε να απομακρυνθεί η αιθανόλη και στη συνέχεια το εκχύλισμα μεταφέρεται σε περιέκτες στην κατάψυξη στους $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 24h. Ακολουθεί ξήρανση με κατάψυξη για 24 h, για την παραλαβή του καθαρού εκχύλισματος. Τέλος το εκχύλισμα που παραλαμβάνεται ζυγίζεται και τοποθετείται σε σκούρα φιαλίδια τα οποία αποθηκεύονται στο ψυγείο για περαιτέρω χρήση.

4.3.2.3 Διάγραμμα ροής εκχύλισης με μικροκύματα και υπερήχους

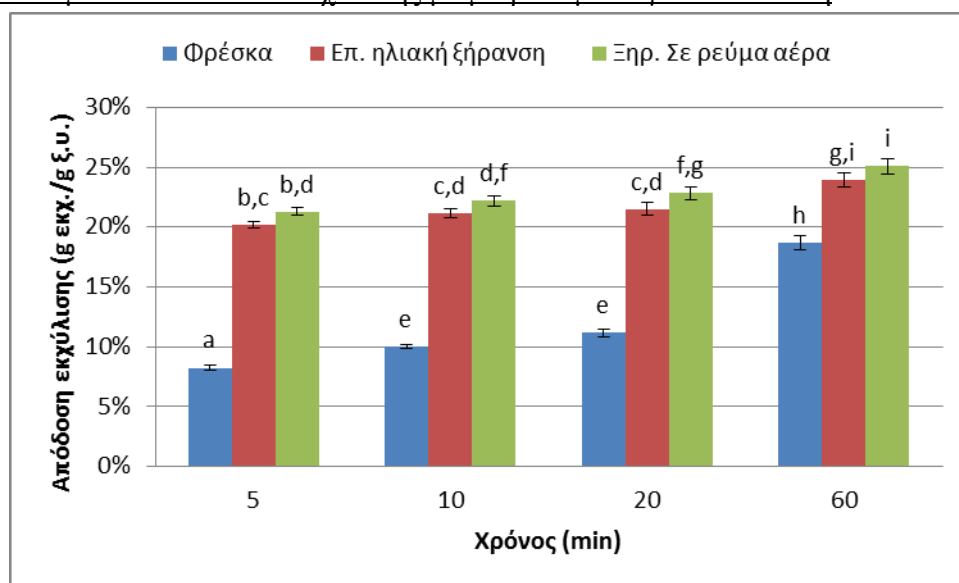


4.3.2.4 Αποτελέσματα- Αποδόσεις εκχυλίσεων με μικροκύματα

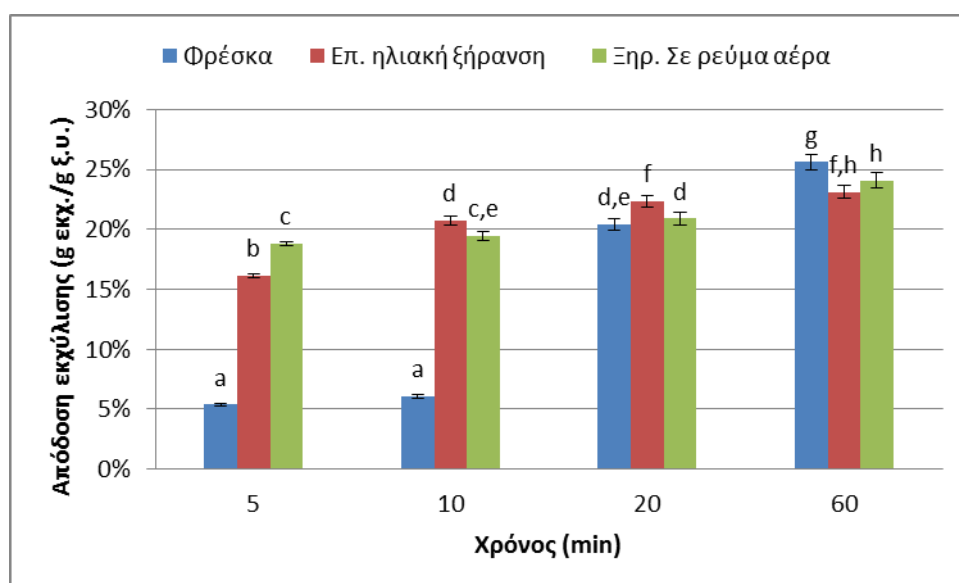
Η απόδοση εκχύλισης σε κάθε περίπτωση υπολογίζεται με βάση τον τύπο (4.5). Στα αποτελέσματα των εκχυλίσεων πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης κατά δυο παράγοντες και το κριτήριο ελέγχου του Tukey's HSD ώστε να ανιχνευθούν οι διαφορές στην απόδοση των εκχυλισμάτων λαμβάνοντας ως παράγοντες την μέθοδο ξήρανσης και το χρόνο εκχύλισης. Επιλέχθηκε ένα επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$ και οι διαφορές θεωρήθηκαν σημαντικές για $p < 0,05$.

Παρακάτω παρουσιάζονται οι αποδόσεις για τις τρεις ποικιλίες σταφυλιών (Ροδίτης, Μοσχοφίλερο, Αγιωργίτικο) σε μορφή διαγραμμάτων. Τιμές με διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά $p < 0,05$.

Αποτελέσματα αποδόσεων εκχύλισης με μικροκύματα για τον Ροδίτη



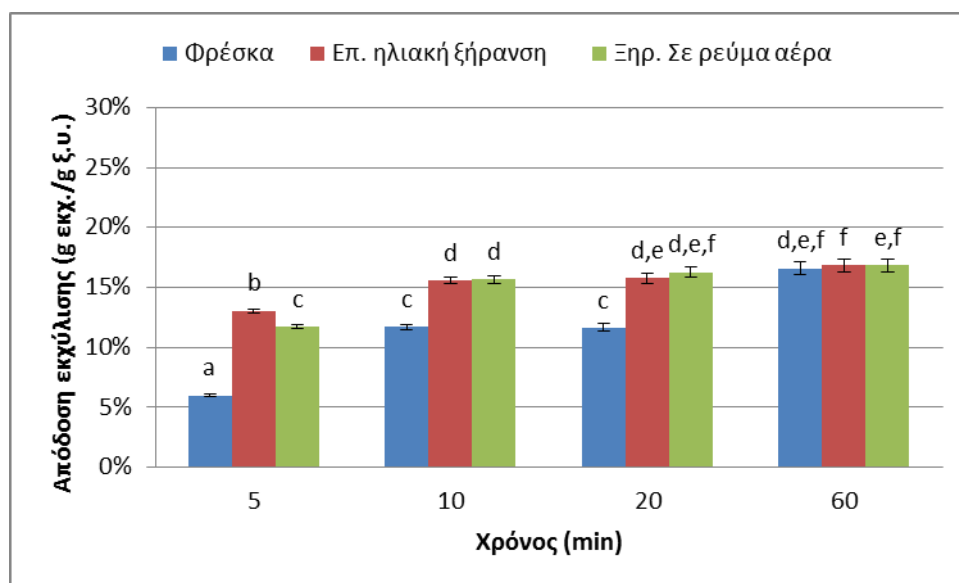
Διάγραμμα 10. Απόδοση εκχύλισης με μικροκύματα με χρήση νερού ως διαλύτη για ξηρά και φρέσκα δείγματα Ροδίτη



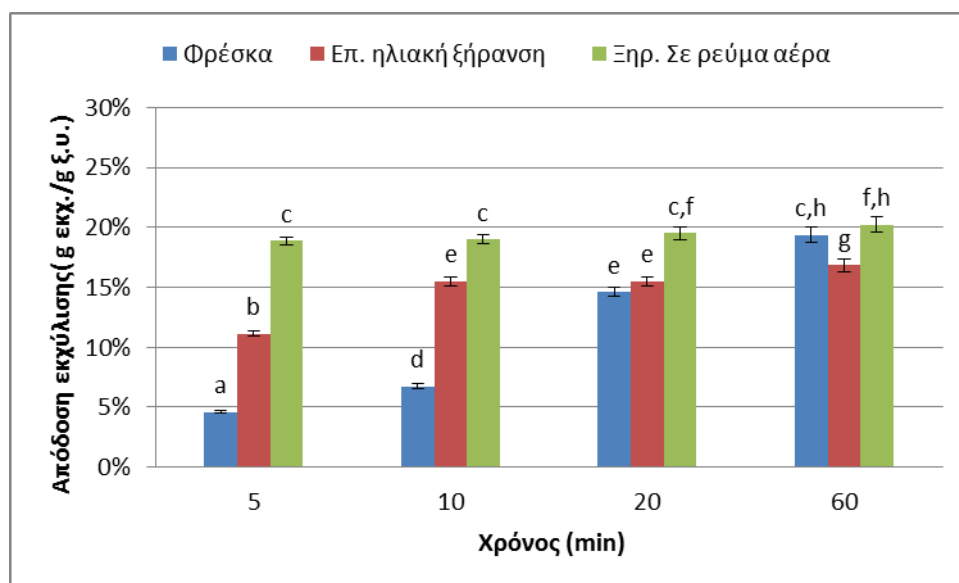
Διάγραμμα 11. Απόδοση εκχύλισης με μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης (1:1) ως διαλύτη για ξηρά και φρέσκα δείγματα Ροδίτη

Σύμφωνα με τα διαγράμματα 10- 13, παρατηρείται ότι οι τεχνικές εκχύλισης, η προκατεργασία του δείγματος, ο διαλύτης και ο χρόνος εκχύλισης επηρεάζουν σημαντικά την απόδοση των εκχυλισμάτων. Όσον αφορά τις αποδόσεις της εκχύλισης με μικροκύματα με χρήση νερού ως διαλύτη που προέκυψαν από την ποικιλία Ροδίτη (Διάγραμμα 10) κυμαίνονται από $8,25 \pm 0,17$ έως $18,70 \pm 0,56$, $20,19 \pm 0,26$ έως $23,93 \pm 0,62$ και $21,28 \pm 0,32$ έως $25,07 \pm 0,63$ g εκχ./ 100 g ξ.υ. στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων που προέκυψαν έπειτα από επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση (ΕΗΞ) και των δειγμάτων από ξήρανση σε ρεύμα αέρα (ΞΡΑ), αντίστοιχα. Συγκρίνοντας την εκχύλιση με μικροκύματα με τη Soxhlet χρησιμοποιώντας νερό ως διαλύτη, η πρώτη παρουσίασε μεγαλύτερη απόδοση για τα ξηρά δείγματα στα 60 min, $23,93 \pm 0,62\%$ και $25,07 \pm 0,63\%$ ξ. β. για τα ΕΗΞ και ΞΡΑ αντίστοιχα, οδηγώντας στον συμπέρασμα ότι η εκχύλιση με μικροκύματα είναι μια αποτελεσματική μέθοδος για την εκχύλιση βιοδραστικών ενώσεων σε συντομότερο χρόνο και με λιγότερη κατανάλωση διαλύτη^[94]. Επίσης συγκρίνοντας τα υδατικά εκχυλίσματα που προέκυψαν από εκχύλιση με μικροκύματα για τα φρέσκα και ξηρά δείγματα, τα ξηρά δείγματα παρουσίασαν μεγαλύτερη απόδοση από τα φρέσκα ($18,70 \pm 0,56\%$ ξ.β.) καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι η ξήρανση ευνοεί την εκχύλιση ωφέλιμων ενώσεων. Συγκεκριμένα, κατά την ξήρανση το υλικό υφίσταται καταστροφή των κυτταρικών τοιχωμάτων και δημιουργούνται μεγάλες κοιλότητες με αποτέλεσμα τα κυτταρικά υποστρώματα να εκχυλίζονται εύκολα^[92]. Συγκρίνοντας τις αποδόσεις των φρέσκων και ξηρών δειγμάτων, τα δείγματα ΞΡΑ παρουσίασαν καλύτερη απόδοση σε όλους τους χρόνους εκχύλισης. Επίσης παρατηρείται ότι η απόδοση των φρέσκων εκχυλισμάτων αυξάνεται σταδιακά ενώ στην περίπτωση των ξηρών παρουσιάζονται μεγάλες αποδόσεις από τα 5 min γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η εκχύλιση με μικροκύματα σε συνδυασμό με την προκατεργασία της ξήρανσης συμβάλλουν στην αύξηση της απόδοσης εκχύλισης. Συγκρίνοντας την εκχύλιση με μικροκύματα χρησιμοποιώντας νερό και νερό :αιθανόλη (1:1) ως διαλύτη, παρατηρείται ότι η εκχύλιση με μικροκύματα και νερό ως διαλύτη παρουσιάζει καλύτερη απόδοση για τα ξηρά δείγματα σε όλους τους χρόνους εκχύλισης. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι κατά την εκχύλιση με μικροκύματα, η περιστροφή του δίπολου ενός πολικού διαλύτη που βρίσκεται σε πεδίο μικροκυμάτων είναι ο κύριος μηχανισμός για την ενίσχυση της απόδοσης. Η ένωση στόχος έτσι απορροφά επαρκώς την ενέργεια των μικροκυμάτων και μεταφέρεται γρήγορα στο διαλύτη εκχύλισης^[95]. Οι αποδόσεις της εκχύλισης με μικροκύματα χρησιμοποιώντας νερό :αιθανόλη (1:1) ως διαλύτη (Διάγραμμα 11) κυμαίνονται από $5,38 \pm 0,13\%$ έως $25,60 \pm 0,64\%$, $16,14 \pm 0,18\%$ έως $23,10 \pm 0,55\%$ και $18,81 \pm 0,19\%$ έως $24,06 \pm 0,63\%$ g εκχ./ 100 g ξ.υλ. στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων ΕΗΞ και ΞΡΑ, αντίστοιχα. Τέλος όπως και στην περίπτωση της εκχύλισης με μικροκύματα με χρήση νερού ως διαλύτη τα ξηρά δείγμα παρουσίασαν καλύτερη απόδοση από τα φρέσκα και σε συντομότερους χρόνους εκχύλισης.

Αποτελέσματα αποδόσεων εκχύλισης με μικροκύματα για το Μοσχοφίλερο



Διάγραμμα 12. Απόδοση εκχύλισης με μικροκύματα με χρήση νερού ως διαλύτη για ξηρά και φρέσκα δείγματα Μοσχοφίλερου



Διάγραμμα 13. Απόδοση εκχύλισης με μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης (1:1) ως διαλύτη για ξηρά και φρέσκα δείγματα Μοσχοφίλερου

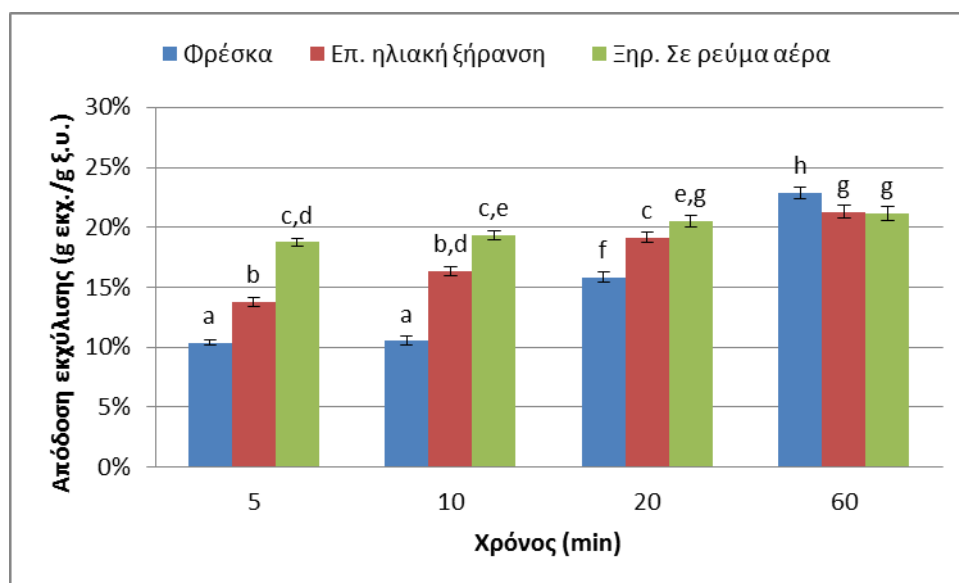
Όσον αφορά τις αποδόσεις της εκχύλισης με μικροκύματα με χρήση νερού ως διαλύτη (Διάγραμμα 12) που προέκυψαν για την ποικιλία Μοσχοφίλερο κυμαίνονται από $6,00 \pm 0,13$ έως $16,58 \pm 0,55$, $13,04 \pm 0,17$ έως $16,84 \pm 0,54$ και $11,70 \pm 0,18$ έως $16,84 \pm 0,51$ g εκχ./ 100 g ξ.υ. στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων ΕΗΞ και ΞΡΑ, αντίστοιχα. Συγκρίνοντας την εκχύλιση με μικροκύματα με τη Soxhlet χρησιμοποιώντας νερό ως διαλύτη, η πρώτη παρουσίασε μεγαλύτερη απόδοση για τα φρέσκα δείγματα και τα δείγματα ΕΗΞ στα 60 min, $16,58 \pm 0,55\%$ και $16,84 \pm 0,54\%$ ξ. β. αντίστοιχα. Σημειώνεται ότι η εκχύλιση Soxhlet με χρήση

νερού ως διαλύτη παρουσίασε μεγαλύτερη απόδοση για τα ΞΡΑ από ότι η εκχύλιση με μικροκύματα ($16,58 \pm 0,51\%$). Ωστόσο, η εκχύλιση Soxhlet απαιτεί περισσότερο χρόνο (360 min) από ότι τα μικροκύματα (60 min) και η διαφορά ανάμεσα στις αποδόσεις είναι περίπου 3% με αποτέλεσμα τα μικροκύματα να υπερτερούν έναντι της κλασικής μεθόδου.

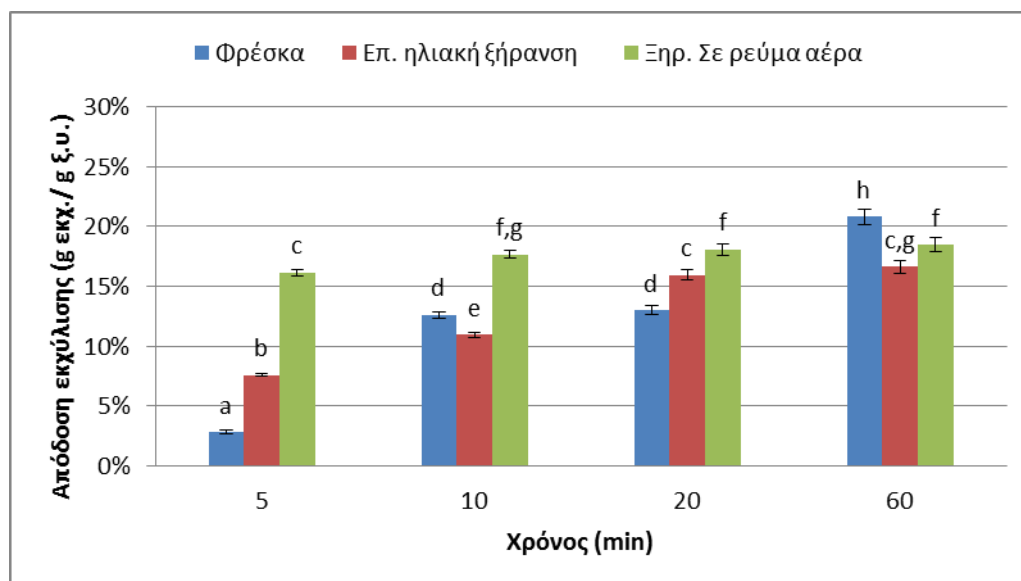
Επίσης, συγκρίνοντας τα υδατικά εκχυλίσματα που προέκυψαν από εκχύλιση με μικροκύματα για τα φρέσκα και ξηρά δείγματα, τα ξηρά δείγματα παρουσίασαν μεγαλύτερη απόδοση από τα φρέσκα σε όλους τους χρόνους εκχύλισης καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι η ξήρανση ευνοεί την εκχύλιση βιοδραστικών ενώσεων. Ωστόσο στα 60 min οι αποδόσεις ανάμεσα στα φρέσκα και ξηρά δείγματα δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Παρ' όλο αυτά, τα ξηρά δείγματα παρουσιάζουν αυξημένες αποδόσεις από τα πρώτα 5 min ενώ στα φρέσκα δείγματα η απόδοση αυξάνεται σταδιακά όπως παρατηρήθηκε και στις αποδόσεις από την ποικιλία Ροδίτη. Συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι μετά τα 10 min οι αποδόσεις των δειγμάτων ΞΡΑ δεν διαφέρουν μεταξύ τους ($p > 0,05$). Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η θέρμανση των μικροκυμάτων οδηγεί στην επέκταση και ρήξη των κυτταρικών τοιχωμάτων και έτσι ακολουθεί απελευθέρωση των χημικών ουσιών εντός του διαλύτη και ως εκ τούτου ο συνδυασμός της προκατεργασίας της ξήρανσης με τα μικροκύματα οδηγούν σε υψηλές αποδόσεις σε σύντομο χρόνο ξήρανσης^[96].

Συγκρίνοντας την εκχύλιση με μικροκύματα χρησιμοποιώντας νερό και νερό :αιθανόλη (1:1) ως διαλύτη, παρατηρείται ότι το νερό :αιθανόλη (1:1) παρουσιάζει καλύτερη απόδοση για τα φρέσκα και ξηρά δείγματα στα 60 min. Οι αποδόσεις της εκχύλισης με μικροκύματα χρησιμοποιώντας νερό :αιθανόλη (1:1) ως διαλύτη (Διάγραμμα 13) κυμαίνονται από $4,61 \pm 0,12$ έως $19,38 \pm 0,60$, $11,14 \pm 0,17$ έως $16,85 \pm 0,52$ και $11,70 \pm 0,18$ έως $20,21 \pm 0,63$ g εκχ./ 100 g ξ.υλ. στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων ΕΗΞ και ΞΡΑ, αντίστοιχα. Συγκρίνοντας τα εκχυλίσματα νερό :αιθανόλη (1:1) που προέκυψαν από εκχύλιση με μικροκύματα για τα φρέσκα και ξηρά δείγματα, τα δείγματα ΞΡΑ παρουσίασαν την μεγαλύτερη απόδοση, ακολουθούν τα φρέσκα και τέλος τα δείγματα ΕΠΞ. Ιδιαίτερα, τα δείγματα ΞΡΑ από τα 5 min έως τα 20 min δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) γεγονός που αποδεικνύει την επιτάχυνση της διεργασίας εκχύλισης όταν έχει προηγηθεί η προκατεργασία της ξήρανσης.

Αποτελέσματα αποδόσεων εκχύλισης με μικροκύματα για το Αγιωργίτικο



Διάγραμμα 14. Απόδοση εκχύλισης με μικροκύματα με χρήση νερού ως διαλύτη για ξηρά και φρέσκα δείγματα Αγιωργίτικου



Διάγραμμα 15. Απόδοση εκχύλισης με μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης (1:1) ως διαλύτη για ξηρά και φρέσκα δείγματα Αγιωργίτικου

Όσον αφορά τις αποδόσεις της εκχύλισης με μικροκύματα με χρήση νερού ως διαλύτη (Διάγραμμα 14) που προέκυψαν για την ποικιλία Αγιωργίτικο κυμαίνονται από $10,36 \pm 0,20$ έως $22,87 \pm 0,52$, $17,45 \pm 0,35$ έως $21,29 \pm 0,56$ και $18,75 \pm 0,28$ έως $21,18 \pm 0,57$ g εκχ./ 100 g ξ.υ. στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων ΕΗΞ και ΕΡΑ, αντίστοιχα. Συγκρίνοντας την εκχύλιση με μικροκύματα με τη μέθοδο Soxhlet χρησιμοποιώντας νερό ως διαλύτη, η πρώτη παρουσίασε μεγαλύτερη απόδοση εκχύλισης για τα φρέσκα δείγματα στα 60 min ($22,87 \pm 0,52\%$ ξ.β.) σε αντίθεση με τα δείγματα ΕΡΑ ($21,18 \pm 0,57\%$ ξ.β.) και ΕΗΞ ($21,29 \pm 0,56\%$

ξ.β.). Ωστόσο η εκχύλιση Soxhlet απαιτεί περισσότερο χρόνο (360 min) από ότι τα μικροκύματα (60 min) και η διαφορά ανάμεσα στις αποδόσεις είναι περίπου 3% και 1% ξ.β. για τα δείγματα ΞΡΑ και ΕΗΞ, αντίστοιχα, με αποτέλεσμα τα μικροκύματα να υπερτερούν έναντι της κλασσικής μεθόδου.

Επίσης συγκρίνοντας τα υδατικά εκχυλίσματα που προέκυψαν από εκχύλιση με μικροκύματα για τα φρέσκα και ξηρά δείγματα, τα φρέσκα δείγματα παρουσίασαν μεγαλύτερη απόδοση στα 60 min οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η περιεχόμενη υγρασία ενισχύει την επίδραση των μικροκυμάτων. Συγκεκριμένα, το νερό στο υλικό απορροφά την ενέργεια των μικροκυμάτων, έτσι η κυτταρική διάσπαση προάγεται από την εσωτερική υπερθέρμανση η οποία διευκολύνει την εκρόφιση των ενώσεων του υλικού στο διαλύτη και βελτιώνει την ανάκτηση των βιοδραστικών ενώσεων^[97]. Όσον αφορά τα ξηρά δείγματα, τα δείγματα ΞΡΑ και ΕΗΞ παρουσίασαν αυξημένες αποδόσεις από τα 5 min ενώ μη σημαντικές διαφορές παρουσιάστηκαν ανάμεσα στα 5 και 10 min της εκχύλισης ($p > 0,05$).

Συγκρίνοντας την εκχύλιση με μικροκύματα χρησιμοποιώντας νερό και νερό :αιθανόλη (1:1) ως διαλύτη, παρατηρείται ότι το νερό παρουσιάζει υψηλότερες αποδόσεις για τα φρέσκα και ξηρά δείγματα σε όλους τους χρόνους εκχύλισης γεγονός που οφείλεται στην υψηλή διηλεκτρική σταθερά του νερού με αποτέλεσμα να απορροφά έντονα την ενέργεια των μικροκυμάτων^[95]. Οι αποδόσεις της εκχύλισης με μικροκύματα χρησιμοποιώντας νερό :αιθανόλη (1:1) ως διαλύτη (Διάγραμμα 15) κυμαίνονται από $2,82 \pm 0,14$ έως $20,78 \pm 0,64$, $7,61 \pm 0,11$ έως $16,61 \pm 0,52$ και $16,14 \pm 0,24$ έως $18,45 \pm 0,57$ g εκχ./ 100 g ξ.υλ. στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων ΕΗΞ και ΞΡΑ, αντίστοιχα. Συγκρίνοντας τα εκχυλίσματα νερό :αιθανόλη (1:1) που προέκυψαν από εκχύλιση με μικροκύματα για τα ξηρά δείγματα, η απόδοση των δειγμάτων ΞΡΑ δεν μεταβάλλεται σημαντικά μετά τα 10 min ($p > 0,05$) οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η προκατεργασία των δειγμάτων σε ρεύμα αέρα ενισχύει την διείσδυση του διαλύτη και της διάχυση των ενώσεων σε σύντομους χρόνους εκχύλισης. Επίσης, τα δείγματα ΞΡΑ παρουσίασαν υψηλότερη απόδοση σε όλους τους χρόνους εκχύλισης από ότι τα δείγματα ΕΗΞ.

4.3.3 Εκχύλιση με υπερήχους

4.3.3.1 Υλικά- Εξοπλισμός

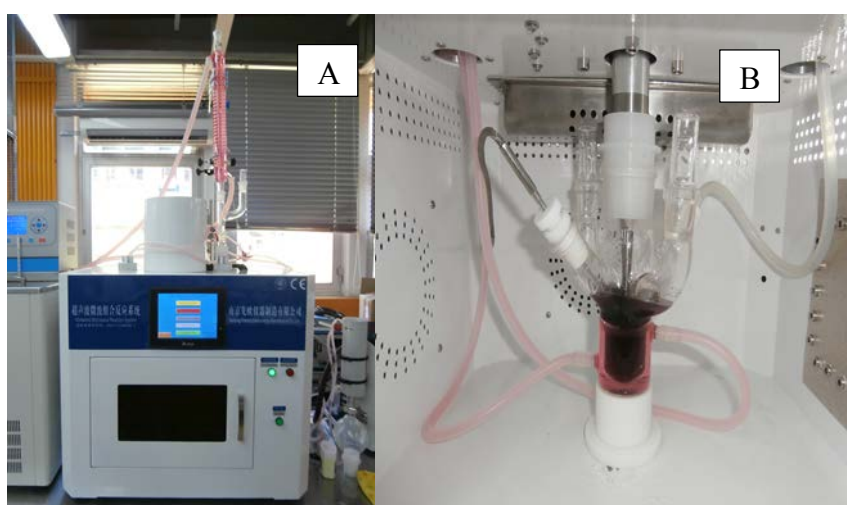
Για την εκχύλιση με μικροκύματα χρησιμοποιήθηκαν φρέσκα δείγματα Ροδίτη, Μοσχοφίλερου και Αγιωργίτικου καθώς και ξηρά που προέρχονταν από ξήρανση σε ρεύμα αέρα και από επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση.

Ως διαλύτες χρησιμοποιήθηκαν απιονισμένο νερό και σύστημα διαλυτών νερό: αιθανόλη (1:1).

Τα πειράματα των εκχυλίσεων με υπερήχους και η απομάκρυνση του νερού από τα εκχυλίσματα μέσω ξήρανσης με κατάψυξη πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών της Σχολής Χημικών Μηχανικών. Ο διαχωρισμός του συστήματος διαλυτών νερού: αιθανόλης πραγματοποιήθηκε με χρήση του περιστροφικού εξατμιστήρα για την απομάκρυνση της αιθανόλης στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού

Μετσόβιου Πολυτεχνείου και με τη χρήση της ξήρανσης με κατάψυξη για την απομάκρυνση του νερού. Μετά το τέλος της εκχύλισης ο διαχωρισμός του εκχυλίσματος από την στερεή πρώτη ύλη έγινε με τη βοήθεια φυγοκεντρικού διαχωριστή στο εργαστήριο Χημείας και τεχνολογίας τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών. Ο εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκε είναι:

- Ultrasonic Microwave Reaction System (Nanjing Xianou Instruments Manufacture co.,ltd., Nanjing City, China) (Εικόνα 20)
- Ζυγός ακριβείας (Kern ABS/ABJ, Balingen, Germany)
- Μονάδα ξήρανσης με κατάψυξη (Leybold – Heraeus GT 2A, Koln, Germany)
- Περιστροφικός εξατμιστήρας
- Φυγοκεντρικός διαχωριστής



Εικόνα 20. Α. Συσκευής εκχύλισης υπερήχων(Nanjing Xianou Instruments Manufacture co.,ltd., Nanjing City, China) και Β. δοχείο εκχύλισης με εκχύλιμα Αγωργίτικου

4.3.2.2 Συνθήκες εκχύλισης- Διαδικασία

Τα δείγματα που ήταν τοποθετημένα υπό ψύξη στους $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ πριν την έναρξη της εκχύλισης αφήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου έως ότου ξεπαγώσουν. Στη συνέχεια, τα ξηρά δείγματα αλέστηκαν σε σκόνη.

Αρχικά ζυγίζεται περίπου 1 g δείγματος και ογκομετρούνται 70 ml διαλύτη και στη συνέχεια τοποθετούνται στο ειδικό δοχείο εκχύλισης της συσκευής υπερήχων. Ενεργοποιείται η συσκευή ψύξης και ρυθμίζεται η θερμοκρασία στους $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Το δοχείο εκχύλισης τοποθετείται στο θάλαμο συσκευής εκχύλισης. Το δοχείο έχει δύο υποδοχείς όπου στον ένα τοποθετείται το θερμόμετρο το οποίο καταγράφει και ρυθμίζει τη θερμοκρασία στο δοχείο εκχύλισης ενώ στον άλλο τοποθετείται ένα εξάρτημα το οποίο λειτουργεί ως συμπυκνωτήρας ώστε να μειώνονται οι απώλειες του διαλύτη. Επίσης, το δοχείο συνδέεται με το θάλαμο ψύξης μέσω δυο σωληνώσεων, που η μία μεταφέρει το ψυκτικό στο δοχείο εκχύλισης και η άλλη απομακρύνει το ψυκτικό, με σκοπό να διατηρείται η θερμοκρασία εκχύλισης στους $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. το Κλείνεται η πόρτα της συσκευής εκχύλισης και ρυθμίζεται η συσκευή στα 25 Khz και 300 W. Επίσης ρυθμίζεται για 1,5 s το δοχείο να βομβαρδίζεται με

υπερήχους ενώ για 3 s να παραμένει χωρίς. Η εκχύλιση πραγματοποιείται σε χρόνους εκχύλισης 5, 10, 20, 60 min. Οι εκχυλίσεις έγιναν σε τρεις επαναλήψεις.

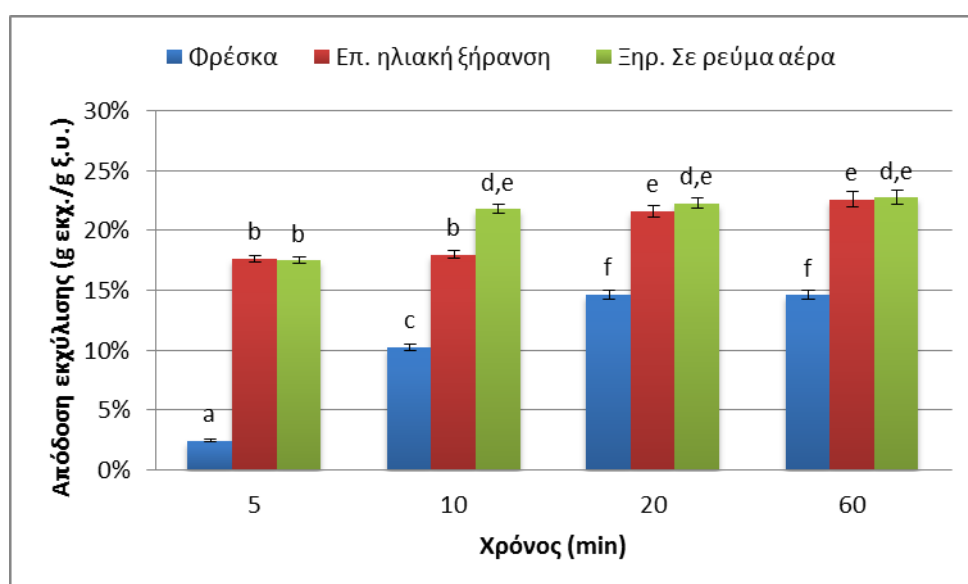
Μετά το πέρας της εκχύλισης ο διαχωρισμός του εκχυλίσματος από τη στερεή πρώτη ύλη έγινε με χρήση φυγοκεντρικού διαχωριστή. Στη συνέχεια, το υδατικό εκχύλισμα τοποθετείται σε περιέκτες στην κατάψυξη στους $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 24h. Ακολουθεί ξήρανση με κατάψυξη για 24 h, για την παραλαβή του καθαρού εκχυλίσματος, χωρίς να υπάρχει αλλοίωση των συστατικών του. Όσον αφορά το εκχύλισμα νερού: αιθανόλης, αρχικά μεταφέρεται στη συσκευή του περιστροφικού εξατμιστήρα για λίγα λεπτά ώστε να απομακρυνθεί η αιθανόλη και στη συνέχεια το εκχύλισμα μεταφέρεται σε περιέκτες στην κατάψυξη στους $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 24h. Ακολουθεί ξήρανση με κατάψυξη για 24 h, για την παραλαβή του καθαρού εκχυλίσματος. Τέλος το εκχύλισμα που παραλαμβάνεται ζυγίζεται και τοποθετείται σε σκούρα φιαλίδια τα οποία αποθηκεύονται στο ψυγείο για περαιτέρω χρήση.

4.3.2.3 Αποτελέσματα- Αποδόσεις εκχυλίσεων με υπερήχους

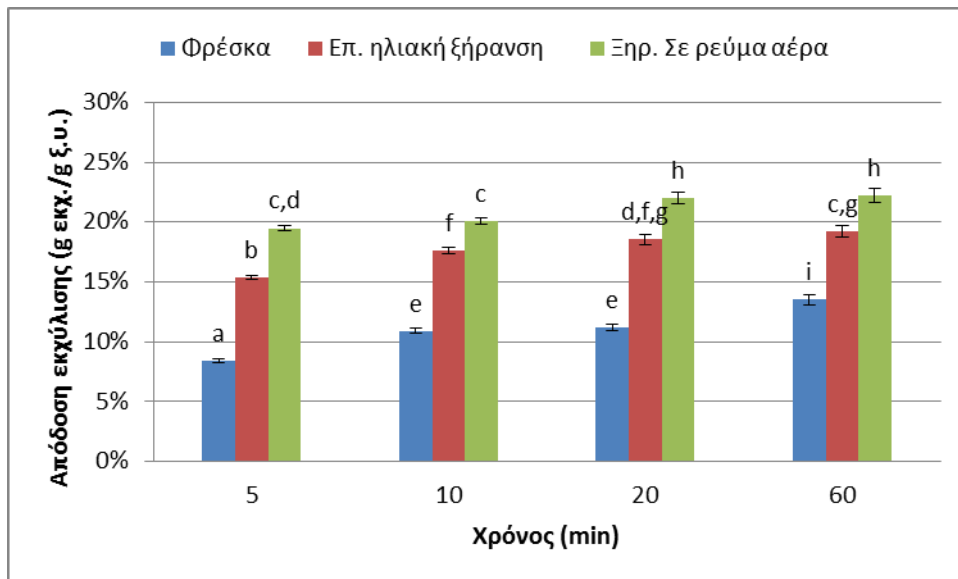
Η απόδοση εκχύλισης σε κάθε περίπτωση υπολογίζεται με βάση τον τύπο (4.5). Στα αποτελέσματα των εκχυλίσεων πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης κατά δυο παράγοντες και το κριτήριο ελέγχου του Tukey's HSD ώστε να ανιχνευθούν οι διαφορές στην απόδοση των εκχυλισμάτων λαμβάνοντας ως παράγοντες την μέθοδο ξήρανσης και το χρόνο εκχύλισης. Επιλέχθηκε ένα επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$ και οι διαφορές θεωρήθηκαν σημαντικές για $p < 0,05$.

Παρακάτω παρουσιάζονται οι αποδόσεις για τις τρεις ποικιλίες σταφυλιών (Ροδίτης, Μοσχοφίλερο, Αγιωργίτικο) σε μορφή διαγραμμάτων. Τιμές με διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά $p < 0,05$.

Αποτελέσματα αποδόσεων εκχύλισης με υπερήχους για τον Ροδίτη



Διάγραμμα 16. Απόδοση εκχύλισης με υπερήχους με χρήση νερού ως διαλύτη για ξηρά και φρέσκα δείγματα Ροδίτη



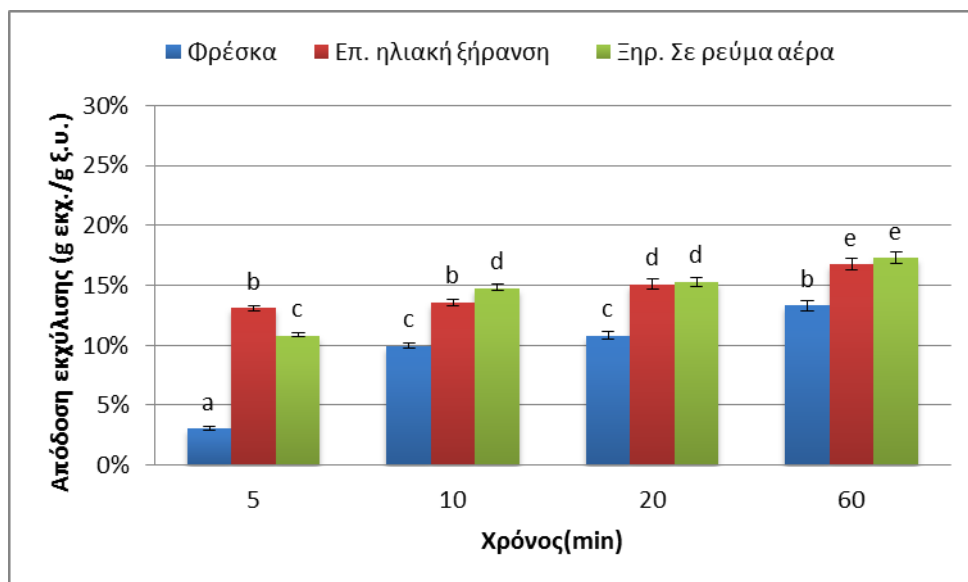
Διάγραμμα 17. Απόδοση εκχύλισης με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης (1:1) ως διαλύτη για ξηρά και φρέσκα δείγματα Ροδίτη

Όσον αφορά τις αποδόσεις της εκχύλισης με υπερήχους με χρήση νερού ως διαλύτη που προέκυψαν από την ποικιλία Ροδίτη (Διάγραμμα 16) κυμαίνονται από $2,50 \pm 0,10$ έως $14,62 \pm 0,42$, $17,63 \pm 0,26$ έως $22,59 \pm 0,66$ και $17,50 \pm 0,24$ έως $22,76 \pm 0,59$ g εκχ./ 100 g ξ.υ. στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων ΕΗΞ και ΞΡΑ, αντίστοιχα. Συγκρίνοντας τα υδατικά εκχυλίσματα που προέκυψαν από εκχύλιση με υπερήχους για τα φρέσκα και ξηρά δείγματα, τα ξηρά δείγματα παρουσίασαν μεγαλύτερη απόδοση από τα φρέσκα ($14,62 \pm 0,42\%$ ξ.β.) σε όλους τους χρόνους εκχύλισης καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι η ξήρανση επιδρά θετικά στην απόδοση της εκχύλισης. Όσον αφορά τα ξηρά δείγματα, τα δείγματα ΞΡΑ και ΕΗΞ δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές στην απόδοση στα 60 min, $22,76 \pm 0,59\%$ και $22,59 \pm 0,66\%$ ξ.β., αντίστοιχα καθώς επίσης τα δείγματα ΞΡΑ δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές μετά τα 10 min ($p > 0,05$). Η μείωση του συντελεστή μεταφοράς μάζας στα δείγματα ΞΡΑ μπορεί να εξηγηθεί από το φαινόμενο της σκλήρυνσης κατά το οποίο στην επιφάνεια του υλικού σχηματίζεται μία κρούστα εξαιτίας του γρήγορου ρυθμού ξήρανσης κατά την χρήση θερμού αέρα σε συνδυασμό με την χρήση υπερήχων^[98]. Επίσης όπως και στην περίπτωση της εκχύλισης με μικροκύματα η απόδοση των φρέσκων εκχυλισμάτων αυξάνεται σταδιακά ενώ των ξηρών παρουσιάζονται μεγάλες αποδόσεις από τα 5 min οδηγώντας στον συμπέρασμα ότι η ξήρανση ενισχύει την μεταφορά μάζας κατά την εκχύλιση.

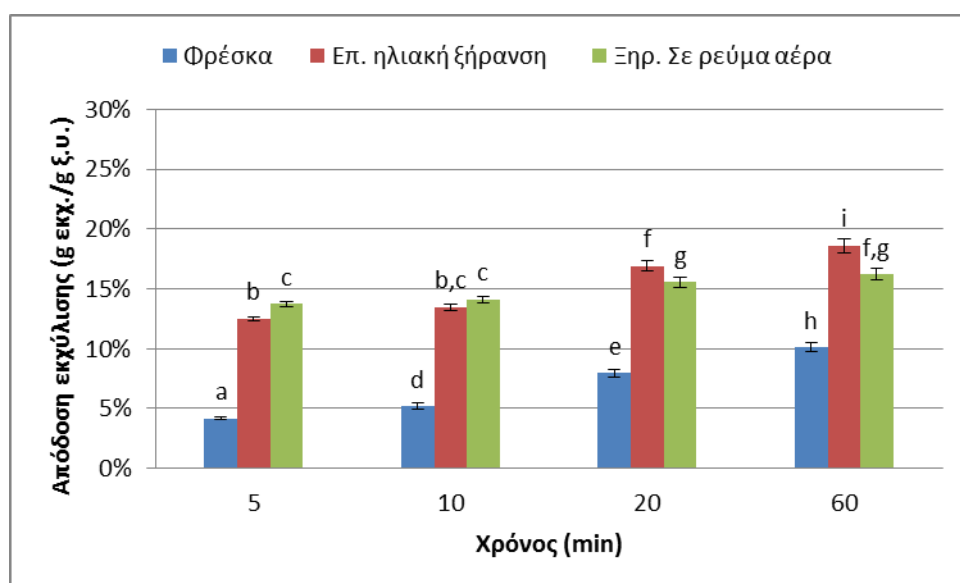
Συγκρίνοντας την εκχύλιση με υπερήχους χρησιμοποιώντας νερό και νερό :αιθανόλη (1:1) ως διαλύτη, παρατηρείται ότι η εκχύλιση με υπερήχους και νερό ως διαλύτη παρουσιάζει καλύτερη απόδοση για τα ξηρά δείγματα στα 60 min που προφανώς οφείλεται στην αυξημένη πολικότητα του νερού. Οι αποδόσεις της εκχύλισης με υπερήχους χρησιμοποιώντας νερό :αιθανόλη (1:1) ως διαλύτη (Διάγραμμα 17) κυμαίνονται από $8,42 \pm 0,17$ έως $13,51 \pm 0,41$, $15,36 \pm 0,17$ έως $19,24 \pm 0,52$ και $19,48 \pm 0,19$ έως $22,24 \pm 0,58$ g εκχ./ 100 g ξ.υλ. στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων ΕΗΞ και ΞΡΑ, αντίστοιχα. Συγκρίνοντας τα ξηρά με τα φρέσκα δείγματα, τα ξηρά δείγματα παρουσίασαν υψηλότερη απόδοση σε όλους τους

χρόνους εκχύλισης. Όσον αφορά τα ξηρά δείγματα, την μεγαλύτερη απόδοση παρουσίασαν τα δείγματα ΞΡΑ σε όλους τους χρόνους εκχύλισης με σημαντική διαφορά μεταξύ τους ($p < 0,05$). Για μια ακόμη φορά φαίνεται ότι η ξήρανση επιταχύνει την διαδικασία της εκχύλισης.

Αποτελέσματα αποδόσεων εκχύλισης με υπερήχους για το Μοσχοφίλερο



Διάγραμμα 18. Απόδοση εκχύλισης με υπερήχους με χρήση νερού ως διαλύτη για ξηρά και φρέσκα δείγματα Μοσχοφίλερου



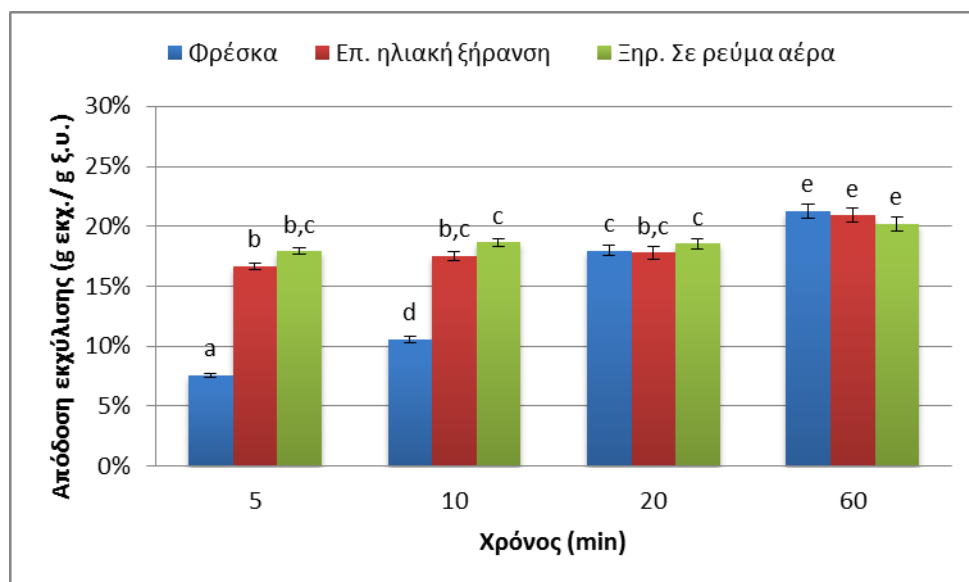
Διάγραμμα 19. Απόδοση εκχύλισης με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης (1:1) ως διαλύτη για ξηρά και φρέσκα δείγματα Μοσχοφίλερου

Όσον αφορά τις αποδόσεις της εκχύλισης με υπερήχους με χρήση νερού ως διαλύτη που προέκυψαν από την ποικιλία Μοσχοφίλερο (Διάγραμμα 18) κυμαίνονται από $3,04 \pm 0,15$ έως $13,33 \pm 0,43$, $13,10 \pm 0,20$ έως $16,74 \pm 0,49$ και $10,83 \pm 0,16$ έως

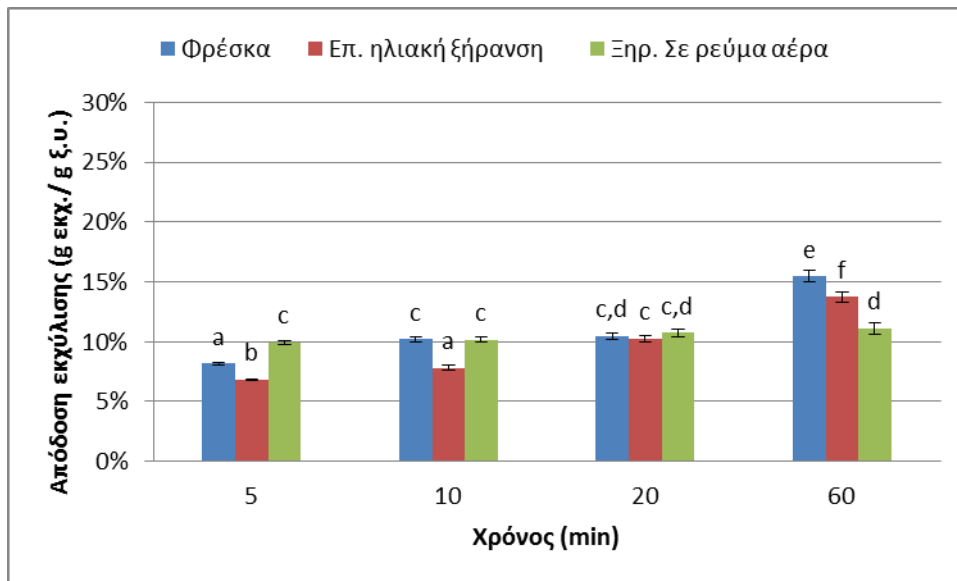
17,28 ± 0,50 g εκχ./ 100 g ξ.υ. στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων ΕΗΞ και ΞΡΑ, αντίστοιχα. Συγκρίνοντας τα υδατικά εκχυλίσματα που προέκυψαν από εκχύλιση με υπερήχους για τα φρέσκα και ξηρά δείγματα, τα ξηρά δείγματα παρουσίασαν μεγαλύτερη απόδοση από τα φρέσκα (13,33 ± 0,43% ξ.β.) σε όλους τους χρόνους εκχύλισης. Όσον αφορά τα ξηρά δείγματα, τα δείγματα ΞΡΑ και ΕΗΞ δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές στην απόδοση στα 20 min, 15,11 ± 0,44% και 15,28 ± 0,38% ξ.β., αντίστοιχα και στα 60 min 16,74 ± 0,49% και 17,28 ± 0,50% ξ.β., αντίστοιχα. Ο συνδυασμός της εκχύλισης με υπερήχους και της ξήρανης οδηγεί στην διάσπαση των φυτικών κυτταρικών τοιχωμάτων και στην έκπλυση των περιεχόμενων ενώσεων βελτιώνοντας την απόδοση της εκχύλισης των ξηρών δειγμάτων^[99].

Συγκρίνοντας την εκχύλιση με υπερήχους χρησιμοποιώντας νερό και νερό :αιθανόλη (1:1) ως διαλύτη, παρατηρείται ότι η εκχύλιση με υπερήχους και νερό ως διαλύτη παρουσιάζει καλύτερη απόδοση για τα φρέσκα δείγματα και τα δείγματα ΞΡΑ στα 60 min. Οι αποδόσεις της εκχύλισης με υπερήχους χρησιμοποιώντας νερό :αιθανόλη (1:1) ως διαλύτη (Διάγραμμα 19) κυμαίνονται από 4,19 ± 0,10 έως 10,12 ± 0,40, 12,50 ± 0,19 έως 18,61 ± 0,58 και 13,71 ± 0,18% έως 16,22 ± 0,50 g εκχ./ 100 g ξ.υλ. στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων ΕΗΞ και ΞΡΑ, αντίστοιχα. Συγκρίνοντας τα ξηρά με τα φρέσκα δείγματα, τα ξηρά δείγματα παρουσίασαν υψηλότερη απόδοση σε όλους τους χρόνους εκχύλισης. Όσον αφορά τα ξηρά δείγματα, την μεγαλύτερη απόδοση παρουσίασαν τα δείγματα ΕΗΞ στα 60 min με σημαντική διαφορά μεταξύ τους (p<0,05).

Αποτελέσματα αποδόσεων εκχύλισης με υπερήχους για το Αγιωργίτικο



Διάγραμμα 20. Απόδοση εκχύλισης εκχύλισης με υπερήχους με χρήση νερού ως διαλύτη για ξηρά και φρέσκα δείγματα Αγιωργίτικου



Διάγραμμα 21. Απόδοση εκχύλισης εκχύλισης με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης (1:1) ως διαλύτη για ξηρά και φρέσκα δείγματα Αγιωργίτικου

Όσον αφορά τις αποδόσεις της εκχύλισης με υπερήχους με χρήση νερού ως διαλύτη που προέκυψαν από την ποικιλία Αγιωργίτικο (Διάγραμμα 20) κυμαίνονται από $7,55 \pm 0,15$ έως $21,25 \pm 0,60$, $16,69 \pm 0,25$ έως $20,90 \pm 0,61$ και $17,90 \pm 0,27$ έως $20,21 \pm 0,59$ g εκχ./ 100 g ξ.υ. στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων ΕΗΞ και ΞΡΑ, αντίστοιχα. Συγκρίνοντας τα υδατικά εκχυλίσματα που προέκυψαν από εκχύλιση με υπερήχους για τα φρέσκα και ξηρά δείγματα, μη σημαντικές διαφορές παρουσιάστηκαν στις αποδόσεις των δειγμάτων στα 60 min ($p > 0,05$). Όσον αφορά τον χρόνο εκχύλισης, τα ξηρά δείγματα εμφάνισαν υψηλές αποδόσεις από τα 5 min τόσο στην εκχύλιση με μικροκύματα όσο και στην εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού ως διαλύτη. Συγκεκριμένα, οι αποδόσεις των ξηρών δειγμάτων δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα 5, 10, 20 min ($p > 0,05$). Μελέτες έχουν δείξει ότι όταν το υλικό είναι ξηρό, οι υπέρηχοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν ώστε να διευκολύνουν την διόγκωση και ενυδάτωση του υλικού καθώς επίσης να προκαλέσουν διόγκωση των πόρων του κυτταρικού τοιχώματος με αποτέλεσμα την απελευθέρωση των ωφέλιμων ενώσεων στον διαλύτη^[100].

Όσον αφορά τις αποδόσεις της εκχύλισης με υπερήχους με χρήση νερού :αιθανόλης (1:1) ως διαλύτη που προέκυψαν από την ποικιλία Αγιωργίτικο (Διάγραμμα 21) κυμαίνονται από $8,16 \pm 0,12$ έως $15,43 \pm 0,48$, $6,81 \pm 0,10$ έως $13,73 \pm 0,43$ και $9,92 \pm 0,17$ έως $11,10 \pm 0,46$ g εκχ./ 100 g ξ.υ. στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων ΕΗΞ και ΞΡΑ, αντίστοιχα. Σύμφωνα με το διάγραμμα 21 μη σημαντικές διαφορές παρουσιάστηκαν για τα δείγματα ΞΡΑ μεταξύ των 5, 10, 20 min ($p > 0,05$). Τελικά, συγκρίνοντας τις αποδόσεις ανάμεσα στα ξηρά και φρέσκα δείγματα, τα φρέσκα παρουσίασαν υψηλότερη απόδοση στα 60 min συμπεραίνοντας ότι το νερό δρα ως συνδιαλύτης ενισχύοντας την απόδοση εκχύλισης.

Τέλος, και στις τρεις ποικιλίες η εκχύλιση με μικροκύματα παρουσίασε υψηλότερες αποδόσεις από την εκχύλιση με υπερήχους χρησιμοποιώντας τόσο νερό όσο και νερό : αιθανόλη (1: 1) ως διαλύτες. Είναι γνωστό ότι η εκχύλιση με μικροκύματα έχει το πλεονέκτημα ότι αυξάνει τη θερμοκρασία με αποτέλεσμα να μειώνεται το ιξώδες του

διαλύτη. Ως εκ τούτου, ο διαλύτης είχε την ικανότητα να διαβρέχει το υλικό και να διαλύει την ένωση στόχο^[101]. Επιπλέον παρέχει στοχευμένη θέρμανση στο δείγμα η οποία δρα ως κινητήρια δύναμη για την καταστροφή του κυτταρικού τοιχώματος και την απελευθέρωση της διαλυμένης ουσίας στον διαλύτη^[102]. Αντίθετα, κατά την εκχύλιση με υπερήχους, οι μηχανικές επιδράσεις των υπερήχων προκαλούν μεγάλη διείσδυση του διαλύτη στα κυτταρικά υλικά και βελτιώνουν την μεταφορά μάζας με διάσπαση των βιολογικών κυτταρικών τοιχωμάτων, ανεξάρτητα από την προεπεξεργασία του υλικού^[57].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ

5.1.1 Ποιοτική εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC)

5.1.1.1 Υλικά

Για τον ποιοτικό προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο TLC εξετάστηκαν όλα τα εκχυλίσματα που είχαν παραχθεί με τις τρεις διαφορετικές μεθόδους εκχύλισης διαλυμένα σε μεθανόλη. Στο θάλαμο ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκε μεθανόλη για όλα τα εκχυλίσματα.

Για την ποιοτική εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων έγινε ψεκασμός με διάλυμα μεθανόλης – DPPH συγκέντρωσης 0,3 mg/ml. Η ταχύτητα με την οποία η κηλίδα αποκτά κίτρινο χρώμα (αποχρωματισμός DPPH) αποτελεί ένδειξη της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων


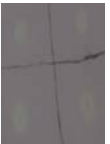






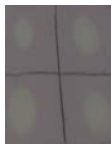




















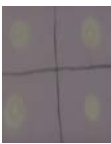






5.1.1.2 Διαδικασία προσδιορισμού με τη μέθοδο TLC

Τα διαλύματα των υπό εξέταση δειγμάτων τοποθετήθηκαν υπό τη μορφή κηλίδων στην ειδική πλάκα (silica). Στη συνέχεια η πλάκα ψεκάστηκε με το διάλυμα μεθανόλης - DPPH και παρατηρήθηκε ο αποχρωματισμός.

Στον πίνακα 8 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ποιοτικής εκτίμησης της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) για τα εκχυλίσματα που προέκυψαν από την εκχύλιση με μικροκύματα και υπερήχους τόσο των ξηρών όσο και των φρέσκων δειγμάτων με χρήση νερού και νερού αιθανόλης ως διαλύτες για τις τρεις ποικιλίες παραπροϊόντων οινοποιείου και για χρόνους εκχύλισης 5, 10, 20, 60 min.

5.1.1.3. Αποτελέσματα TLC

Πίνακας 8. Ποιοτική εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) για τα δείγματα Ροδίτη, Μοσχοφίλερου και Αγιωργίτικου

	Εκχ. Με Μικροκύματα (Νερό)			Εκχ. Με Μικροκύματα (Νερό :αιθανόλη)			Εκχ. Με Υπερήχους (Νερό)			Εκχ. Με Υπερήχους (Νερό :αιθανόλη)		
	ΦΡΕΣΚΑ	ΕΗΞ	ΞΡΑ	ΦΡΕΣΚΑ	ΕΗΞ	ΞΡΑ	ΦΡΕΣΚΑ	ΕΗΞ	ΞΡΑ	ΦΡΕΣΚΑ	ΕΗΞ	ΞΡΑ
Ροδίτης												
Μοσχοφίλερο												
Αγιωργίτικο												

*Σημείωση: Οι χρόνοι εκχύλισης (min) που αντιστοιχούν σε κάθε διαμέρισμα του τετραγώνου ακολουθούν την σειρά του παρακάτω σχήματος

60	20
10	5

Με βάση τον πίνακα 8 παρατηρείται ότι:

- Τα φρέσκα δείγματα παρουσίασαν χαμηλή αντιοξειδωτική δράση και στις τρεις ποικιλίες και μεθόδους εκχύλισης με χρήση νερού ως διαλύτη.
- Τα φρέσκα δείγματα παρουσίασαν αντιοξειδωτική δράση και στις τρεις ποικιλίες και μεθόδους εκχύλισης με χρήση νερού : αιθανόλης ως διαλύτη, με εντονότερη δράση στα 60 min.
- Τα ξηρά δείγματα παρουσίασαν αντιοξειδωτική δράση και στις τρεις ποικιλίες και μεθόδους εκχύλισης με χρήση νερού : αιθανόλης ως διαλύτη, σε όλους τους χρόνους εκχύλισης αλλά παρατηρείται εντονότερη δράση στα 60 min.

Επιλέγεται η περαιτέρω ανάλυση των εκχυλισμάτων που προέκυψαν από εκχύλιση με μικροκύματα και υπερήχους τόσο των ξηρών όσο και των φρέσκων δειγμάτων με χρήση νερού και νερού :αιθανόλης ως διαλύτες στα 60 min καθώς η αντιοξειδωτική δράση ποιοτικά φαίνεται εντονότερη και η απόδοση της εκχύλισης είναι μεγαλύτερη.

5.1.2 Ποσοτικός προσδιορισμός DPPH

5.1.2.1 Υλικά- Εξοπλισμός

Η αντιοξειδωτική ικανότητα προσδιορίστηκε μέσω του ποσοτικού προσδιορισμού DPPH και εφαρμόστηκε στα υδατικά και αιθανολικά εκχυλίσματα που προέκυψαν με τη μέθοδο εκχύλισης Soxhlet τόσο στα ξηρά όσο και στα φρέσκα δείγματα. Επίσης εφαρμόστηκε και στα εκχυλίσματα των μεθόδων εκχύλισης με μικροκύματα και υπερήχους με διαλύτες νερό και νερό: αιθανόλη τόσο στα ξηρά όσο και στα φρέσκα δείγματα αλλά για χρόνο εκχύλισης 60 min με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την ποιοτική μέθοδο προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας TLC.

Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν είναι:

- Μεθανόλη
- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Ο εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκε είναι:

- Φωτόμετρον UV-Vis (Helios Unicam, USA) του εργαστηρίου Χημείας και τεχνολογίας τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών
- Αναδευτήρας
- Vortex

5.1.2.2 Διαδικασία προσδιορισμού αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας προσδιορίστηκε μέσω της σταθερής ρίζας 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) όπως προτείνεται από τους Brand-Williams et al. (1995). Συγκεκριμένα, 0,1 mL κατάλληλα αραιωμένων δειγμάτων στέμφυλων προστίθενται σε 3,9 mL μεθανολικού διαλύματος DPPH• (0.0030 g/100 mL). Ένα φασματοφωτόμετρο (Helios Unicam, USA) του εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση της απορρόφησης στα 515 nm, για χρόνο αντίδρασης ίσο με 20 min, κατά τον οποίο η αντίδραση φτάνει σε ένα πλατό (χρόνος

στην σταθερή κατάσταση). Οι αλλαγές στην απορρόφηση μετρήθηκαν στους 25 °C για τα κατάλληλα αραιωμένα δείγματα στέμφυλων. Μία καμπύλη βαθμονόμησης σε 515 nm έγινε με DPPH• ώστε να υπολογιστεί η συγκέντρωση DPPH• στο μέσο αντίδρασης. Το ποσοστό του εναπομείναντος DPPH• (%DPPH•rem) υπολογίστηκε με βάση τη σχέση 5.1:

$$\%DPPH\bullet rem = ([DPPH\bullet]_t / [DPPH\bullet]_{t=0}) \times 100 \quad (5.1)$$

Μια απλή ανάλυση παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκε για να συσχετιστεί το ποσοστό του εναπομείναντος DPPH • με τη συγκέντρωση των στέμφυλων. Οι τιμές IC₅₀ (συγκέντρωση που παρέχει 50% αναστολή της ρίζας DPPH) υπολογίστηκαν γραφικά χρησιμοποιώντας την καμπύλη βαθμονόμησης στη γραμμική περιοχή και σχεδιάζοντας γραφική παράσταση που αποτελείται από την συγκέντρωση του εκχυλίσματος έναντι της αντίστοιχου αποτελέσματος αδρανοποίησης της ρίζας και εκφράστηκαν σε όρους συγκέντρωσης του στεμφύλων. Η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων εκφράζεται μέσω IC₅₀^[103]. Όλες οι μετρήσεις διεξήχθησαν εις διπλούν. Φρέσκο διάλυμα DPPH παρασκευάζεται κάθε μέρα.

5.1.2.3. Αποτελέσματα IC₅₀ των εκχυλισμάτων

Στα αποτελέσματα IC₅₀ των εκχυλισμάτων από παραπροϊόντα οινοποιείου που προέκυψαν μέσω της μεθόδου DPPH πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης κατά δυο παράγοντες και το κριτήριο ελέγχου του Tukey's HSD ώστε να ανιχνευθούν οι διαφορές στην αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων που εκφράζεται μέσω του IC₅₀, λαμβάνοντας ως παράγοντες την μέθοδο ξήρανσης, τον διαλύτη και τη μέθοδο εκχύλισης. Επιλέχθηκε ένα επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$ και οι διαφορές θεωρήθηκαν σημαντικές για $p < 0,05$.

Στους πίνακες 9, 10, 11 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων Ροδίτη, Μοσχοφίλερου, Αγιωργίτικου, αντίστοιχα που προέκυψαν μέσω των μεθόδων εκχύλισης Soxhlet, εκχύλιση με μικροκύματα και υπερήχους τόσο για ξηρά όσο και φρέσκα δείγματα.

Πίνακας 9. Αντιοξειδωτική ικανότητα εκχυλισμάτων Ροδίτη τόσο για ξηρά και φρέσκα δείγματα

Εκχυλίσματα	Ξήρανση σε Ρεύμα Αέρα	DPPH IC ₅₀ (mg/mL)	
		Ηλιακή Επιταχυνόμενη Ξήρανση	Φρέσκα
<i>Soxhlet H₂O</i>	5,30±0,01 ^a	6,08±0,04 ^b	5,32±0,02 ^a
<i>Soxhlet Αιθανόλη</i>	6,11±0,03 ^b	7,10±0,01 ^g	8,41±0,04 ^k
<i>Εκχ. Με Υπερήχους H₂O</i>	4,30±0,01 ^c	11,25±0,06 ^h	22,14±0,05 ^l
<i>Εκχ. Με Υπερήχους H₂O: αιθανόλη</i>	1,08±0,01 ^d	2,47±0,03 ⁱ	3,01±0,02 ^m
<i>Εκχ. με Μικροκύματα H₂O</i>	4,42±0,02 ^e	5,97±0,04 ^j	5,90±0,02 ⁿ
<i>Εκχ. με Μικροκύματα H₂O: αιθανόλη</i>	1,75±0,01 ^f	1,22±0,02 ^d	3,10±0,01 ^m

* Τιμές με διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά p<0.05.

Με βάση τον πίνακα 9 για την ποικιλία Ροδίτη, οι τιμές της αντιοξειδωτικής ικανότητας (IC₅₀) κυμαίνονται από 3,01 ± 0,02 έως 22,14 ± 0,05 mg/mL, 1,22 ± 0,02 έως 11,25 ± 0,06 mg/mL και 1,08 ± 0,01 έως 6,11 ± 0,03 mg/mL στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων που προέκυψαν έπειτα από επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση και έπειτα από ξήρανση σε ρεύμα αέρα, αντίστοιχα.

Όσον αφορά τα φρέσκα δείγματα, την καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσίασε η εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης ως διαλύτη (3,01 ± 0,02 mg/mL) και ακολουθεί η εκχύλιση με μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης (3,10 ± 0,01 mg/mL). Παρατηρείται ότι οι δυο μέθοδοι εκχύλισης δεν παρουσιάζουν διαφορές στην αντιοξειδωτική ικανότητα των φρέσκων δειγμάτων (p>0,05), σε αντίθεση με την εκχύλιση Soxhlet που με χρήση αιθανόλης ως διαλύτη παρουσίασε μέτρια αντιοξειδωτική ικανότητα (8,41 ± 0,04 mg/mL). Όσον αφορά τα υδατικά εκχυλίσματα, την καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσίασε η εκχύλιση Soxhlet και ακολουθεί η εκχύλιση με μικροκύματα ενώ αντίθετα η εκχύλιση με υπερήχους παρουσίασε την χειρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα.

Όσον αφορά τα δείγματα που προέκυψαν έπειτα από ξήρανση σε ρεύμα αέρα, η εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης ως διαλύτη παρουσίασε την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα (1,08 ± 0,01 mg/mL) και ακολουθεί η εκχύλιση με μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης (1,75 ± 0,01 mg/mL) με σημαντική διαφορά μεταξύ τους (p<0,05). Η εκχύλιση Soxhlet με χρήση αιθανόλης ως διαλύτη παρουσίασε την χειρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα με IC₅₀ 6,11 ± 0,03 mg/mL. Όσον αφορά τα υδατικά εκχυλίσματα, την καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσίασε η εκχύλιση με υπερήχους ακολουθεί η εκχύλιση με μικροκύματα και τέλος η εκχύλιση Soxhlet.

Τέλος, προκύπτει ότι για τα δείγματα της επιταχυνόμενης ηλιακής ξήρανσης ότι η εκχύλιση με μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης ως διαλύτη παρουσίασε την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα ($1,22 \pm 0,02$ mg/mL). Ακολουθεί η εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης ($2,47 \pm 0,03$ mg/mL) με σημαντική διαφορά μεταξύ τους ($p < 0,05$), ενώ η εκχύλιση Soxhlet με χρήση αιθανόλης ως διαλύτη παρουσίασε μέτρια αντιοξειδωτική ικανότητα ($7,10 \pm 0,01$ mg/mL). Όσον αφορά τα υδατικά εκχυλίσματα, την καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσίασε η εκχύλιση με μικροκύματα και ακολουθεί η εκχύλιση Soxhlet ενώ αντίθετα η εκχύλιση με υπερήχους παρουσίασε την χειρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα.

Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής ικανότητας IC₅₀ εκχυλισμάτων Μοσχοφίλερου

Πίνακας 10. Αντιοξειδωτική ικανότητα εκχυλισμάτων Μοσχοφίλερου τόσο για ξηρά και φρέσκα δείγματα

Εκχυλίσματα	Ξήρανση σε Ρεύμα Αέρα	DPPH IC ₅₀ (mg/mL)	
		Ηλιακή Επιταχυνόμενη Ξήρανση	Φρέσκα
<i>Soxhlet H₂O</i>	$3,01 \pm 0,02^a$	$6,12 \pm 0,05^g$	$2,88 \pm 0,02^k$
<i>Soxhlet Αιθανόλη</i>	$1,65 \pm 0,01^b$	$1,08 \pm 0,03^d$	$4,23 \pm 0,04^l$
<i>Εκχ. Με Υπερήχους H₂O</i>	$2,36 \pm 0,02^c$	$1,80 \pm 0,02^h$	$9,60 \pm 0,02^m$
<i>Εκχ. Με Υπερήχους H₂O: αιθανόλη</i>	$1,05 \pm 0,01^d$	$0,59 \pm 0,01^i$	$3,88 \pm 0,01^d$
<i>Εκχ. με Μικροκύματα H₂O</i>	$2,16 \pm 0,03^e$	$3,52 \pm 0,03^j$	$8,23 \pm 0,04^n$
<i>Εκχ. με Μικροκύματα H₂O: αιθανόλη</i>	$0,92 \pm 0,01^f$	$1,08 \pm 0,01^d$	$6,36 \pm 0,03^o$

* Τιμές με διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά $p < 0.05$.

Με βάση τον πίνακα 10 για την ποικιλία Μοσχοφίλερο, οι τιμές της αντιοξειδωτικής ικανότητας (IC₅₀) κυμαίνονται από $2,88 \pm 0,02$ έως $9,60 \pm 0,02$ mg/mL, $1,08 \pm 0,01$ έως $6,12 \pm 0,05$ mg/mL και $0,92 \pm 0,01$ έως $3,01 \pm 0,02$ mg/mL στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων που προέκυψαν έπειτα από επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση και έπειτα από ξήρανση σε ρεύμα αέρα, αντίστοιχα.

Όσον αφορά τα φρέσκα δείγματα την καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσίασε η εκχύλιση Soxhlet με χρήση νερού ως διαλύτη ($2,88 \pm 0,02$ mg/mL), ακολουθεί η εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης ως διαλύτη ($3,01 \pm 0,02$ mg/mL) και η εκχύλιση Soxhlet με χρήση αιθανόλης ως διαλύτη. Η εκχύλιση με μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης παρουσίασε μέτρια αντιοξειδωτική ικανότητα ενώ την χειρότερη παρουσίασαν οι εκχυλίσσεις με μικροκύματα και υπερήχους με χρήση νερού ως διαλύτη.

Όσον αφορά τα δείγματα που προέκυψαν έπειτα από ξήρανση σε ρεύμα αέρα, η εκχύλιση με μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης ως διαλύτη παρουσίασε την

υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα ($0,92 \pm 0,01$ mg/mL), ακολουθεί η εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης ($1,05 \pm 0,01$ mg/mL) με σημαντική διαφορά μεταξύ τους ($p < 0,05$) και έπειτα η εκχύλιση Soxhlet με χρήση αιθανόλης ως διαλύτη. Όσον αφορά τα υδατικά εκχυλίσματα, την καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσίασε η εκχύλιση με μικροκύματα ακολουθεί η εκχύλιση με υπερήχους και την χειρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσίασε τέλος η εκχύλιση Soxhlet ($3,01 \pm 0,02$ mg/mL).

Τέλος, όσον αφορά τα δείγματα που προέκυψαν έπειτα από επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση, η εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης ως διαλύτη παρουσίασε την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα ($0,59 \pm 0,01$ mg/mL) και ακολουθούν η εκχύλιση με μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης ως διαλύτη ($1,08 \pm 0,01$ mg/mL) μαζί με την εκχύλιση Soxhlet με χρήση αιθανόλης ($1,08 \pm 0,03$ mg/mL) οι οποίες δεν παρουσιάζουν διαφορές στην αντιοξειδωτική ικανότητα ($p > 0,05$). Όσον αφορά τα υδατικά εκχυλίσματα, την καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσίασε η εκχύλιση με υπερήχους και ακολουθεί η εκχύλιση με μικροκύματα ενώ αντίθετα η εκχύλιση Soxhlet παρουσίασε την χειρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα ($6,12 \pm 0,05$ mg/mL).

Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής ικανότητας IC₅₀ εκχυλισμάτων Αγιωργίτικου

Πίνακας 11. Αντιοξειδωτική ικανότητα εκχυλισμάτων Αγιωργίτικου τόσο για ξηρά και φρέσκα δείγματα

Εκχυλίσματα	Ξήρανση σε Ρεύμα Αέρα	DPPH IC ₅₀ (mg/mL)	
		Ηλιακή Επιταχυνόμενη Ξήρανση	Φρέσκα
<i>Soxhlet H₂O</i>	$2,21 \pm 0,03^a$	$2,02 \pm 0,02^g$	$4,73 \pm 0,04^l$
<i>Soxhlet Αιθανόλη</i>	$2,44 \pm 0,04^b$	$2,94 \pm 0,02^{\pm h}$	$1,35 \pm 0,02^m$
<i>Εκχ. Με Υπερήχους H₂O</i>	$1,80 \pm 0,03^c$	$3,67 \pm 0,04^i$	$20,95 \pm 0,05^n$
<i>Εκχ. Με Υπερήχους H₂O: αιθανόλη</i>	$0,84 \pm 0,01^d$	$0,36 \pm 0,01^j$	$0,91 \pm 0,02^d$
<i>Εκχ. με Μικροκύματα H₂O</i>	$5,95 \pm 0,04^e$	$6,64 \pm 0,05^k$	$9,41 \pm 0,04^o$
<i>Εκχ. με Μικροκύματα H₂O: αιθανόλη</i>	$1,03 \pm 0,02^f$	$0,32 \pm 0,01^j$	$0,56 \pm 0,01^p$

* Τιμές με διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά $p < 0,05$.

Με βάση τον πίνακα 11 για την ποικιλία Αγιωργίτικο, οι τιμές της αντιοξειδωτικής ικανότητας (IC₅₀) κυμαίνονται από $0,56 \pm 0,01$ έως $20,95 \pm 0,05$ mg/mL, από $0,84 \pm 0,01$ έως $5,95 \pm 0,04$ mg/mL και από $0,32 \pm 0,01$ έως $6,64 \pm 0,05$ mg/mL στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων που προέκυψαν έπειτα από επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση και έπειτα από ξήρανση σε ρεύμα αέρα, αντίστοιχα.

Όσον αφορά τα φρέσκα δείγματα την καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσίασε η εκχύλιση με μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης ως διαλύτη ($0,56 \pm 0,01$ mg/mL), ακολουθεί η εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης ($0,91 \pm 0,02$ mg/mL) και η εκχύλιση Soxhlet με χρήση αιθανόλης ως διαλύτη με χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα ($1,35 \pm 0,02$ mg/mL). Όσον αφορά τα υδατικά εκχυλίσματα, την καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσίασε η εκχύλιση με μικροκύματα και ακολουθεί η εκχύλιση Soxhlet ενώ αντίθετα η εκχύλιση με υπερήχους παρουσίασε την χειρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα ($20,95 \pm 0,05$ mg/mL).

Παρόμοια τάση παρουσιάστηκε και στην περίπτωση των ξηρών δειγμάτων. Συγκεκριμένα, όσον αφορά τα δείγματα που προέκυψαν έπειτα από ξήρανση σε ρεύμα αέρα, η εκχύλιση με υπερήχους και μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης ως διαλύτη παρουσίασαν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους, με την εκχύλιση με υπερήχους να παρουσιάζει την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα ($0,84 \pm 0,01$ mg/mL) και να ακολουθεί η εκχύλιση με μικροκύματα ($1,03 \pm 0,02$ mg/mL). Στην συνέχεια ακολουθεί η εκχύλιση Soxhlet με τη χρήση νερού ως διαλύτη να παρουσιάζει καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από την αιθανόλη. Επιπλέον, συγκρίνοντας την αντιοξειδωτική δράση των εκχυλίσεων με μικροκύματα και υπερήχους με χρήση νερού ως διαλύτη, η εκχύλιση με μικροκύματα παρουσίασε σημαντικά μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τους υπερήχους.

Τέλος, όσον αφορά τα δείγματα που προέκυψαν έπειτα από επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση, η εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης ως διαλύτη παρουσίασε την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα ($0,32 \pm 0,01$ mg/mL) και ακολουθεί η εκχύλιση με μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης ($0,36 \pm 0,01$ mg/mL) με σημαντική διαφορά μεταξύ τους ($p < 0,05$). Στην συνέχεια ακολουθεί η εκχύλιση Soxhlet με τη χρήση νερού ως διαλύτη να παρουσιάζει υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από την αιθανόλη. Τέλος, την χειρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα σημείωσαν οι εκχυλίσεις με μικροκύματα και υπερήχους.

Με βάση τους πίνακες 9, 10, 11 παρατηρείται ότι η ξήρανση, ως κατεργασία των δειγμάτων πριν την εκχύλιση, οδηγεί σε αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας το οποίο προφανώς οφείλεται στο γεγονός ότι η ξήρανση επηρεάζει την δομή του υλικού με αποτέλεσμα ο διαλύτης να εισέρχεται ευκολότερα στο υλικό και να παρασύρει τις διαλυμένες ουσίες^[92]. Συγκεκριμένα, τα ξηρά δείγματα παρουσίασαν και στις τρεις ποικιλίες υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τα φρέσκα δείγματα. Ωστόσο, τα εκχυλίσματα των φρέσκων δειγμάτων για τις ποικιλίες Ροδίτη και Μοσχοφίλερο που προέκυψαν από εκχύλιση Soxhlet με νερό ως διαλύτη καθώς και τα εκχυλίσματα των φρέσκων δειγμάτων για την ποικιλία Αγιωργίτικο που προέκυψαν από εκχύλιση Soxhlet με αιθανόλη ως διαλύτη παρουσίασαν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τα ξηρά δείγματα. Αυτό προφανώς οφείλεται στο γεγονός ότι η περιεχόμενη υγρασία των δειγμάτων ευνοεί την εκχύλιση Soxhlet καθώς, όπως ήδη έχει αναφερθεί, η υγρασία στο υλικό θερμαίνεται, εξατμίζεται και δημιουργεί εσωτερική πίεση στο κύτταρο, η οποία θραύει το κύτταρο και απελευθερώνει τις διαλυμένες ουσίες αυξάνοντας έτσι την αντιοξειδωτική δράση.

Επίσης παρατηρείται ότι και στις τρεις ποικιλίες η εκχύλιση με μικροκύματα με χρήση νερού ως διαλύτη παρουσίασε χαμηλή αντιοξειδωτική δράση. Αυτό οφείλεται στην στοχευόμενη θέρμανση των μικροκυμάτων. Συγκεκριμένα, όταν χρησιμοποιείται νερό ως διαλύτης, το οποίο έχει μεγάλη διηλεκτρική σταθερά, ο ρυθμός που απορροφά το νερό την ενέργεια των μικροκυμάτων είναι μεγαλύτερος από τον ρυθμό τον οποίο το σύστημα διαχύει την θερμότητα με αποτέλεσμα να υποβαθμίζονται οι διαλυμένες ουσίες^[104].

Επιπλέον, την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση και στις τρεις ποικιλίες παρουσίασαν τα εκχυλίσματα των ξηρών δειγμάτων που προέκυψαν από την εκχύλιση με μικροκύματα και υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης (1:1) ως διαλύτη. Στην περίπτωση της εκχύλισης με υπερήχους, το κύμα των υπερήχων ενισχύει την διάσπαση των τοιχωμάτων κυτταρικών τοιχωμάτων με αποτέλεσμα να διευκολύνεται η απελευθέρωση των βιοδραστικών ενώσεων εντός του διαλύτη και επειδή η εκχύλιση πραγματοποιείται σε χαμηλές θερμοκρασίες δεν παρατηρείται υποβάθμιση των ουσιών^[57]. Όσον αφορά την εκχύλιση με μικροκύματα, όπως έχει ήδη αναφερθεί, αυτή η εκχύλιση έχει το πλεονέκτημα ότι αυξάνει τη θερμοκρασία με αποτέλεσμα να μειώνεται το ιξώδες του διαλύτη. Ως εκ τούτου, ο διαλύτης είχε την ικανότητα να διαβρέχει το υλικό και να διαλύει την ένωση στόχο.

Τέλος, το νερό : αιθανόλη (1:1) είναι ο πιο κατάλληλος διαλύτης για την εκχύλιση αντιοξειδωτικών ενώσεων από παραπροϊόντα οινοποιείου. Οι ερευνητές Yilmaz και Toledo (2005)^[105] βρήκαν ότι τα υδατικά μίγματα αιθανόλης είναι καλύτερα από ότι αν χρησιμοποιηθεί καθαρός διαλύτης για την εκχύλιση αντιοξειδωτικών από σπόρους μοσχοστάφυλου.

5.1.3 Προσδιορισμός ολικού φαινολικού φορτίου (TPC) με τη μέθοδο Folin- Ciocalteu

5.1.3.1 Υλικά- Εξοπλισμός

Το ολικό φαινολικό φορτίο προσδιορίστηκε μέσω της μεθόδου Folin- Ciocalteu και εφαρμόστηκε στα υδατικά και αιθανολικά εκχυλίσματα Αγιωργίτικου που προέκυψαν με τη μέθοδο εκχύλισης Soxhlet τόσο στα ξηρά όσο και στα φρέσκα δείγματα. Επίσης εφαρμόστηκε και στα εκχυλίσματα Ροδίτη, Μοσχοφίλερου, Αγιωργίτικου των μεθόδων εκχύλισης με μικροκύματα και υπερήχους με διαλύτες νερό και νερό: αιθανόλη τόσο στα ξηρά όσο και στα φρέσκα δείγματα για χρόνο εκχύλισης 60 min. Τα πειράματα διεξήχθησαν στη φαρμακευτική σχολή Αθηνών (τομέας φαρμακογνωσίας και χημείας φυσικών προϊόντων).

Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν είναι:

- Μεθανόλη
- Διμεθυλο σουλφοξείδιο (DMSO)
- Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu
- Γαλλικό οξύ
- Ανθρακικό νάτριο

Ο εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκε είναι:

- TECAN Infinite m200 PRO multimode reader (Tecan Group, Männedorf, Switzerland) του εργαστηρίου φαρμακογνωσίας και χημείας φυσικών προϊόντων της φαρμακευτικής σχολής Αθηνών.
- Vortex

5.1.3.2 Διαδικασία προσδιορισμού ολικού φαινολικού φορτίου (TPC) με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

Το ολικό φαινολικό φορτίο των εκχυλισμάτων από παραπροϊόντα οινοποιείων των ποικιλιών Ροδίτη, Μοσχοφίλερου, Αγιωργίτικου προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. 25 μl των εκχυλισμάτων ή του πρότυπου διαλύματος γαλλικού οξέος (2.5, 5, 6.25, 12.5, 25, 40, 50, 80, 100, 120 μg/ml) διαλύματος διμεθυλο σουλφοξειδίου (DMSO) προστέθηκαν σε 125 μl διαλύματος Folin-Ciocalteu (10%) και ακολούθησε η προσθήκη 100 μl ανθρακικού νατρίου (7.5%) σε ένα πλατό 96 θέσεων. Τα αντιδραστήρια αναμείχθηκαν και επώαστηκαν για 30 λεπτά στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, μετρήθηκε η απορρόφηση στα 765 nm με χρήση του TECAN Infinite m200 PRO multimode reader (Tecan Group, Männedorf, Switzerland). Η φασματοφωτομετρική μέτρηση επαναλήφθηκε τρεις φορές για κάθε εκχύλισμα και ο μέσος όρος των δεδομένων παρεμβλήθηκε σε μια καμπύλη βαθμονόμησης γαλλικού οξέος και το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο εκφράστηκε ως mg ισοδύναμου γαλλικού οξέος (GAE) / g ξηρού εκχυλίσματος.

5.1.3.3. Αποτελέσματα ολικού φαινολικού φορτίου (TPC) των εκχυλισμάτων

Στα αποτελέσματα του ολικού φαινολικού φορτίου των εκχυλισμάτων από παραπροϊόντα οινοποιείων που προέκυψαν μέσω της μεθόδου Folin-Ciocalteu πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης κατά δυο παράγοντες και το κριτήριο ελέγχου του Tukey's HSD ώστε να ανιχνευθούν οι διαφορές στο ολικό φαινολικό φορτίο των εκχυλισμάτων λαμβάνοντας ως παράγοντες την μέθοδο ξήρανσης, τον διαλύτη και τη μέθοδο εκχύλισης. Επιλέχθηκε ένα επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$ και οι διαφορές θεωρήθηκαν σημαντικές για $p < 0,05$.

Στους πίνακες 12, 13, 14 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τον προσδιορισμό της ολικού φαινολικού φορτίου (TPC) των εκχυλισμάτων Ροδίτη, Μοσχοφίλερου, Αγιωργίτικου, αντίστοιχα που προέκυψαν μέσω των μεθόδων εκχύλισης Soxhlet, εκχύλιση με μικροκύματα και υπερήχους τόσο για ξηρά όσο και φρέσκα δείγματα.

Πίνακας 12. Ολικό φαινολικό φορτίο (TPC) εκχυλισμάτων Ροδίτη τόσο για ξηρά και φρέσκα δείγματα

Εκχυλίσματα	TPC (mg GAE/g ξηρού εκχ.)		
	Ξήρανση σε Ρεύμα Αέρα	Ηλιακή Επιταχυνόμενη Ξήρανση	
		Επιταχυνόμενη	Φρέσκα
<i>Εκχ. Με Υπερήχους H2O</i>	13,18±0,07 ⁱ	8,19±0,02 ^v	6,38±0,08 ^{ix}
<i>Εκχ. Με Υπερήχους H2O: αιθανόλη</i>	82,78±0,14 ⁱⁱ	37,11±0,03 ^{vi}	35,03±0,01 ^x
<i>Εκχ. με Μικροκύματα H2O</i>	36,38±0,02 ⁱⁱⁱ	13,04±0,01 ^{vii}	13,92±0,03 ^{xi}
<i>Εκχ. με Μικροκύματα H2O: αιθανόλη</i>	65,73±0,06 ^{iv}	68,86±0,09 ^{viii}	24,24±0,05 ^{xii}

* Τιμές με διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά p<0.05.

Με βάση τον πίνακα 12 για την ποικιλία Ροδίτη, οι τιμές του φαινολικού φορτίου (TPC) κυμαίνονται από 6,38 ± 0,08 έως 24,24 ± 0,05, 8,19 ± 0,02 έως 68,86 ± 0,09 και 13,18 ± 0,07 έως 82,78 ± 0,14 mg GAE/g ξ.υ στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων που προέκυψαν έπειτα από επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση και έπειτα από ξήρανση σε ρεύμα αέρα, αντίστοιχα.

Όσον αφορά τα φρέσκα δείγματα την υψηλότερη τιμή φαινολικού φορτίου παρουσίασε η εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης ως διαλύτη (35,03 ± 0,01 mg GAE/g ξ.υ) και ακολουθεί η εκχύλιση με μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης (24,24 ± 0,05 mg GAE/g ξ.υ). Οι δυο μέθοδοι εκχύλισης παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές στο φαινολικό φορτίο των φρέσκων δειγμάτων (p<0,05). Όσον αφορά τα υδατικά εκχυλίσματα, την μεγαλύτερη τιμή φαινολικού φορτίου παρουσίασε η εκχύλιση με μικροκύματα ενώ αντίθετα η εκχύλιση με υπερήχους παρουσίασε την χειρότερη τιμή.

Την ίδια τάση με τα φρέσκα δείγματα ακολούθησαν και τα δείγματα που προέκυψαν έπειτα από ξήρανση σε ρεύμα αέρα με τη διαφορά ότι οι τιμές του φαινολικού φορτίου των ξηρών είναι σημαντικά μεγαλύτερες από των φρέσκων. Συγκεκριμένα, η εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης ως διαλύτη (82,78 ± 0,14 mg GAE/g ξ.υ) και ακολουθεί η εκχύλιση με μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης (65,73 ± 0,06 mg GAE/g ξ.υ). Οι δυο μέθοδοι εκχύλισης παρουσιάζουν διαφορές στο φαινολικό φορτίο των δειγμάτων (p<0,05). Όσον αφορά τα υδατικά εκχυλίσματα, την μεγαλύτερη τιμή φαινολικού φορτίου παρουσίασε η εκχύλιση με μικροκύματα ενώ αντίθετα η εκχύλιση με υπερήχους παρουσίασε την χειρότερη τιμή.

Τέλος, όσον αφορά τα δείγματα που προέκυψαν έπειτα από επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση, η εκχύλιση με μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης ως διαλύτη παρουσίασε την υψηλότερη τιμή φαινολικού φορτίου (68,86 ± 0,09 mg GAE/g ξ.υ)

και ακολουθεί η εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης ($37,11 \pm 0,03$ mg/mL) με σημαντική διαφορά μεταξύ τους ($p < 0,05$). Όσον αφορά τα υδατικά εκχυλίσματα, το μεγαλύτερο φαινολικό φορτίο παρουσίασε η εκχύλιση με μικροκύματα και το μικρότερο η εκχύλιση με υπερήχους.

Με βάση τα αποτελέσματα της αντιοξειδωτικής ικανότητας και του φαινολικού φορτίου στην περίπτωση του Ροδίτη, παρατηρείται συσχέτιση μεταξύ των δυο μεγεθών.

Αποτελέσματα ολικού φαινολικού φορτίου εκχυλισμάτων Μοσχοφίλερου

Πίνακας 13. Ολικό φαινολικό φορτίο (TPC) εκχυλισμάτων Μοσχοφίλερου τόσο για ξηρά και φρέσκα δείγματα

Εκχυλίσματα	TPC (mg GAE/g ξηρού εκχ.)		
	Ξήρανση σε Ρεύμα Αέρα	Ηλιακή	
		Επιταχυνόμενη Ξήρανση	Φρέσκα
<i>Εκχ. Με Υπερήχους H2O</i>	90,69±0,02 ⁱ	52,72±0,04 ^v	40,29±0,03 ^{ix}
<i>Εκχ. Με Υπερήχους H2O: αιθανόλη</i>	116,38±0,12 ⁱⁱ	122,35±0,04 ^{vi}	26,82±0,05 ^x
<i>Εκχ. με Μικροκύματα H2O</i>	60,57±0,08 ⁱⁱⁱ	41,38±0,08 ^{vii}	36,80±0,00 ^{xi}
<i>Εκχ. με Μικροκύματα H2O: αιθανόλη</i>	103,50±0,15 ^{iv}	81,97±0,03 ^{viii}	52,02±0,06 ^{xii}

* Τιμές με διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά $p < 0,05$.

Με βάση τον πίνακα 13 για την ποικιλία Μοσχοφίλερο, οι τιμές του φαινολικού φορτίου (TPC) κυμαίνονται από $26,82 \pm 0,05$ έως $52,02 \pm 0,05$, $41,38 \pm 0,08$ έως $122,35 \pm 0,04$ και $60,57 \pm 0,08$ έως $116,38 \pm 0,12$ mg GAE/g ξ.υ στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων που προέκυψαν έπειτα από επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση και έπειτα από ξήρανση σε ρεύμα αέρα, αντίστοιχα.

Όσον αφορά τα φρέσκα δείγματα την υψηλότερη τιμή φαινολικού φορτίου παρουσίασε η εκχύλιση με μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης ως διαλύτη ($52,02 \pm 0,05$ mg GAE/g ξ.υ) και ακολουθεί η εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού ($40,29 \pm 0,03$ mg GAE/g ξ.υ). Οι δυο μέθοδοι εκχύλισης παρουσιάζουν διαφορές στο φαινολικό φορτίο των φρέσκων δειγμάτων ($p < 0,05$). Στη συνέχεια ακολουθούν η εκχύλιση με μικροκύματα με χρήση νερού ως διαλύτη και τέλος η εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού αιθανόλης που παρουσίασε την χειρότερη τιμή.

Στη συνέχεια παρουσιάζονται οι τιμές του φαινολικού φορτίου για τα ξηρά δείγματα τα οποία παρουσιάζουν την ίδια τάση. Όπως και στην περίπτωση του Ροδίτη τα ξηρά δείγματα παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερες τιμές φαινολικού φορτίου σε σύγκριση με τα φρέσκα. Συγκεκριμένα, η εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης ως διαλύτη παρουσίασε την υψηλότερη τιμή φαινολικού φορτίου ($116,38 \pm 0,12$ mg GAE/g ξ.υ για τα δείγματα ΞΡΑ και $122,35 \pm 0,04$ mg GAE/g ξ.υ για τα

δείγματα ΕΗΞ) και ακολουθεί η εκχύλιση με μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης ($103,50 \pm 0,15$ mg GAE/g ξ.υ για τα δείγματα ΞΡΑ και $81,97 \pm 0,03$ mg GAE/g ξ.υ για τα δείγματα ΕΗΞ). Όσον αφορά τα υδατικά εκχυλίσματα, την μεγαλύτερη τιμή φαινολικού φορτίου παρουσίασε η εκχύλιση με υπερήχους ενώ αντίθετα η εκχύλιση με μικροκύματα παρουσίασε την χειρότερη τιμή.

Με βάση τα αποτελέσματα της αντιοξειδωτικής ικανότητας και του φαινολικού φορτίου στην περίπτωση του Μοσχοφίλερου, παρατηρείται συσχέτιση μεταξύ των δυο μεγεθών για τα δείγματα ΞΡΑ ενώ αντίθετα για τα δείγματα ΕΗΞ και τα φρέσκα παρατηρείται μερική συσχέτιση.

Αποτελέσματα ολικού φαινολικού φορτίου εκχυλισμάτων Αγιωργίτικου

Πίνακας 14. Ολικό φαινολικό φορτίο (TPC) εκχυλισμάτων Αγιωργίτικου τόσο για ξηρά και φρέσκα δείγματα

Εκχυλίσματα	Ολικό φαινολικό φορτίο (mg GAE/g ξηρού εκχ.)		
	Ξήρανση σε Ρεύμα Αέρα	Ηλιακή	Φρέσκα
		Επιταχυνόμενη Ξήρανση	
<i>Εκχ. Με Υπερήχους H2O</i>	27,14±0,00 ⁱ	26,23±0,04 ^v	6,55±0,09 ^{ix}
<i>Εκχ. Με Υπερήχους H2O: αιθανόλη</i>	127,99±0,02 ⁱⁱ	172,68±0,01 ^{vi}	109,74±0,03 ^x
<i>Εκχ. με Μικροκύματα H2O</i>	30,89±0,01 ⁱⁱⁱ	44,95±0,03 ^{vii}	9,88±0,03 ^{xi}
<i>Εκχ. με Μικροκύματα H2O: αιθανόλη</i>	106,42±0,02 ^{iv}	107,82±0,02 ^{viii}	102,06±0,01 ^{xii}

* Τιμές με διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά $p < 0.05$.

Με βάση τον πίνακα 14 για την ποικιλία Αγιωργίτικο, οι τιμές του φαινολικού φορτίου (TPC) κυμαίνονται από $6,55 \pm 0,09$ έως $109,74 \pm 0,03$, $26,23 \pm 0,04$ έως $172,68 \pm 0,01$ και $27,14 \pm 0,00$ έως $127,99 \pm 0,02$ mg GAE/g ξ.υ στην περίπτωση των φρέσκων δειγμάτων, των δειγμάτων που προέκυψαν έπειτα από επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση και έπειτα από ξήρανση σε ρεύμα αέρα, αντίστοιχα.

Οι τιμές του φαινολικού φορτίου παρουσιάζουν την ίδια τάση τόσο για τα ξηρά όσο και για τα φρέσκα δείγματα, με τις τιμές των ξηρών δειγμάτων να είναι μεγαλύτερες από των φρέσκων. Συγκεκριμένα, η εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης ως διαλύτη παρουσίασε την υψηλότερη τιμή φαινολικού φορτίου ($109,74 \pm 0,03$, $127,99 \pm 0,02$, $172,68 \pm 0,03$ mg GAE/g ξ.υ για τα φρέσκα δείγματα, για τα δείγματα ΞΡΑ και ΕΗΞ, αντίστοιχα) και ακολουθεί η εκχύλιση με μικροκύματα με χρήση νερού: αιθανόλης ($102,06 \pm 0,01$, $106,42 \pm 0,02$, $107,82 \pm 0,02$ mg GAE/g ξ.υ για τα φρέσκα δείγματα, για τα δείγματα ΞΡΑ και ΕΗΞ, αντίστοιχα). Όσον αφορά τα υδατικά εκχυλίσματα, την μεγαλύτερη τιμή φαινολικού φορτίου παρουσίασε η εκχύλιση με μικροκύματα ενώ αντίθετα η εκχύλιση με υπερήχους παρουσίασε την χειρότερη τιμή.

Με βάση τα αποτελέσματα της αντιοξειδωτικής ικανότητας και του φαινολικού φορτίου στην περίπτωση του Αγιοργίτικου, παρατηρείται μερική συσχέτιση μεταξύ των δυο μεγεθών τόσο για τα ξηρά όσο και για τα φρέσκα δείγματα.

Με βάση τους πίνακες 12, 13, 14 οι καλύτεροι μέθοδοι για την ανάκτηση αντιοξειδωτικών και εκχυλισμάτων με υψηλό φαινολικό φορτίο είναι η εκχύλιση με μικροκύματα και υπερήχους με χρήση νερού :αιθανόλης (1:1) ως διαλύτη για τα φρέσκα και ξηρά δείγματα και για τις τρεις ποικιλίες. Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι η διεργασία της ξήρανσης ευνοεί την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων. Αρκετές μελέτες σε φαρμακευτικά φυτά έχουν δείξει ότι τα εκχυλίσματα νερού :αιθανόλης παρουσιάζουν υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σύγκριση με τα υδατικά εκχυλίσματα^[101]. Με εξαίρεση τα εκχυλίσματα Ροδίτη, στα εκχυλίσματα των ποικιλιών Αγιοργίτικου και Μοσχοφίλερου παρατηρήθηκε μερική συσχέτιση του φαινολικού φορτίου και της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η αντιοξειδωτική δράση που παρατηρείται στα εκχυλίσματα μπορεί να μην οφείλεται αποκλειστικά στις φαινολικές ενώσεις αλλά θα μπορούσε ενδεχομένως να οφείλεται στην παρουσία ορισμένων άλλων ενώσεων, οι οποίες συμβάλλουν επίσης στην αντιοξειδωτική ικανότητα (για παράδειγμα οι τανίνες οι οποίες βρίσκονται στις κόκκινες ποικιλίες σταφυλιών αλλά δεν υπολογίζονται στο φαινολικό φορτίο)^[106]. Επιπλέον, θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι οι διάφορες φαινολικές ενώσεις μπορεί να παρουσιάζουν διαφορετική αντιοξειδωτική ικανότητα ανάλογα με τη δομή τους, καθώς και με τη συνεργιστική ή ανταγωνιστική δράση με άλλες ενώσεις οι οποίες είναι παρούσες στο εκχύλισμα^[107]. Ως εκ τούτου, οι διαδικασίες εκχύλισης φαίνεται να παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην ανάκτηση φαινολικών ενώσεων με διαφορετικές αντιοξειδωτικές ικανότητες. Για παράδειγμα, η χρήση υπερήχων είναι γνωστή για τη δημιουργία ελευθέρων ριζών οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν σε αντιδράσεις πολυμερισμού σε σύντομους χρόνους καθώς και για την θραύση των κυτταρικών τοιχωμάτων. Αυτές οι αντιδράσεις πολυμερισμού μπορεί να οδηγήσουν σε αυξημένο φαινολικό περιεχόμενο των εκχυλισμάτων^[56].

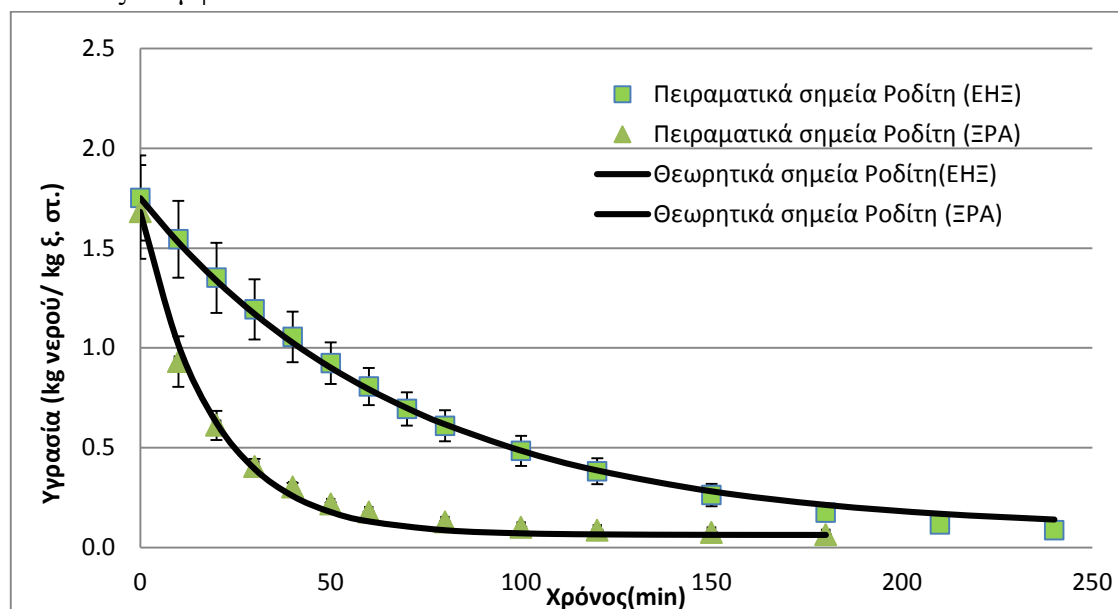
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

6.1 Σύγκριση μεθόδων ξήρανσης

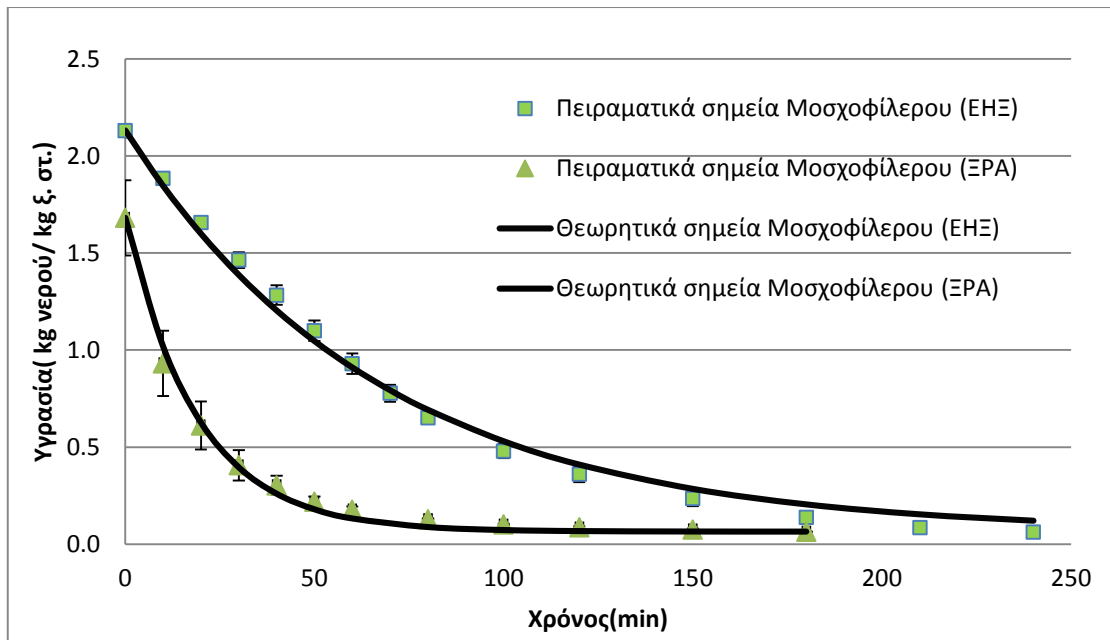
Στην παρούσα μελέτη εφαρμόστηκαν δυο μέθοδοι ξήρανσης, συγκεκριμένα η ξήρανση σε ρεύμα αέρα και η επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η ξήρανση αποτελεί μια μέθοδο η οποία αυξάνει την διάρκεια ζωής των αγροτικών προϊόντων καθώς επίσης μειώνει τον όγκο τους με αποτέλεσμα να διευκολύνεται η αποθήκευση και η μεταφορά τους. Ωστόσο σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να μελετηθεί η επίδραση της ξήρανσης τόσο στην απόδοση όσο και στην αντιοξειδωτική ικανότητα εκχυλισμάτων από παραπροϊόντα οινοποιείου τα οποία προέκυψαν από εκχυλίσεις που πραγματοποιήθηκαν σε διάφορες συνθήκες. Επιπλέον, μελετήθηκε και προσδιορίστηκε η κινητική ξήρανσης και των δυο μεθόδων σε τρεις ποικιλίες παραπροϊόντων, συγκεκριμένα στο Ροδίτη, στο Μοσχοφίλερο και στο Αγιωργίτικο.

Με βάση τα αποτελέσματα των αποδόσεων των εκχυλίσεων παρατηρήθηκε ότι τα ξηρά δείγματα παρουσίασαν υψηλές αποδόσεις από τα πρώτα 5 min εκχύλισης ενώ η απόδοση των φρέσκων δειγμάτων αυξήθηκε σταδιακά. Επίσης και στις τρεις ποικιλίες τα ξηρά δείγματα παρουσίασαν υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα και φαινολικό φορτίο.

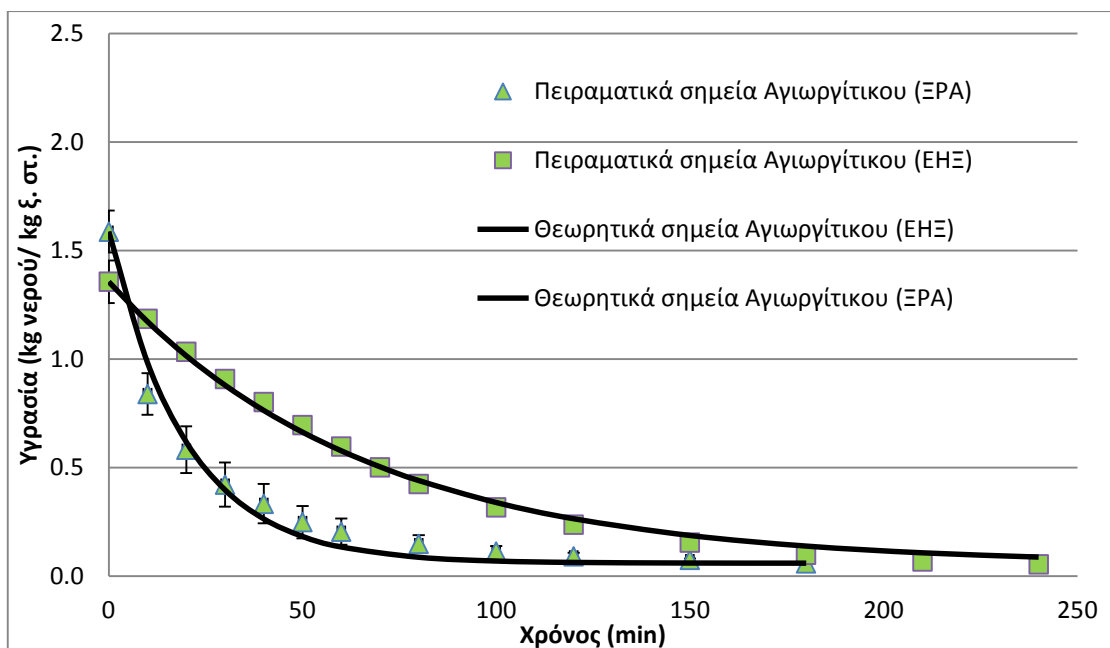
Στα διαγράμματα 22, 23, 24 παρουσιάζονται οι καμπύλες μεταβολής της υγρασίας επί ξηρής βάσης συναρτήσει του χρόνου, καθώς και οι καμπύλες θεωρητικής υγρασίας από τις οποίες προέκυψαν οι σταθερές ξήρανσης k για την ξήρανση σε ρεύμα αέρα και την επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση για το Ροδίτη, το Μοσχοφίλερο και το Αγιωργίτικο, αντίστοιχα. Επίσης στον πίνακα 15 οι σταθερές ξήρανσης k για τις τρεις ποικιλίες στέμφυλων.



Διάγραμμα 22. Μεταβολή υγρασίας των παραπροϊόντων σταφυλιού της ποικιλίας Ροδίτη συναρτήσει του χρόνου ξήρανσης σε ρεύμα αέρα και του χρόνου επιταχυνόμενης ηλιακής ξήρανσης



Διάγραμμα 23. Μεταβολή υγρασίας των παραπροϊόντων σταφυλιού της ποικιλίας Μοσχοφίλερου συναρτήσει του χρόνου ξήρανσης σε ρεύμα αέρα και του χρόνου επιταχυνόμενης ηλιακής ξήρανσης



Διάγραμμα 24. Μεταβολή υγρασίας των παραπροϊόντων σταφυλιού της ποικιλίας Αγιωργίτικου συναρτήσει του χρόνου ξήρανσης σε ρεύμα αέρα και του χρόνου επιταχυνόμενης ηλιακής ξήρανσης

Πίνακας 15. Σταθερές ξήρανσης $k(\text{min}^{-1})$ για τις ποικιλίες Ροδίτη, Μοσχοφίλερο και Αγιωργίτικο με βάση το μοντέλο λεπτής στιβάδας Lewis για την ξήρανση σε ρεύμα αέρα και την επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση

Σταθερές ξήρανσης $k(\text{min}^{-1})$		
Ποικιλία παραπροϊόντος οινοποιείου	Ξήρανση σε ρεύμα αέρα	Επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση
Ροδίτης	$5,29 \cdot 10^{-2}$	$1,42 \cdot 10^{-2}$
Μοσχοφίλερο	$4,10 \cdot 10^{-2}$	$1,48 \cdot 10^{-2}$
Αγιωργίτικο	$5,03 \cdot 10^{-2}$	$1,52 \cdot 10^{-2}$

Με βάση τα διαγράμματα 22, 23, 24 παρατηρείται ότι το ποσοστό υγρασίας μειώνεται εκθετικά με το χρόνο ξήρανσης. Το ποσοστό υγρασίας μειώνεται γρήγορα στην αρχή της ξήρανσης ενώ στη συνέχεια μειώνεται αργά με την αύξηση του χρόνου ξήρανσης. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι αρχικά απορροφάται περισσότερη θερμική ενέργεια από το νερό στην επιφάνεια του υλικού ενώ στη συνέχεια, που η υγρασία της επιφάνειας του υλικού έχει απομακρυνθεί, η διεύδυση της θερμότητας στο ξηρό στρώμα μειώνεται επιβραδύνοντας τον ρυθμό ξήρανσης.

Η μεταβολή της υγρασίας είναι έντονη στην αρχή της ξήρανσης και στην συνέχεια ελαττώνεται έως ότου φτάσει σε ένα πλατό όπου η μεταβολή της είναι ελάχιστη. Στην επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση ο χρόνος που απαιτείται για την δημιουργία πλατό και ολοκλήρωση της διεργασίας ξήρανσης είναι μεγαλύτερος από ότι στην ξήρανση σε ρεύμα αέρα. Συγκεκριμένα, στην επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση, ο χρόνος στον οποίο ολοκληρώνεται η διεργασία της ξήρανσης είναι τα 240 min ενώ στην ξήρανση σε ρεύμα αέρα είναι τα 180 min. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η μεταφορά θερμότητας λόγω συναγωγής στην δεύτερη περίπτωση είναι εντονότερη με αποτέλεσμα να επιταχύνεται η διάχυση της υγρασίας. Επίσης η μεταφορά θερμότητας στην περίπτωση της ξήρανσης σε ρεύμα αέρα γίνεται και από τις δυο επιφάνειες του υλικού καθώς τα ράφια είναι διάτρητα σε αντίθεση με την επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση που πραγματοποιείται από την μια επιφάνεια με αποτέλεσμα να επιβραδύνεται η μεταφορά θερμότητας και μάζας.

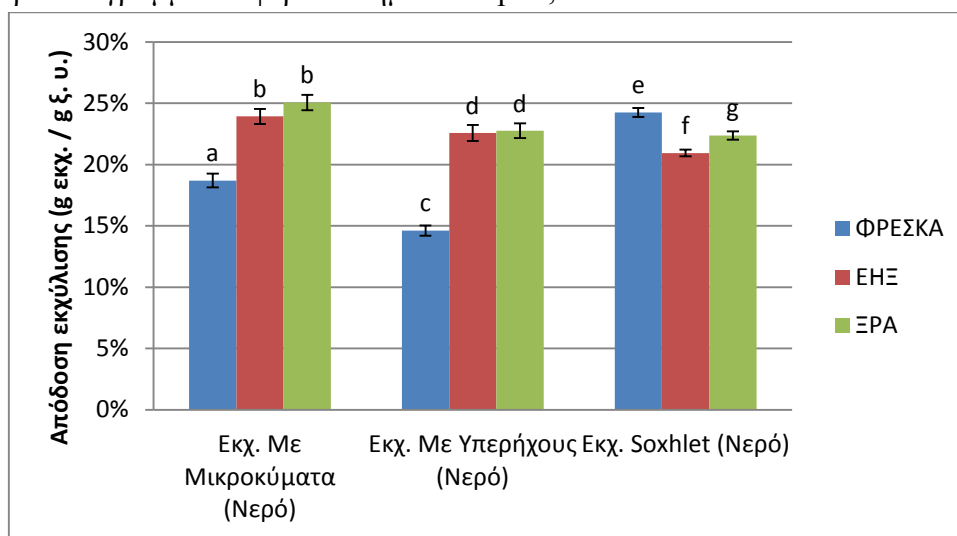
Επίσης, με βάση τον πίνακα 15, συγκρίνοντας τις σταθερές ξήρανσης που προκύπτουν από τις δυο μεθόδους ξήρανσης, η ξήρανση σε ρεύμα αέρα παρουσιάζει μεγαλύτερες σταθερές και για τις τρεις ποικιλίες καθώς η μεταφορά θερμότητας αυξάνεται λόγω συναγωγής.

Τέλος, από τα διαγράμματα παρατηρείται καλή προσαρμογή των πειραματικών σημείων με τα θεωρητικά τα οποία προκύπτουν με βάση το μοντέλο λεπτής στιβάδας του Lewis.

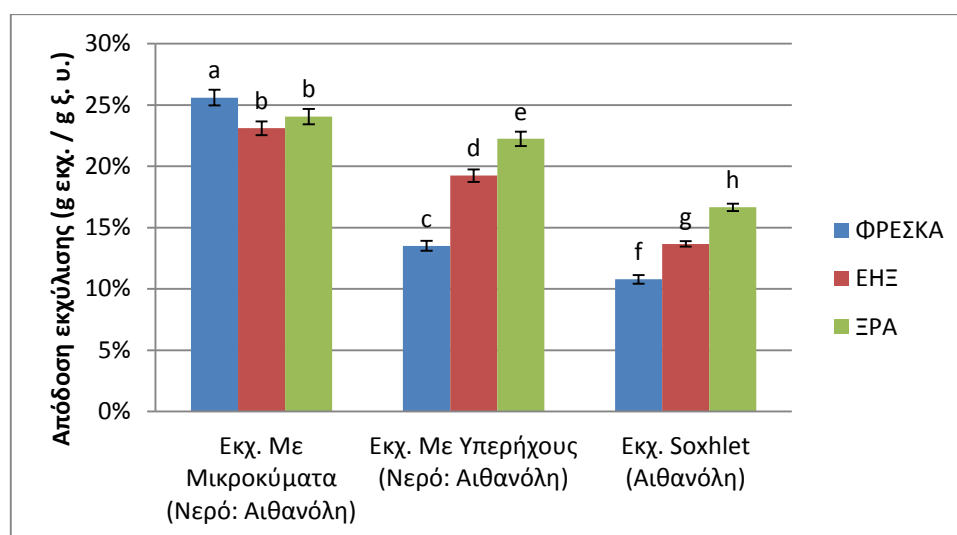
6.2 Βέλτιστες αποδόσεις εκχύλισεων

Στην παρούσα μελέτη προσδιορίστηκαν οι βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης και η αποδοτικότητα της εκχύλισης εκφράστηκε αρχικά σε όρους απόδοσης (g εκχυλίσματος/ 100 g ξηρού υλικού) και για τις τρεις ποικιλίες. Τρεις μέθοδοι

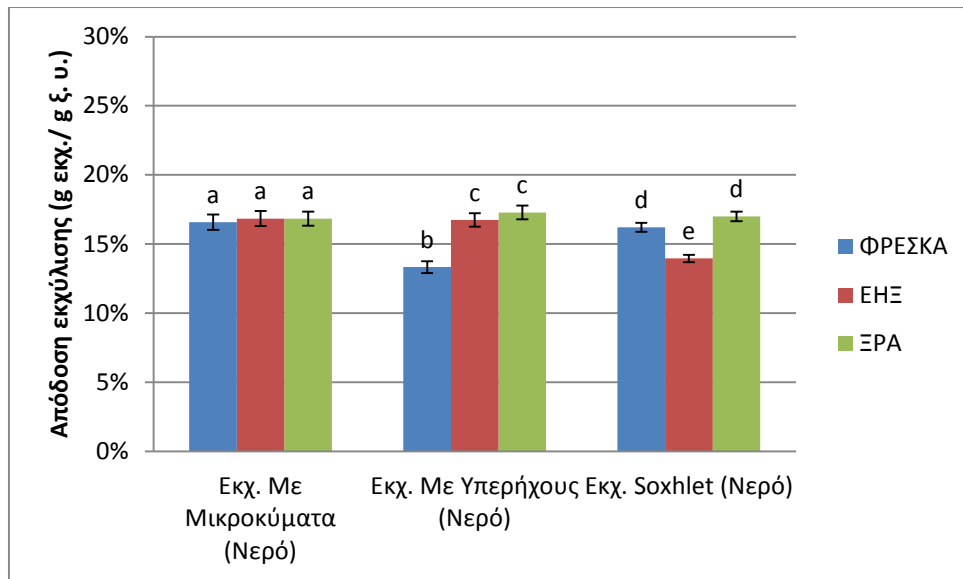
εκχύλιση εξετάστηκαν. Συγκεκριμένα, η κλασική μέθοδος εκχύλισης Soxhlet και δυο καινοτόμες μέθοδοι, η εκχύλιση με μικροκύματα και υπερήχους. Οι συνθήκες που μελετήθηκαν ήταν ο χρόνος εκχύλισης, ο διαλύτης και η μέθοδος ξήρανσης. Όσον αφορά την εκχύλιση με μικροκύματα και υπερήχους, με βάση τα αποτελέσματα, μέγιστοι χρόνοι εκχύλισης σημειώθηκαν στα 60min ωστόσο τα ξηρά δείγματα παρουσίασαν αυξημένες αποδόσεις από τα 5 min. Στα διαγράμματα 25- 30 παρουσιάζονται οι καλύτερες αποδόσεις εκχύλισης που προέρχονται από τις τρεις μεθόδους εκχύλισης με νερό, νερό: αιθανόλη και αιθανόλη ως διαλύτες για τις τρεις ποικιλίες τόσο σε ξηρά όσο και σε φρέσκα δείγματα. Σημειώνεται ότι τιμές με διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά $p < 0,05$.



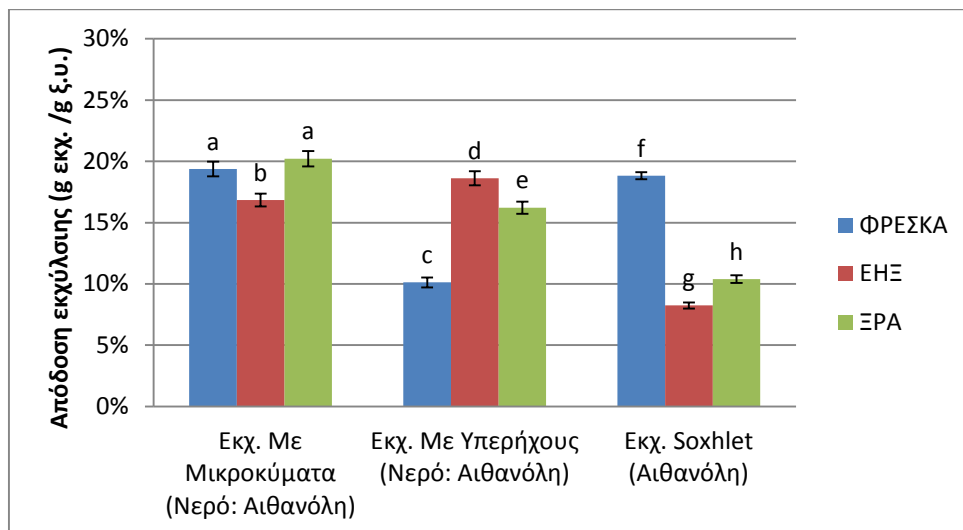
Διάγραμμα 25. Βέλτιστες αποδόσεις εκχύλισης με μικροκύματα, υπερήχους και με την μέθοδο Soxhlet με χρήση νερού ως διαλύτη για την ποικιλία Ροδίτη.



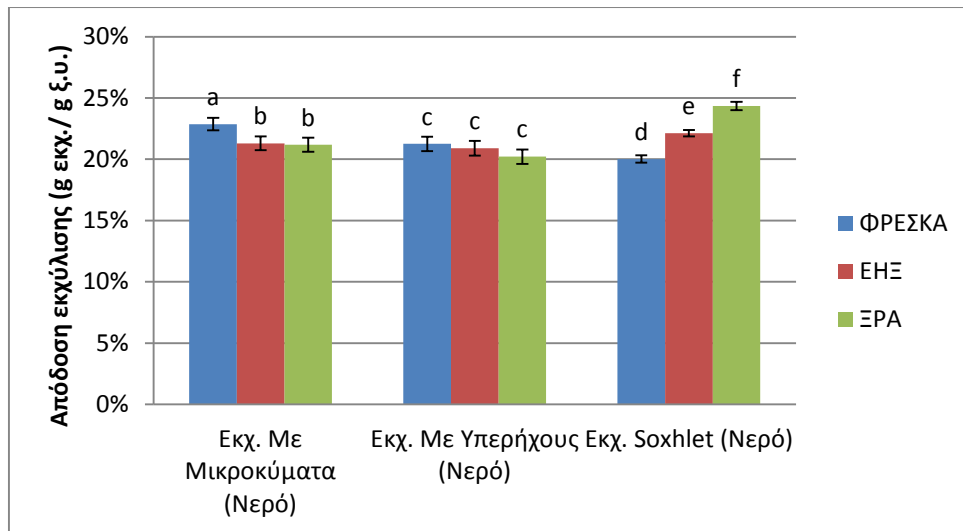
Διάγραμμα 26. Βέλτιστες αποδόσεις εκχύλισης με μικροκύματα, υπερήχους και με την μέθοδο Soxhlet με χρήση νερού : αιθανόλης (1:1) ως διαλύτη για την ποικιλία Ροδίτη.



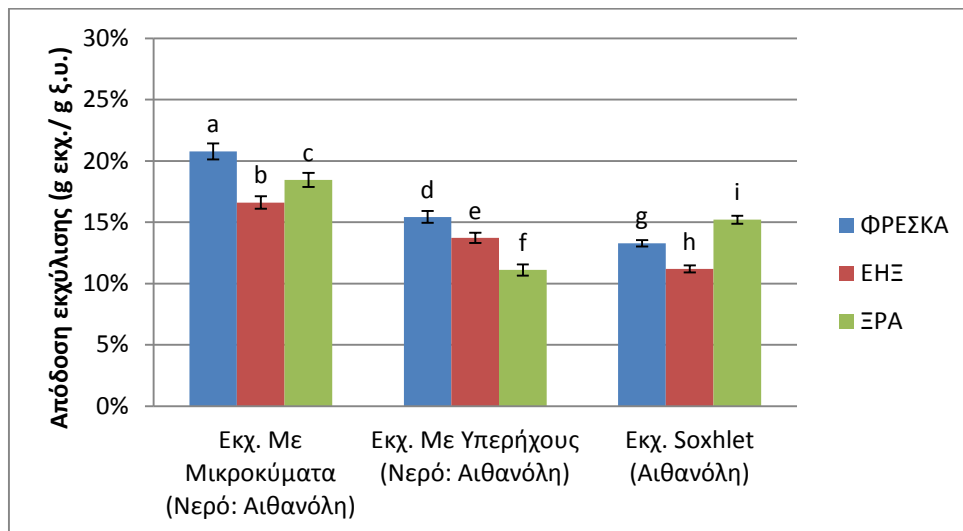
Διάγραμμα 27. Βέλτιστες αποδόσεις εκχύλισης με μικροκύματα, υπερήχους και με την μέθοδο Soxhlet με χρήση νερού ως διαλύτη για την ποικιλία Μοσχοφίλερο.



Διάγραμμα 28. Βέλτιστες αποδόσεις εκχύλισης με μικροκύματα, υπερήχους και με την μέθοδο Soxhlet με χρήση νερού : αιθανόλης (1:1) ως διαλύτη για την ποικιλία Μοσχοφίλερο.



Διάγραμμα 29. Βέλτιστες αποδόσεις εκχύλισης με μικροκύματα, υπερήχους και με την μέθοδο Soxhlet με χρήση νερού ως διαλύτη για την ποικιλία Αγιωργίτικο.



Διάγραμμα 30. Βέλτιστες αποδόσεις εκχύλισης με μικροκύματα, υπερήχους και με την μέθοδο Soxhlet με χρήση νερού : αιθανόλης (1:1) ως διαλύτη για την ποικιλία Αγιωργίτικο.

Με βάση τα διαγράμματα 25-30 παρατηρούνται τα εξής:

- Και στις τρεις ποικιλίες η εκχύλιση με μικροκύματα παρουσίασε υψηλότερες αποδόσεις από την εκχύλιση με υπερήχους χρησιμοποιώντας τόσο νερό όσο και νερό : αιθανόλη (1: 1) ως διαλύτες. Είναι γνωστό ότι η εκχύλιση με μικροκύματα έχει το πλεονέκτημα ότι αυξάνει τη θερμοκρασία με αποτέλεσμα να μειώνεται το ιξώδες του διαλύτη. Ως εκ τούτου, ο διαλύτης είχε την ικανότητα να διαβρέχει το υλικό και να διαλύει την ένωση στόχο. Επιπλέον παρέχει στοχευμένη θέρμανση στο δείγμα η οποία δρα ως κινητήρια δύναμη για την καταστροφή του κυτταρικού τοιχώματος και την απελευθέρωση της διαλυμένης ουσίας στον διαλύτη.
- Η εκχύλιση Soxhlet με χρήση νερού ως διαλύτη παρουσίασε ικανοποιητικές αποδόσεις που σε ορισμένες περιπτώσεις ξεπερνούσαν την εκχύλιση με μικροκύματα. Ωστόσο η εκχύλιση Soxhlet απαιτεί περισσότερο χρόνο (360 min)

από ότι τα μικροκύματα (60 min) και η διαφορά ανάμεσα στις αποδόσεις δεν ξεπερνούσε το 3% με αποτέλεσμα τα μικροκύματα να υπερτερούν έναντι της κλασικής μεθόδου.

- Το νερό παρουσίασε μεγαλύτερες αποδόσεις από ότι το νερό :αιθανόλη (1:1) που προφανώς οφείλεται στην μεγαλύτερη πολικότητα του και στην μεγαλύτερη διηλεκτρική σταθερά του στην περίπτωση εκχύλισης με μικροκύματα. Η διαφορά ανάμεσα στις αποδόσεις των δυο διαλυτών ήταν σημαντική για τις ποικιλίες Ροδίτη και Αγιωργίτικο. Ωστόσο, στην περίπτωση του Μοσχοφίλερου το νερό: αιθανόλη παρουσίασε εξίσου μεγάλες αποδόσεις με το νερό. Αυτό οφείλεται στην διαφορετική φύση κάθε υλικού.
- Τα ξηρά δείγματα παρουσιάζουν μεγάλες αποδόσεις από τα πρώτα 5 min της εκχύλισης οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η ξήρανση ευνοεί την διεργασία της εκχύλισης.

6.3 Βέλτιστη αντιοξειδωτική ικανότητα

Στην παρούσα μελέτη προσδιορίστηκαν οι συνθήκες εκχύλισης οι οποίες αποδίδουν εκχυλίσματα με υψηλή αντιοξειδωτική δράση και στις τρεις ποικιλίες παραπροϊόντων οινοποιείου. Η αντιοξειδωτική δράση εκφράστηκε με βάση το IC₅₀(mg/mL). Στον πίνακα 16 παρουσιάζονται τα εκχυλίσματα με την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα που προέρχονται από τις εκχυλίσεις με μικροκύματα και υπερήχους με χρήση νερού :αιθανόλης ως διαλύτη για τις τρεις ποικιλίες τόσο σε ξηρά όσο και σε φρέσκα δείγματα.

Πίνακας 16. Βέλτιστη αντιοξειδωτική δράση για εκχυλίσματα που προέρχονται τις εκχυλίσεις με μικροκύματα και υπερήχους με χρήση νερού :αιθανόλης ως διαλύτη για τις τρεις ποικιλίες τόσο σε ξηρά όσο και σε φρέσκα δείγματα.

	IC ₅₀ (mg/mL)					
	Εκχύλιση με μικροκύματα (νερό :αιθανόλη)			Εκχύλιση με υπερήχους (νερό :αιθανόλη)		
	ΞΡΑ	ΕΗΞ	ΦΡΕΣΚΑ	ΞΡΑ	ΕΗΞ	ΦΡΕΣΚΑ
Ροδίτης	1,75±0,01	1,22±0,01	3,10±0,01	1,08±0,01	2,47±0,03	3,01±0,02
Μοσχοφίλερο	0,92±0,01	1,08±0,01	6,36±0,03	1,05±0,01	0,59±0,01	3,88±0,01
Αγιωργίτικο	1,03±0,02	0,32±0,01	0,56±0,01	0,84±0,01	0,36±0,01	0,91±0,02

Σύμφωνα με την παράγραφο 5.1.2.3, τα εκχυλίσματα που προέρχονται από τις εκχυλίσεις με μικροκύματα και υπερήχους με χρήση νερού :αιθανόλης ως διαλύτη παρουσίασαν την βέλτιστη αντιοξειδωτική ικανότητα για τις τρεις ποικιλίες τόσο σε ξηρά όσο και σε φρέσκα δείγματα. Με βάση την παράγραφο 5.1.2.3 και τον πίνακα 16 παρατηρούνται τα εξής:

- Το νερό: αιθανόλη είναι καταλληλότερος διαλύτης από το νερό για την παραλαβή εκχυλισμάτων με υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα.
- Τα ξηρά δείγματα στην περίπτωση των ποικιλιών Ροδίτη και Μοσχοφίλερου παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τα φρέσκα.

Με βάση αυτά συμπεραίνεται ότι η ξήρανση ενισχύει την εκχύλιση ενώσεων με υψηλή αντιοξειδωτική δράση. Όσον αφορά το Αγιωργίτικο, τόσο τα ξηρά όσο και τα φρέσκα δείγματα παρουσίασαν εξίσου υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα.

- Όσον αφορά τον Ροδίτη, το εκχύλισμα με τη μέγιστη αντιοξειδωτική ικανότητα προέκυψε από την εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού :αιθανόλης ως διαλύτη σε συνδυασμό με ξήρανση σε ρεύμα αέρα. Για το Μοσχοφίλερο, μέγιστη αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσίασε το εκχύλισμα που προέκυψε από την εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού :αιθανόλης ως διαλύτη σε συνδυασμό με την επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση. Τέλος, για το Αγιωργίτικο, η εκχύλιση με υπερήχους και μικροκύματα με χρήση νερού :αιθανόλης ως διαλύτη σε συνδυασμό με την επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση έδωσαν εκχυλίσματα με ισοδύναμη αντιοξειδωτική ικανότητα.
- Τέλος, την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση και στις τρεις ποικιλίες παρουσίασαν τα εκχυλίσματα των ξηρών δειγμάτων που προέκυψαν από την εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης (1:1) ως διαλύτη. Στην περίπτωση της εκχύλισης με υπερήχους, το κύμα των υπερήχων ενισχύει την διάσπαση των τοιχωμάτων κυτταρικών τοιχωμάτων με αποτέλεσμα να διευκολύνεται η απελευθέρωση των βιοδραστικών ενώσεων εντός του διαλύτη και επειδή η εκχύλιση πραγματοποιείται σε χαμηλές θερμοκρασίες δεν παρατηρείται υποβάθμιση των ουσιών.

6.4 Βέλτιστο φαινολικό φορτίο

Τέλος, στην παρούσα μελέτη προσδιορίστηκαν οι συνθήκες εκχύλισης οι οποίες αποδίδουν εκχυλίσματα με υψηλό φαινολικό φορτίο και στις τρεις ποικιλίες παραπροϊόντων οινοποιείου. Το φαινολικό φορτίο εκφράστηκε σε mg GAE/ g ξηρού εκχυλίσματος (TPC). Στον πίνακα 17 παρουσιάζονται τα εκχυλίσματα με το υψηλότερο φαινολικό φορτίο που προέρχονται από τις εκχυλίσεις με μικροκύματα και υπερήχους με χρήση νερού :αιθανόλης ως διαλύτη για τις τρεις ποικιλίες τόσο σε ξηρά όσο και σε φρέσκα δείγματα.

Πίνακας 17. Βέλτιστο φαινολικό φορτίο για εκχυλίσματα που προέρχονται τις εκχυλίσεις με μικροκύματα και υπερήχους με χρήση νερού :αιθανόλης ως διαλύτη για τις τρεις ποικιλίες τόσο σε ξηρά όσο και σε φρέσκα δείγματα.

	TPC (mg GAE/g ξ.υ)					
	Εκχύλιση με μικροκύματα (νερό :αιθανόλη)			Εκχύλιση με υπερήχους (νερό :αιθανόλη)		
	ΞΡΑ	ΕΗΞ	ΦΡΕΣΚΑ	ΞΡΑ	ΕΗΞ	ΦΡΕΣΚΑ
Ροδίτης	65,73±0,06	68,86±0,09	24,24±0,05	82,78±0,14	37,11±0,03	35,03±0,01
Μοσχοφίλερο	103,50±0,15	81,97±0,03	52,02±0,06	116,38±0,12	122,35±0,04	26,82±0,05
Αγιωργίτικο	106,42±0,02	107,82±0,02	102,06±0,01	127,99±0,02	172,68±0,01	109,74±0,03

Σύμφωνα με την παράγραφο 5.1.3.3, τα εκχυλίσματα που προέρχονται από τις εκχυλίσεις με μικροκύματα και υπερήχους με χρήση νερού :αιθανόλης ως διαλύτη

παρουσίασαν το βέλτιστο φαινολικό φορτίο και για τις τρεις ποικιλίες τόσο σε ξηρά όσο και σε φρέσκα δείγματα. Με βάση την παράγραφο 5.1.3.3 και τον πίνακα 17 παρατηρούνται τα εξής:

- Το νερό: αιθανόλη είναι καταλληλότερος διαλύτης από το νερό για την παραλαβή εκχυλισμάτων με υψηλό φαινολικό φορτίο.
- Όπως παρατηρήθηκε και για την αντιοξειδωτική ικανότητα, τα ξηρά δείγματα στην περίπτωση των ποικιλιών Ροδίτη και Μοσχοφίλερου παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερο φαινολικό φορτίο από τα φρέσκα. Με βάση αυτά συμπεραίνεται ότι η ξήρανση ενισχύει την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων. Όσον αφορά το Αγιωργίτικο, τόσο τα ξηρά όσο και τα φρέσκα δείγματα παρουσίασαν εξίσου υψηλό φαινολικό φορτίο.
- Όσον αφορά το Ροδίτη, το εκχύλισμα με το μέγιστο φαινολικό φορτίο προέκυψε από την εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού :αιθανόλης ως διαλύτη σε συνδυασμό με ξήρανση σε ρεύμα αέρα. Για το Μοσχοφίλερο, μέγιστο φαινολικό φορτίο παρουσίασε το εκχύλισμα που προέκυψε από την εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού :αιθανόλης ως διαλύτη σε συνδυασμό με την επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση. Τέλος, για το Αγιωργίτικο, το εκχύλισμα που προήλθε από την εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού :αιθανόλης ως διαλύτη σε συνδυασμό με την επιταχυνόμενη ηλιακή ξήρανση παρουσίασε μέγιστο φαινολικό φορτίο με σημαντική διαφορά από το φαινολικό φορτίο των άλλων εκχυλισμάτων.
- Η αντιοξειδωτική ικανότητα των βέλτιστων εκχυλισμάτων παρουσιάζει συσχέτιση με το φαινολικό φορτίο. Ωστόσο σε ορισμένα από τα εκχυλίσματα, με εξαίρεση την ποικιλία Ροδίτη, παρατηρείται μερική συσχέτιση. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η αντιοξειδωτική δράση που παρατηρείται στα εκχυλίσματα μπορεί να μην οφείλεται αποκλειστικά στις φαινολικές ενώσεις αλλά θα μπορούσε ενδεχομένως να οφείλεται στην παρουσία ορισμένων άλλων ενώσεων, οι οποίες συμβάλλουν επίσης στην αντιοξειδωτική ικανότητα (για παράδειγμα οι τανίνες οι οποίες βρίσκονται στις κόκκινες ποικιλίες σταφυλιών αλλά δεν υπολογίζονται στο φαινολικό φορτίο).
- Το Μοσχοφίλερο και Αγιωργίτικο, τα οποία είναι κόκκινες ποικιλίες σταφυλιών, παρουσίασαν υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα και φαινολικό φορτίο από το Ροδίτη ο οποίος αποτελεί λευκή ποικιλία.
- Τέλος, το υψηλότερο φαινολικό φορτίο και στις τρεις ποικιλίες παρουσίασαν τα εκχυλίσματα των ξηρών δειγμάτων που προέκυψαν από την εκχύλιση με υπερήχους με χρήση νερού: αιθανόλης (1:1) ως διαλύτη. Η χρήση υπερήχων είναι γνωστή για τη δημιουργία ελευθέρων ριζών οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν σε αντιδράσεις πολυμερισμού σε σύντομους χρόνους καθώς και για την θραύση των κυτταρικών τοιχωμάτων. Αυτές οι αντιδράσεις πολυμερισμού μπορεί να οδηγήσουν σε αυξημένο φαινολικό περιεχόμενο των εκχυλισμάτων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. ΕΠΙΛΟΓΟΣ

7.1 Μελλοντικές προοπτικές

Η παρούσα εργασία αποτελεί μια πρώτη προσέγγιση για την αξιοποίηση παραπροϊόντων οινοποιείου από ελληνικές ποικιλίες σταφυλιών. Ωστόσο, η μελέτη αυτή αποτελεί τη βάση για μια νέα και βαθύτερη έρευνα και συγκεκριμένα μελλοντικοί στόχοι αποτελούν:

- ✓ Ο προσδιορισμός άλλων ωφέλιμων αντιοξειδωτικών ενώσεων εκτός από τις φαιολικές ενώσεις όπως είναι τα φλαβονοειδή.
- ✓ Η χρήση της μεθόδου HPLC για την ανάλυση των βέλτιστων εκχυλισμάτων ως προς την αντιοξειδωτική ικανότητα και το φαιολικό φορτίο και για τις τρεις ποικιλίες παραπροϊόντων.
- ✓ Η εφαρμογή άλλων καινοτόμων μεθόδων εκχύλισης όπως η υπερκρίσιμη εκχύλιση και η εκχύλιση υπό υψηλή πίεση με σκοπό την εύρεση της βέλτιστης μεθόδου εκχύλισης ως προς την απόδοση και την ανάκτηση ωφέλιμων ενώσεων.
- ✓ Η ενσωμάτωση των βέλτιστων εκχυλισμάτων σε προϊόντα με στόχο την επέκταση της διατηρησιμότητάς τους και την μελέτη επίδρασης στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.
- ✓ Τέλος, σκόπιμη θα ήταν η ανάλυση κύκλου ζωής με σκοπό την αποτίμηση της περιβαλλοντικής επίδρασης των παραπροϊόντων καθ' όλη την διάρκεια της ύπαρξής τους από το σημείο της ανάκτησης τους μέχρι της τελικής τους διάθεσης είτε μέσω ανακύκλωσης ή καύσης ή απόρριψης ή παρασκευής λιπάσματος.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available online: <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/E> (accessed on 2 March 2014)
2. Poudel, P.R., Tamura, H., Kataoka, I., Mochioka, R., 2008. Phenolic compounds and antioxidant activities of skins and seeds of five wild grapes and two hybrids native to Japan. *J. Food Comp. Anal.* 21, 622–625.
3. Musee, N., Lorenzen, L., Aldrich, C., 2007. Cellar waste minimization in the wine industry: A systems approach. *J. Clean. Prod.* 15, 417–431.
4. Katalinć, V., Možina, S.S., Skroza, D., Generalić, I., Abramović, H., Miloš, M., Ljubenković, I., Piskernik, S., Terpinč, P., Boban, M., 2010. Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *Food Chem.* 119, 715–723
5. Rockenbach, I.I., Gonzaga, L.V., Rizelio, V.M., Gonçalves, A. E. S. S., Genovese, M. I., Fett, R. 2011. Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) pomace from Brazilian winemaking. *Food Research International*, 44, 897-901.
6. Rondeau, P., Gambier, F., Jolibert, F., Brosse, N., 2013. Compositions and chemical variability of grape pomaces from French vineyard. *Ind. Crops Prod.* 43, 251–254.
7. Brito, A.G., Peixoto, J., Oliveria, J.M., Oliveria, J.A., Costa, C., Nogueira, R., Rodrigues, A., 2007. Brewery and winery wastewater treatment: Some focal points of design and operation. In *Utilization of By-Products and Treatment of Waste in the Food Industry*. Oreopoulou, V., Russ, W., Eds.; Springer Science + Business Media LLC.: New York, NY, USA, pp. 109–131.
8. Saura-Calixto, F., 1998. Antioxidant dietary fiber product: A new concept and a potential food ingredient. *J. Agric. Food Chem.* 46, 4303–4306.
9. Jin, B., Kelly, J., 2009. “Chapter 15: Wine Industry Residues” in *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilization, Part III*, Poonam Singh nee’ Nigam and Ashok Pandey (Eds), Springer Science and Business Media, 293-312.
10. Diaz, A.B., Bolivar, J., de Orly, I., Caro, I., Blandino, A., 2011. Applicability of enzymatic extracts obtained by solid state fermentation on grape pomace and orange peels mixtures in must clarification. *LWT-Food Sci Technol* 44(4): 840-846.
11. Botella, C., de Ory, I., Webb, C., Cantero, D., Blandino, A., 2005. Hydrolytic enzyme production by *Aspergillus awamori* on grape pomace.
12. Schieber, A., Stintzing, F.C., Carle, R., 2001. By-products of plant food processing as a source of functional compounds — recent developments. *Trends Food Sci. Technol.* 12, 401-413.
13. Boussetta, N., Lanoisellé, J.L., Bedel-Cloutour, C., Vorobiev, E., 2009. Extraction of soluble matter from grape pomace by high voltage electrical discharges for

- polyphenol recovery: Effect of sulphur dioxide and thermal treatments. *J. Food Eng.* 95, 192–198.
14. Rockenbach, I.I., Rodrigues, E., Gonzaga, L.V., Caliari, V., Genovese, M.I., Gonçalves, A.E.S.S., Fett, R. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. *Food Chem.* 2011, 127, 174–179.
 15. Li, H.B., Jiang, Y., Wong, C.C., Cheng, K.W., Chen, F., 2007. Evaluation of two methods for the extraction of antioxidants from medicinal plants. *Anal. Bioanal. Chem.* 388(2), 483-488.
 16. Shi, J., Yu, J., Pohorly, J.E., Kakuda, Y., 2003. Polyphenolics in grape seeds- Biochemistry and Functionality. *Journal of Medicinal Food*, 6(4), 291-299.
 17. Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D., Tauscher, B., 2008. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 9, 85–91.
 18. González-Centeno, M.R., Jourdes, M., Fermentia, A., Simal, S., Rosselló, C., Teissedre, P.L., 2012. Proanthocyanidin composition and antioxidant potential of the stem winemaking byproducts from 10 different grape varieties (*Vitis vinifera* L.). *J. Agric. Food Chem.* 60, 11850–11858.
 19. Yilmaz, E.E., Ozvural, E.B., Vural, H., 2011. Extraction and identification of proanthocyanidins from grape seed (*Vitis vinifera*) using supercritical carbon dioxide. *J. Supercrit. Fluids.* 55, 924–928.
 20. Cheynier, V., 2005 Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am. J. Clin. Nutr.* 81, 223S–229S.
 21. Proestos, C., Bakogiannis, A., Psarianos, C., Koutinas, A.A., Kanellaki, M., Komaitis, M., 2005. High performance liquid chromatography analyses of phenolic substances in Greek. *Food Control.* 16, 319–323.
 22. <http://www.wineandgrapes.gr/page.php?item=grapes/roditis.php>
 23. <http://www.wineandgrapes.gr/page.php?item=grapes/mosxofilero.php>
 24. <http://www.wineandgrapes.gr/page.php?item=grapes/agiorgitiko.php>
 25. Arun S. Mujumdar, Industrial transfer processes, Department of Mechanical Engineering National University of Singapore
 26. Ζουμπούλης, Α., Καραπάντσιος, Θ., Μάτης, Μ., Μαύρος, Π., Στοιχεία φυσικών διεργασιών, Εκδόσεις Τζιόλα, 2009
 27. Gunhan, T., Demir, V., Hancioglu, E. Hepbasli, A. 2005. Mathematical modelling of drying of bay leaves. 46, 1667-1679.
 28. Hawlader, M.N.A., Chou, S.K., Chua, K.J., 1997. Development of design charts for tunnel dryers. *Int. J. Energy Res.* 21, 1023-1037.
 29. Strumillo, C., Kudra, T., 1986. *Drying: principles, applications and design*, Gordon and Breach, New York, USA.
 30. Togrul, I.T., Pehlivan, D., 2004. Modelling of thin layer drying kinetics of some fruits under open-air sun drying process. *J. Food Eng.* 65, 413-425.
 31. Midilli, A., Kucuk, H. and Yapar, Z. 2002. A new model for single-layer drying. *Drying Technol.* 20, 1503-1513.

32. Panchariya, P.C., Popovic, D., Sharma, A.L., 2002. Thin-layer modelling of black tea drying process. *J. Food Eng.* 52, 349-357.
33. Pangavhane, D.R., Sawheny, R.L., Sarsavadia, P.N. 2002. Design, development and performance testing of a new natural convection solar dryer. *Energy.* 27:579–90.
34. Yaldiz, O., Erteken, C., Uzun, H.I., 2001. Mathematical modeling of thin layer solar drying of sultana grapes. *Energy.* 26, 457–65.
35. Furlan, G., Mancini, N.A., Sayigh, A.A.M., 1983. Non-conventional energy sources. Miramare-Triest, Italy
36. Ekechukwu, O.V., 1987 Experimental studies of integral-type natural-circulation solar-energy tropical crop dryers. Ph.D. thesis. Cranfield Institute of Technology, United Kingdom.
37. McLean, K.A., 1980. Drying and storage of combinable crops. Suffolk Farm Press.
38. Arinze, E.A., Schoenau, G., Bigsby, F.W., 1979 Solar-energy absorption properties of some agricultural products. ASAE paper, no. 79-3071.
39. Ames, B. N., 1983. Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radicals and degenerative diseases. *Science* 221(4617), 1256-1263.
40. Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Manuel Dominguez, J., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M. J., Carlos Parajo, J., 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem* 72(2), 145-171.
41. Pinelo, M., Sineiro, J. and Núñez, M. J., 2006. Mass transfer during continuous solid-liquid extraction of antioxidants from grape byproducts. *J. Food Eng.* 77(1), 57-63.
42. Asami, D.K., Hong, Y.J., Barrett, D.M., Mitchell, A.E., 2003. Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. *J. Agric. Food Chem.* 51, 1237-1241.
43. Abascal, K., Ganora, L., Yarnell, E., 2005. The effect of freeze-drying and its implications for botanical medicine: a review. *Phytother. Res.* 19, 655-660.
44. Xu, B.J., Chang, S.K., 2007 A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *J. Food Sci.* 72, S159-166.
45. Luque de Castro, M. D., Garcia-Ayuso, L.E., 1998. Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future. *Anal. Chim. Acta*, 369, 1–10.
46. Metivier, R.P., Francis, F.J., Clydesdale, F.M., 1980. Solvent extraction of anthocyanins from wine pomace. *J. Food Sci.* 45, 1099-1100.
47. Luque-Garcia, J. L., Luque de Castro, M. D., 2004. Ultrasound-assisted Soxhlet extraction: An expeditive approach for solid sample treatment—Application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. *J. Chromatogr. A.* 1034, 237–242.
48. Mamidipally, P.K., Liu, S.X., 2004. First approach on rice bran oil extraction using limonene. *Eur. J. Int. Relat.* 106, 122–125.

49. Kaufmann, B., Christen, P., Veuthey, J.L., 2001a. Parameters affecting microwave-assisted extraction of withanolides. *Phytochem. Analysis.* 12, 327–331.
50. Kaufmann, B., Christen, P., 2002. Recent extraction techniques for natural products: Microwave-assisted extraction and pressurized solvent extraction. *Phytochem. Analysis.* 13, 105–113.
51. Ericsson, M., Colmsjo, A., 2000. Dynamic microwave-assisted extraction. *J. Chromatogr. A.* 877, 141–151.
52. Brachet, A., Christen, P., Veuthey, J.L., 2002. Focused microwave-assisted extraction of cocaine and benzoylecgonine from coca leaves. *Phytochem. Analysis.* 13, 162–169.
53. Spar Eskilsson, S., Bjorklund, E., 2000. Analytical-scale microwave-assisted extraction. *J. Chromatogr. A.* 902, 227–250.
54. Spar Eskilsson, S., Bjorklund, E., Mathiasson, L., Karlsson, L., Torstensson, A., 1999. Microwave-assisted extraction of felodipine tablets. *J. Chromatogr. A.* 840, 59–70.
55. Wang, L., Weller, C.L., 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends Food Sci. Tech.* 17, 300–312
56. Luque-Garcia, J.L., Luque de Castro, M.D., 2003. Ultrasound: a powerful tool for leaching. *Trend. Anal. Chem.* 22 (1), 41–47.
57. Mason, T.J., Paniwnyk, L., Lorimer, J.P., 1996. The uses of ultrasound in food technology. *Ultrason. Sonochem.* 3, 253–260.
58. Romdhane, M., Gourdon, C., 2002. Investigation in solid–liquid extraction: Influence of ultrasound. *Chem Eng J.* 87, 11–19.
59. De Beer, D., Joubert, E., Gelderblom, W.C.A., Mantley, M., 2002. Phenolic compounds: A review of their possible role as in vivo antioxidants of wine. *South African for Enology and Viticulture.* 23 (2), 48–61.
60. Young, I.S., Woodside, J.V., 2001. Antioxidants in health and disease. *J. Clin. Pathol.* 54, 176–186.
61. Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., Saura-Calixto, F., 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agr.* 76, 270–276.
62. German, J.B., Dillard, J.C. 1998. Phytochemicals and targets of chronic disease in: *Phytochemicals, A New Paradigm*, edited by Bidlack, W. R., Omaye, S. T., Meskin, M. S., Jahner, D. Technic publishing: Lancaster PA.
63. Bors, W., Heller, W., Michael, C., Stettmaier, K., 1996. Flavonoids and polyphenols: chemistry and biology’, in: *Handbook of Antioxidants*, Cadenas E and Packer L (eds), New York, Marcel Dekker, 409–466.
64. Pratt, D.E., Hudson, B.J. 1990. Natural antioxidants, not exploited commercially. In: *Food antioxidants*, Hudson, B.J.F. Ed, Elsevier, London, UK. pp. 171–192.
65. Madhavi, D.L., Salunkhe, D.K. 1995. Antioxidants in “Food additives toxicology”, Maga, J. A., Tu, A., Eds, Marcel Dekker, Inc., New York and Hong Kong. pp. 69–177.

66. Koleva, I.I., van Beek, T.A., Linssen, J. P. H., de Groot, A., Evstatieva, L.N., 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: A comparative study on three testing methods. *Phytochem. Analysis*. 13(1), 8–17.
67. Arnao, M.B., Cano, A., Alcolea, J.F., Acosta, M., 2001. Estimation of free radical quenching activity of leaf pigment extracts. *Phytochem. Analysis*. 12, 138-143.
68. Kochhar, S.P., Russell, J. B. 1990. Detection, estimation and evaluation of antioxidants in food systems in: 'Food antioxidants', Hudson Ed. Elsevier Applied Science, London and New York. pp.16-64.
69. Eriksson, C.E., Na, A., 1995. Antioxidant agents in raw materials and processed foods. *Biochemical Society Symposia*. 61, 221-234.
70. Chen, X., Ahn, D.U., 1998. Antioxidant activities of six natural phenolics against lipid oxidation induced by Fe²⁺ or ultraviolet light. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75, 1717–1721.
71. Donnelly, J.K., Robinson, D.S., 1991. Superoxide dismutase in: 'Oxidative enzymes in foods'. Robinson and Eskin. ED. Elsevier Applied Science, London and New York. pp. 49-91.
72. Reische, D.W., Lillard, D.A., Eitenmiller, R.R. 1999. Antioxidants. In C.Akoh & D. Min (Eds.), *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology* (pp. 409-434). UK: CRC Press.
73. Burton, G. W. & Ingold, K. U. (1981). Autoxidation of biological molecules. 1. Antioxidant activity of vitamin E and related chain-breaking phenolic antioxidants in vitro. *J. Am. Chem. Soc.*, 103, 6472-6477.
74. Andlauer, W., Stumpf, C., Furst, P., 2000. Influence of the acetification process on phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 3533-3536.
75. Halliwell, B., Aeschbach, R., Loliger, J., Aruoma, O.I. 1995a. The Characterization of Antioxidants. *Food Chem. Toxicol.*, 33, 601-617.
76. Figueroa-Espinoza, M.C. Villeneuve, P., 2005. Phenolic acids enzymatic lipophilization. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 2779-2787.
77. Decker, E.A. 1998. Strategies for manipulating the prooxidative/antioxidative balance of foods to maximize oxidative stability. *Trends Food Sci. Technol.*, 9, 241-248.
78. Rajalakshmi, D., Narasimhan, S., 1996. Food antioxidants: Sources and methods of evaluation. In Madhavi DL, Deshpande SS, & Salunkhe DK (Eds.), *Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perspectives* (pp. 65). New York: Marcel Dekker.
79. Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.* 53, 4290-4302.
80. Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1841-1856.
81. Μπάμπουλη Αρίανα, Επίδραση μεθόδων εκχύλισης στην αντιοξειδωτική δράση εκχυλισμάτων φύλλων Μαστίχας από τη Χίο, Διπλωματική εργασία, Αθήνα 2014.
82. Bios, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.

83. Sharma, O.P., Bhat, T.K., 2009. DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chem.* 113, 1202-1205.
84. Folin, O., Denis, W., 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as colour reagents. *J. Biol. Chem.* 12, 239-243.
85. Folin, O., Denis, W., 1927. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *J. Biol. Chem.* 73, 627-650.
86. Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144-158.
87. Scalbert, A., Williamson, G., 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.* 130, 2073S-2085S.
88. Ωραιπούλου, Β., Ταούκης, Π., *Επιστήμη και Μηχανική Διεργασιών Τροφίμων, Σημειώσεις από τις παραδόσεις, Αθήνα 2009, Κεφ.9: Εκδόσεις ΕΜΠ 2009.*
89. Gíglér, J.K., van Loon, W.K., van den Berg, J.V., Sonneveld, C. and Meerdink, G. (2000) Natural Wind Drying of Willow Stems. *Biomass and Bioenergy*, 19, 153-163.
90. Ramos, I.N., Silva, C.L.M, Sereno, A.M., Aguilera, J.M., 2002. Kinetic study on microstructural changes during convective air drying of grapes. In: *Proceedings of the 13th International Drying Symposium (IDS 2002)*. Beijing, China, 27–30 August.
91. Eskilsson, C.S., Björklund, E., 2000. Analytical-scale microwave-assisted extraction. *J. Chromatogr. A.* 902, 227–250.
92. Aguilera, M., Stanley, D.W., 1999. *Microstructural principles of food processing and engineering*, (2nd ed.), Aspen Publishers, Gaithersburg, MD.
93. Bampouli, A., Kyriakopoulou, K., Papaefstathiou, G., Louli, V., Krokida, M., Magoulas, K., 2014. Comparison of different extraction methods of *Pistacia lentiscus* var. chia leaves: Yield, antioxidant activity and essential oil chemical composition. *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants.* 1(3), 81–91.
94. Mandal, V., Mohan, Y., Hemalatha S., 2007. Microwave Assisted Extraction – An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research. *Pharmacognosy Reviews.* 1(1), 7-18.
95. Shua, Y.Y., Ko ,M.Y., Chang, Y.S., 2003. Microwave-assisted extraction of ginsenosides from ginseng root. *Microchem. J.* 74, 131-139.
96. Spar Eskilsson, S., Bjorklund, E., 2000. Analytical-scale microwave-assisted extraction. *J. Chromatography A.* 902, 227–250.
97. Kaufmann, B., Christen, P., Veuthey, J.L., 2001a. Parameters affecting microwave-assisted extraction of withanolides. *Phytochem. Analysis.* 12, 327–331.
98. Garcia-Perez, J.V., Garcia-Alvarado, M.A., Carcel, J.A., y Mulet, A., 2010. Extraction kinetics modeling of antioxidants from grape stalk (*Vitis vinifera* var. Bobal): Influence of drying conditions. *J Food Eng.* 101(1), 49-58.
99. Vinatoru, M., Toma, M., Mason, T., 1999. Ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from plants and their constituents. *J. Adv. Sonochem.* 5, 209-249.

100. Vinatoru, M., 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrason. Sonochem.* 8, 303-313.
101. Spigno, G., Faveri, D.M., 2009. Microwave-assisted extraction of tea phenols: a phenomenological study. *J. Food Eng.* 93, 210-217.
102. Chan, C.H., Yusoff, R., Ngoh, G.C., Kung, F.W., 2011. Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants. *J. Chromatogr. A.* 1218, 6213–6225.
103. Antolovich, M., Prenzler, P., Patsalides, E., McDonald, S., Robards, K., 2002. Methods for testing antioxidant activity. *Roy. Soc. Chem.* 127, 183–198.
104. Haswell, S.J., Kingston, H.M., 1997. *Microwaved-enhanced chemistry: fundamentals, sample preparation and application.* Am. Chem. S. Washington, DC.
105. Yilmaz, Y., Toledo, R., 2005. Oxygen radical absorbance capacities of grape wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. *J. Food Compos Anal.* 19, 41–48.
106. Hung Lee, C., Yang, L., Ze Xu, J., Ying, S., Yeung, V., Huang, Y., Chen, Z.Y., 2005. Relative antioxidant activity of soybean isoflavones and their glycosides. *Food Chem.* 90(4), 735-741.
107. Nićiforović, N., Mihailović, V., Mašković, P., Solujić, S., Stojković, A., Pavlović Muratspahić, D., 2010. Antioxidant activity of selected plant species; potential new sources of natural antioxidants. *Food Chem. Toxicol.* 48 (11), 3125-3130.