



**ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΙV: ΣΥΝΘΕΣΗΣ & ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ
ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ**



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΑΠΟ ΑΡΩΜΑΤΙΚΑ
ΦΥΤΑ ΣΕ ΕΛΑΙΑ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

ΜΠΡΑΒΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

ΩΡΑΙΟΠΟΥΛΟΥ ΒΑΣΙΛΙΚΗ

ΑΘΗΝΑ, 2015

Στην οικογένειά μου,

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του τμήματος Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Η επίβλεψη του θέματος έγινε από την καθηγήτρια κα. Β. Ωραιοπούλου, ενώ στην τριμελή εξεταστική επιτροπή συμμετείχαν επίσης και οι καθηγητές κα. Κ. Τζιά και κ. Π. Ταούκης.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτριά μου κα. Β. Ωραιοπούλου για την ανάθεση του θέματος, καθώς και για τις πολύτιμες συμβουλές της και τη συστηματική καθοδήγησή της σε όλα τα στάδια της διπλωματική εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον διδάκτορα κ. Δ. Τσιμογιάννη, καθώς και τους υποψήφιους διδάκτορες Ε. Χουλιτούδη και Α. Μπιμπίλα για το αμέριστο ενδιαφέρον τους και την εξαιρετική συνεργασία μας. Η συμβολή τους ήταν ιδιαίτερος σημαντική στην περάτωση της διπλωματικής εργασίας.

Δε θα μπορούσα να παραλείψω να ευχαριστήσω όλο το προσωπικό του Εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας για τη διάθεσή του να μου προσφέρει τη βοήθειά του όσες φορές την χρειάστηκα.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς την οικογένειά μου για τη συμπαράσταση που μου έχει δείξει όλα τα χρόνια της ακαδημαϊκής πορείας μου και για το ενδιαφέρον της, το οποίο με βοήθησε να υλοποιήσω το στόχο μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε η παρεμπόδιση της οξειδωσης ελαίων με τον εμπλουτισμό αυτών με εκχυλίσματα διαφόρων αρωματικών φυτών της οικογένειας *Lamiaceae*, που απαντώνται ευρέως στην Ελλάδα. Θυμάρι, θρούμπι και δύο χημειότυποι της ρίγανης, ένας πλούσιος σε καρβακρόλη και ένας μικτός που περιείχε υψηλά ποσοστά τόσο καρβακρόλης όσο και θυμόλης αποτέλεσαν τις πηγές των φυσικών αντιοξειδωτικών. Τα φυτικά έλαια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αραβοσιτέλαιο και φοινικέλαιο. Επιπλέον, εξετάστηκε η αποτελεσματικότητα των αντιοξειδωτικών κλασμάτων από θρούμπι κατά την ενσωμάτωσή τους σε τρόφιμα και συγκεκριμένα σε chips πατάτας με τη χρήση κυρίως ενεργού συσκευασίας και σε ιχθύες μέσω της εφαρμογής των εδώδιμων επικαλυπτικών μεμβρανών.

Αρχικά, παρασκευάστηκαν τα εκχυλίσματα που επρόκειτο να χρησιμοποιηθούν μέσω εκχύλισης των αποξηραμένων φυτών. Πραγματοποιήθηκαν δύο διαδοχικές εκχυλίσεις πρώτα με οξικό αιθυλεστέρα και έπειτα με αιθανόλη για την παραλαβή των άπολων και πιο πολικών φαινολικών συστατικών, αντίστοιχα. Για να μελετηθεί και η παραλαβή όλων των συστατικών μαζί έλαβε χώρα μία εκχύλιση με αιθανόλη. Τα αντιοξειδωτικά κλάσματα συγκρίθηκαν ως προς την περιεκτικότητά τους σε στερεά συστατικά, ολικές φαινόλες και τις κύριες επιμέρους φαινολικές ουσίες τους.

Ακολούθησε ενσωμάτωση των εκχυλισμάτων σε έλαια σε επίπεδο προσθήκης 500 ppm ξηρού βάρους τους και παρακολογήθηκε η ανάπτυξη του αριθμού υπεροξειδίων, συζυγών διενίων και τριενίων των εμπλουτισμένων και των καθαρών ελαίων κατά τη δοκιμή οξειδωσής τους στους 70 °C. Στο αραβοσιτέλαιο προστέθηκαν όλα τα εκχυλίσματα του μικτού χημειότυπου της ρίγανης (οξικού αιθυλεστέρα, αιθανολικό και ολικό αιθανολικό εκχύλισμα) με σκοπό να συγκριθούν μεταξύ τους, καθώς και εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα από θυμάρι και από ρίγανη πλούσια σε καρβακρόλη. Επιπλέον, ακετονικό εκχύλισμα δεντρολίβανου χρησιμοποιήθηκε για σύγκριση. Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν, φάνηκε πως η οξειδωση των λιπαρών σωμάτων ακολουθεί μία αρχική περίοδο χαμηλού ρυθμού οξειδωσης (περίοδος επώασης) και έπειτα μία περίοδο επιταχυνόμενης οξειδωσης. Τα αιθανολικά εκχυλίσματα αποδείχθηκαν μη αποδοτικά για τρόφιμα πλούσια σε λιπαρά συστατικά, λόγω της δύσκολης διάλυσης των πολικών ουσιών τους σε αυτά. Ωστόσο, και τα εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα δε φάνηκαν ιδιαίτερα αποτελεσματικά, γεγονός που αποδόθηκε στη φύση του αραβοσιτελαίου, καθώς πρόκειται για ένα έλαιο με υψηλά ποσοστά φυσικών αντιοξειδωτικών, όπως τοκοφερόλες. Για την εξέταση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων οξικού αιθυλεστέρα των φυτών χρησιμοποιήθηκε μία άλλη λιπαρή ύλη, το φοινικέλαιο. Σε αυτό ελέγχθηκε και η δράση εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα από θρούμπι. Παρατηρήθηκε πως όλα τα εκχυλίσματα επιμήκυναν την περίοδο επώασης και μείωσαν το ρυθμό αύξησης των υπεροξειδίων κατά την περίοδο της επιταχυνόμενης οξειδωσης του ελαίου. Τα κλάσματα από το θρούμπι και από το μικτό χημειότυπο της ρίγανης παρεμπόδισαν σε μεγαλύτερο βαθμό την επιταχυνόμενη οξειδωση του φοινικέλαου και συγκεκριμένα

κατά περίπου 42%, ενώ τα υπόλοιπα εκχυλίσματα παρείχαν προστασία μεγαλύτερη ή ίση του 30%.

Καθώς το θρούμπι αποδείχθηκε ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό, ερευνήθηκε η ικανότητά του να περιορίσει τον ταγγισμό chips πατάτας που συσκευάστηκαν και αποθηκεύτηκαν στους 70 °C. Δοκιμάστηκαν τρεις διαφορετικοί τρόποι προσθήκης: α) το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα από θρούμπι προστέθηκε στο μέσο τηγάνισματος (φοινικέλαιο) των chips σε ποσότητα 500 ppm, β) τόσο εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα όσο και αιθανολικό εκχύλισμα από θρούμπι ενσωματώθηκαν στην επιφάνεια των chips με ψεκασμό σε επίπεδο προσθήκης 500 ppm επί λιπαρής βάσης, και γ) τα παραπάνω εκχυλίσματα ενσωματώθηκαν στο υλικό συσκευασίας των προϊόντων πραγματοποιώντας επίστρωση 1.5 g ξηρού εκχυλίσματος/m². Οι παράμετροι που μελετήθηκαν για την εκτίμηση της αλλοίωσης των chips ήταν ο αριθμός υπεροξειδίων και συζυγών διενίων του ελαίου που εκχυλίστηκε από τα chips, για να καταγραφεί η πορεία αύξησης των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης, αλλά και οι τιμές της π-ανισιδίνης για να διεξαχθούν συμπεράσματα για τη συσσώρευση των δευτερογενών προϊόντων. Επιπλέον, παρακολούθηθηκε η περιεκτικότητα του οξυγόνου του υπερκείμενου χώρου της κάθε συσκευασίας. Διαπιστώθηκε πως η χρήση της ενεργού συσκευασίας ήταν ιδιαίτερα αποδοτική έναντι του ταγγισμού των chips, με το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα να παρέχει προστασία κατά 78% και να διαφοροποιείται στατιστικά σημαντικά από το αιθανολικό, το οποίο παρεμπόδισε την επιταχυνόμενη οξείδωση του τροφίμου σε βαθμό 44%. Η ενσωμάτωση των εκχυλισμάτων στην επιφάνεια των chips αποδείχθηκε λιγότερο αποτελεσματική, αφού κατάφερε να επιδράσει μόνο στο χρόνο επώασης, ενώ η χρήση εμπλουτισμένου ελαίου για το τηγάνισμα των chips επιμήκυνε το χρόνο επώασης και μείωσε το ρυθμό ανάπτυξης πρωτογενών προϊόντων κατά περίπου 24%. Καμία διεργασία δε συνετέλεσε στην παρεμπόδιση της αύξησης των δευτερογενών προϊόντων.

Όσον αφορά στην προστασία των ιχθύων από την οξείδωση χρησιμοποιήθηκαν εδώδιμες μεμβράνες CMC εμπλουτισμένες με αντιοξειδωτικά για την επικάλυψή τους και η οξειδωτική σταθερότητα ελέγχθηκε κατά τη διατήρηση στους 0 °C. Εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα και αιθανόλης από θρούμπι ενσωματώθηκαν σε επίπεδο προσθήκης 500 ppm ως προς τις ολικές φαινόλες τους, ενώ χρησιμοποιήθηκε και το αιθέριο έλαιο του φυτού σε περιεκτικότητά 2% v/v. Επίσης, πραγματοποιήθηκε συνδυαστική χρήση του αιθέριου ελαίου με το κάθε εκχύλισμα. Η πορεία οξείδωσης των ιχθύων παρακολούθηθηκε με τον προσδιορισμό του αριθμού υπεροξειδίων και της π-ανισιδίνης. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η απλή μεμβράνη CMC προστάτευσε το προϊόν, ενώ η ικανότητα προστασίας δε βελτιώθηκε με προσθήκη εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα ή με το συνδυασμό του εκχυλίσματος με το αιθέριο έλαιο. Αντίθετα, η προσθήκη του αιθανολικού εκχυλίσματος, του αιθέριου ελαίου και ο συνδυασμός τους μείωσε την ανάπτυξη υπεροξειδίων των ιχθύων με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα υπόλοιπα, αλλά όχι με σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Τέλος, η ανάπτυξη των δευτερογενών προϊόντων ήταν ελάχιστη κατά τις πρώτες ημέρες αποθήκευσης, ενώ προς τις τελευταίες

δειγματοληψίες φάνηκε πως όλες οι μεμβράνες παρείχαν χαμηλότερες τιμές π-ανισδίνης.

Περιεχόμενα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
1. ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΤΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ	12
1.1 Λιπίδια και λιπαρά οξέα.....	12
1.2 Οξείδωση λιπιδίων	13
1.3 Προϊόντα οξείδωσης λιπιδίων	15
1.4 Μέθοδοι προσδιορισμού οξείδωσης λιπιδίων.....	20
1.5 Οξειδωτική σταθερότητα ελαίων με βάση τη σύστασή τους σε λιπαρά οξέα..	23
2. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	27
2.1 Κατηγορίες αντιοξειδωτικών	27
2.1.1 Πρωτογενή αντιοξειδωτικά (primary or chain-breaking).....	27
2.1.2 Δευτερογενή αντιοξειδωτικά (secondary or preventive).....	28
2.1.3 Συνθετικά αντιοξειδωτικά	29
2.1.4 Φυσικά αντιοξειδωτικά.....	31
2.2 Αρωματικά φυτά ως πηγές αντιοξειδωτικών	35
2.2.1 Ρίγανη (<i>Origanum vulgare</i>).....	36
2.2.2 Θυμάρι (<i>Thymus capitatus</i>).....	38
2.2.3 Θρούμπι (<i>Satureja thymbra</i>)	40
3. ΕΝΕΡΓΟΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	42
3.1 Ορισμός ενεργού συσκευασίας	42
3.2 Κατηγορίες ενεργού συσκευασίας	42
3.2.1 Δέσμευση οξυγόνου (Oxygen scavengers).....	43
3.2.2 Παγίδευση ή απελευθέρωση διοξειδίου του άνθρακα (Carbon dioxide scavengers and emitters)	44
3.2.3 Δέσμευση αιθυλενίου (Ethylene scavengers).....	45
3.2.4 Απορρόφηση υγρασίας (Moisture absorbers)	46
3.2.5 Αντιοξειδωτική συσκευασία (Antioxidant packaging)	46
3.2.6 Αντιμικροβιακή συσκευασία (Antimicrobial packaging)	48
3.2.7 Απελευθέρωση ή απορρόφηση γεύσεων και οσμών (Release or absorption of flavours and odours)	49
3.3 Μελλοντικές τάσεις και ζητήματα ασφαλείας για την ενεργό συσκευασία	50
3.4 Εφαρμογές ενεργών συσκευασιών που περιέχουν φυσικά αντιοξειδωτικά σε τρόφιμα.....	51

3.4.1.	Εφαρμογή αντιοξειδωτικής συσκευασίας σε σνακς.....	51
3.4.2.	Εφαρμογή αντιοξειδωτικής συσκευασίας σε ιχθύες	52
3.4.3.	Εφαρμογή αντιοξειδωτικής συσκευασίας σε προϊόντα κρέατος.....	53
3.4.4.	Εφαρμογή αντιοξειδωτικής συσκευασίας σε φρούτα.....	54
4.	ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ-ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΑ.....	55
4.1	Εισαγωγή.....	55
4.2	Χρήση εδώδιμων μεμβρανών.....	56
4.3	Συστατικά εδώδιμων μεμβρανών.....	57
4.3.1.	Εδώδιμες μεμβράνες από πρωτεΐνες.....	58
4.3.1.1.	Καζεΐνη	58
4.3.1.2.	Ζελατίνη.....	59
4.3.1.3.	Ζεΐνη καλαμποκιού	59
4.3.1.4.	Γλουτένη σιταριού	60
4.3.1.5.	Πρωτεΐνη σόγιας.....	60
4.3.2.	Εδώδιμες μεμβράνες από πολυσακχαρίτες.....	60
4.3.2.1.	Κυτταρίνη και παράγωγά της	61
4.3.2.2.	Χιτίνη-Χιτοζάνη	62
4.3.2.3.	Καραγεννάνη	62
4.3.2.4.	Άμυλο.....	63
4.3.3.	Εδώδιμες μεμβράνες από λιπίδια	63
4.3.3.1.	Κηροί	64
4.3.3.2.	Γλυκερίδια	64
4.3.4.	Σύνθετες επιστρώσεις.....	64
4.4	Ενσωμάτωση αντιοξειδωτικών κλασμάτων από αρωματικά φυτά σε εδώδιμες μεμβράνες	65
4.5	Εφαρμογή εδώδιμων μεμβρανών με φυσικά αντιοξειδωτικά σε τρόφιμα	67
4.5.1.	Επικάλυψη ιχθύων με αντιοξειδωτικές εδώδιμες μεμβράνες.....	68
4.5.2.	Επικάλυψη σνακς με αντιοξειδωτικές εδώδιμες μεμβράνες	70
4.5.3.	Εφαρμογή αντιοξειδωτικών εδώδιμων μεμβρανών σε προϊόντα κρέατος, φρούτα και λαχανικά.....	70
5.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	73
5.1.	Σχεδιασμός πειραμάτων	73
5.2.	Πρώτες Ύλες – Αντιδραστήρια.....	75
5.3.	Συσκευές	75

5.4.	Πειραματικές Τεχνικές.....	76
5.4.1.	Εκχύλιση αρωματικών φυτών	76
5.4.2.	Προσδιορισμός στερεού υπολείμματος.....	77
5.4.3.	Ενσωμάτωση εκχυλισμάτων σε έλαια	77
5.4.4.	Δοκιμές εκχυλισμάτων για την προστασία chips πατάτας από την οξείδωση.....	78
5.4.4.1.	Επεξεργασία πατάτας.....	78
5.4.4.2.	Τηγάνισμα.....	78
5.4.4.3.	Ενσωμάτωση εκχυλισμάτων στην επιφάνεια των chips.....	79
5.4.4.4.	Επίστρωση εκχυλισμάτων σε υλικό συσκευασίας (ενεργός συσκευασία)	79
5.4.4.5.	Κλείσιμο συσκευασίας - Αποθήκευση	79
5.4.5.	Δοκιμές κλασμάτων αρωματικού φυτού σε εδώδιμες μεμβράνες για την προστασία ιχθύων από την οξείδωση.....	80
5.4.5.1.	Παρασκευή επικαλυπτικών διαλυμάτων	80
5.4.5.2.	Ενσωμάτωση αντιοξειδωτικών κλασμάτων στα επικαλυπτικά διαλύματα.....	80
5.4.5.3.	Επικάλυψη – αποθήκευση ιχθύων	82
5.4.6.	Αναλυτικές μέθοδοι.....	82
5.4.6.1.	Προσδιορισμός σύστασης αέρα της συσκευασίας των chips πατάτας ..	82
5.4.6.2.	Διαδικασία ανάκτησης ελαίου από chips πατάτας	82
5.4.6.3.	Διαδικασία ανάκτησης ελαίου από τους ιχθύες.....	83
5.4.6.4.	Μέθοδος μέτρησης αριθμού υπεροξειδίων.....	83
5.4.6.5.	Μέθοδος μέτρησης αριθμού συζυγών διενίων- τριενίων	84
5.4.6.6.	Μέθοδος μέτρησης αριθμού π-ανισιδίνης	84
6.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	86
6.1.	Ανάλυση και απόδοση των αντιοξειδωτικών κλασμάτων των αρωματικών φυτών	86
6.2.	Αντιοξειδωτική δράση εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών κατά την προσθήκη τους σε φυτικά έλαια.....	92
6.2.1.	Επίδραση εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών στην οξείδωση αραβοσιτελαίου	92
6.3.	Μελέτη της δράσης των εκχυλισμάτων του αρωματικού φυτού <i>Satureja thymbra</i> στην οξείδωση chips πατάτας.....	103

6.4. Αντιοξειδωτική δράση κλασμάτων του αρωματικού φυτού <i>Satureja thymbra</i> κατά την ενσωμάτωσή τους σε εδώδιμες μεμβράνες για την επικάλυψη ιχθύων..	112
7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ.....	117
8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	120

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η εξασφάλιση της ποιότητας των λιπαρών υλών κατά τη διακίνηση και αποθήκευσή τους αποτελεί ένα μείζον θέμα που αφορά τόσο τους καταναλωτές όσο και τις εταιρείες τροφίμων. Η υποβάθμιση των τροφίμων με υψηλό περιεχόμενο σε λιπαρά οφείλεται κυρίως στην οξείδωσή τους. Η έννοια της οξείδωσης ή αλλιώς ταγγισμού χρησιμοποιείται για να περιγράψει την αντίδραση των λιπαρών οξέων με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο, που οδηγεί σε ανεπιθύμητες αλλαγές του τροφίμου. Η παρεμπόδιση, σε όσο το δυνατόν μεγαλύτερο βαθμό, του φαινομένου αυτού κρίνεται επιτακτική ανάγκη, καθώς έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση σοβαρών ασθενειών, όπως καρκινογενέσεις.

Εξέχουσα θέση στην προστασία των λιπών και ελαίων από την οξείδωση κατέχει η χρήση πρόσθετων ουσιών, που χαρακτηρίζονται ως αντιοξειδωτικά. Πολλά συνθετικά αντιοξειδωτικά, όπως το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT), η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA), η τεταρτοταγής βουτυλιωμένη υδροκινόνη (TBHQ) και οι εστέρες γαλλικού οξέος (π.χ. προπυλεστέρας του γαλλικού οξέος, PG) βρίσκουν εφαρμογή στην τεχνολογία τροφίμων. Πολλές μελέτες, ωστόσο, αποδεικνύουν την τοξικότητα ορισμένων από αυτών των ουσιών. Το γεγονός αυτό συνδυαστικά με τη μη εύκολη αποδοχή τους από τους καταναλωτές, θεωρώντας τα ως 'χημικά', οδήγησε τους ερευνητές στην αναζήτηση φυσικών πηγών αντιοξειδωτικών. Αρωματικά φυτά, σπόροι, ξηροί καρποί, φρούτα και λαχανικά χρησιμοποιούνταν από την αρχαιότητα, λόγω των ευεργετικών ιδιοτήτων τους. Έχει αποδειχθεί σήμερα πως η αντιοξειδωτική δράση τους οφείλεται στη σύστασή τους σε φαινολικές ενώσεις και κυρίως σε τοκοφερόλες, φλαβονοειδή και φαινολικά οξέα. Η ενσωμάτωση φυσικών αντιοξειδωτικών σε λιπαρά τρόφιμα, τα προφυλάσσει από φαινόμενα οξείδωσης, παρέχοντας παρόμοια ή ακόμα και υψηλότερη δράση από τα συνθετικά.

Εκτός από την άμεση προσθήκη των δραστικών ουσιών στα προϊόντα, έχουν πλέον αναπτυχθεί νέες τεχνολογίες. Η χρήση ενεργού συσκευασίας αποτελεί μία πολλά υποσχόμενη μέθοδο για την επιμήκυνση της διάρκειας ζωής του τροφίμου και της εξασφάλισης της ποιότητας και της θρεπτικής αξίας του. Επιτρέπει την ενσωμάτωση συστατικών στο υλικό συσκευασίας του προϊόντος, ώστε να απελευθερώσουν ή να απορροφήσουν ουσίες από το συσκευασμένο τρόφιμο ή το περιβάλλον του. Όλο και περισσότερες μελέτες έχουν αρχίσει να αναπτύσσονται για τον εμπλουτισμό του υλικού συσκευασίας με φυσικά αντιοξειδωτικά, κυρίως για τα ευπαθέστερα τρόφιμα, όπως προϊόντα κρέατος. Μία ακόμα καινοτόμα ιδέα αποτελεί η χρήση εδωδιμων μεμβρανών. Ο όρος της εδωδιμης μεμβράνης ή επικαλυπτικού χαρακτηρίζει κάθε είδος υλικού που μπορεί να επικαλύψει το τρόφιμο, με σκοπό να συντελέσει στη διατηρησιμότητά του, ενώ είναι επιτρεπτή και η κατανάλωσή του μαζί με το τρόφιμο. Πέρα των άλλων ιδιοτήτων της (π.χ. παρεμπόδιση της απώλειας υγρασίας, εξασφάλιση επιθυμητού γυαλίσματος) η εδωδιμη μεμβράνη επιτρέπει την ελεγχόμενη ανταλλαγή αερίων, όπως οξυγόνου, συντελώντας στην προφύλαξη του

τροφίμου από τον ταγγισμό. Ιδιαίτερα η ενσωμάτωση αντιοξειδωτικών στο επικαλυπτικό έχει χαρακτηριστεί ως πολύ αποτελεσματική για την αντιμετώπιση της οξείδωσης. Τα φυσικά αντιοξειδωτικά βέβαια διαδραματίζουν και σε αυτό το ερευνητικό πεδίο σημαντικό ρόλο.

Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας μελετήθηκε η προστασία ελαίων από την οξείδωση με τη χρήση φυσικών αντιοξειδωτικών και συγκεκριμένα εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών που ανήκουν σε μία από τις πιο σημαντικές οικογένειες του ελλαδικού χώρου, στην οικογένεια *Lamiaceae*. Επιπροσθέτως, εξετάστηκαν τα αποτελέσματα της ενσωμάτωσης αντιοξειδωτικών κλασμάτων από φυτά στο υλικό συσκευασίας και σε εδώδιμη μεμβράνη τροφίμων, όπως chips και ιχθύες.

1. ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΤΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ

1.1 Λιπίδια και λιπαρά οξέα

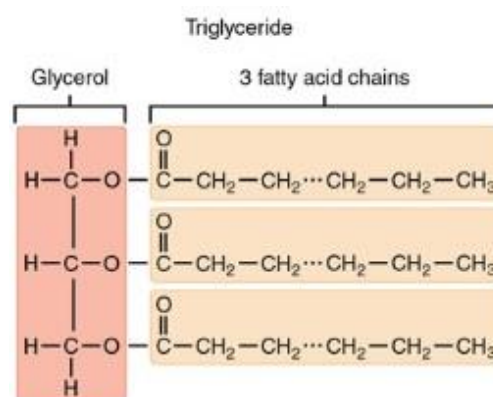
Μία κατηγορία βασικών θρεπτικών συστατικών των τροφίμων αποτελούν τα λιπίδια. Πρόκειται για ουσίες διαλυτές σε οργανικούς διαλύτες, όπως σε διαιθυλαιθέρα, πετρελαϊκό αιθέρα, χλωροφόρμιο, τετραχλωράνθρακα, και αδιάλυτες στο νερό. Τα λιπίδια εμφανίζουν ετερογενή φύση, καθώς δεν έχουν κοινές δομικές μονάδες και έτσι, η ταξινόμησή τους θεωρείται δύσκολη (Θωμόπουλος, 1986, Γεωργιάτσος, 1989). Μία κατηγοριοποίηση που έχει προταθεί (Θωμόπουλος, 1986), κατατάσσει τα λιπίδια στις εξής τρεις ομάδες:

1) Απλά λιπίδια: εστέρες λιπαρών οξέων με αλκοόλες. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα γλυκερίδια, δηλαδή εστέρες λιπαρών οξέων με γλυκερίνη και οι κηροί, εστέρες λιπαρών οξέων με αλκοόλες εκτός από γλυκερίνη.

2) Σύνθετα λιπίδια: ενώσεις που περιέχουν και άλλες πρόσθετες ομάδες σε έναν εστέρα λιπαρού οξέος με μια αλκοόλη. Μερικά σύνθετα λιπίδια είναι τα φωσφατίδια (εστέρες που περιέχουν λιπαρά οξέα, φωσφορικό οξύ και άλλες ομάδες, που συνήθως περιέχουν άζωτο), και τα γλυκολιπίδια (ενώσεις που περιέχουν λιπαρά οξέα, έναν υδατάνθρακα και ένα αζωτούχο τμήμα, αλλά όχι φωσφορικό οξύ).

3) Παράγωγα λιπίδια: ουσίες οι οποίες προέρχονται από απλά ή σύνθετα λιπίδια και έχουν γενικές ιδιότητες των λιπιδίων, αλλά και ουσίες που απαντώνται ως έχουν μέσα στα λιπαρά σώματα. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν λιπαρά οξέα, αλκοόλες, υδρογονάνθρακες (π.χ. τερπένια) και λιποδιαλυτές βιταμίνες.

Τα εδώδιμα λίπη και έλαια αποτελούνται από λιπίδια της πρώτης ομάδας και κυρίως από τριγλυκερίδια. Ως τριγλυκερίδια χαρακτηρίζονται οι εστέρες που περιέχουν ένα μόριο γλυκερίνης ενωμένο με τρία μόρια λιπαρών οξέων, όπως φαίνεται στο Σχήμα 1.1. Μπορούν να διακριθούν σε απλά και μικτά τριγλυκερίδια. Στην πρώτη περίπτωση οι τρεις υδροξυλιομάδες της γλυκερίνης είναι εστεροποιημένες με το ίδιο λιπαρό οξύ, ενώ στη δεύτερη με διάφορα λιπαρά οξέα. Τα τριγλυκερίδια καλύπτουν το μεγαλύτερο μέρος των ενεργειακών αναγκών του ανθρώπου, παρέχοντας στον οργανισμό 9 kcal/g, ποσότητα που είναι υπερδιπλάσια σε σχέση με αυτή που προσφέρουν οι πρωτεΐνες και οι υδατάνθρακες (Θωμόπουλος, 1986, Belitz, 2009). Σε πολύ χαμηλά επίπεδα στα φυτικά έλαια συναντώνται επίσης και μονογλυκερίδια και διγλυκερίδια, καθώς και στερόλες, τοκοφερόλες, λιποχρωστικές, φωσφατίδια και υδρογονάνθρακες (Θωμόπουλος, 1986, Gunstone, 1996).



Σχήμα 1.1: Δομή τριγλυκεριδίου

Οι φυσικές ιδιότητες, η σταθερότητα και η θρεπτική αξία των εδώδιμων ελαίων, εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τη δομή και τη διαμόρφωση των περιεχόμενων λιπαρών οξέων. Τα λιπαρά οξέα είναι σχεδόν εξ ολοκλήρου ευθείας αλυσίδας αλειφατικά καρβοξυλικά οξέα (Shahidi, 2005). Πάνω από 1000 λιπαρά οξέα είναι σήμερα γνωστά, ωστόσο ένας μικρός αριθμός τους (20-50) εμφανίζει ιδιαίτερη σημασία για τα λίπη και έλαια (Shahidi, 2005, Gunstone, 1996). Διακρίνονται σε κορεσμένα και ακόρεστα. Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα που απαντώνται κυρίως στα εδώδιμα λίπη και έλαια έχουν άρτιο αριθμό ατόμων άνθρακα, ο οποίος κυμαίνεται από 4 έως 24. Βέβαια υπάρχουν και περιπτώσεις λιπαρών οξέων με περιττό αριθμό ατόμων άνθρακα σε ζωικά, φυτικά λιπαρά σώματα και ιχθυέλαια, ωστόσο η αναλογία τους δε ξεπερνά το 1-2% του συνόλου της λιπαρής ουσίας. Τα κυριότερα κορεσμένα λιπαρά οξέα είναι το δαφνικό (C₁₂), το μυριστικό (C₁₄), το παλμιτικό (C₁₆) και το στεατικό (C₁₈). Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα διαφοροποιούνται ως προς το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας και το βαθμό ακορεστότητας, καθώς μπορούν να περιέχουν από ένα μέχρι έξι διπλούς δεσμούς. Οι διπλοί δεσμοί στα ακόρεστα λιπαρά οξέα όλων των εδώδιμων ελαίων έχουν cis διαμόρφωση (Gunstone, 2002). Το παλμιτελαϊκό (C₁₆, Δ₉₋₁₀), το ελαϊκό (C₁₈, Δ₉₋₁₀), το λινελαϊκό (C₁₈, Δ_{9-10, 12-13}), το λινολενικό (C₁₈, Δ_{9-10, 12-13, 15-16}), το αραχιδονικό (C₂₀, Δ_{5-6, 8-9, 11-13, 14-15}) και το ερουκικό (C₂₂, Δ₁₃₋₁₄) αποτελούν τα συνήθη ακόρεστα λιπαρά οξέα. Το σύμβολο Δ στην ονομασία των ακόρεστων λιπαρών οξέων υποδηλώνει το διπλό δεσμό και ο αριθμός που ακολουθεί τη θέση των ατόμων άνθρακα, οι οποίοι ενώνονται με διπλό δεσμό, με την αρίθμηση να ξεκινά από το άτομο άνθρακα της καρβοξυλομάδας (Θωμόπουλος, 1986).

1.2 Οξείδωση λιπιδίων

Τα έλαια και τα λίπη κατά την αποθήκευσή τους παρουσιάζουν αλλοιώσεις στη γεύση και την οσμή. Οι ανεπιθύμητες αυτές αλλαγές καταστρέφουν την ποιότητα και τη θρεπτική αξία των λιπαρών υλών, ενώ είναι ικανές να αποτελέσουν σοβαρό κίνδυνο για την υγεία του ανθρώπου (αθηροσκλήρωση, σακχαρώδη διαβήτη, καρκίνο, αυτοάνοσα νοσήματα) (Θωμόπουλος, 1986, Catala, 2012).

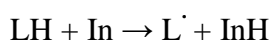
Η ποιοτική υποβάθμιση των ελαίων και των λιπών οφείλεται στην οξείδωσή τους, δηλαδή στην αντίδραση των λιπαρών οξέων με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο. Η οξείδωση των λιπαρών τροφίμων επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως από την σύστασή τους σε λιπαρά οξέα, την περιεκτικότητά τους σε προοξειδωτικά αλλά και αντιοξειδωτικά, την επιφάνεια που έρχεται σε επαφή με το οξυγόνο, την ενεργότητα του νερού, την πίεση του οξυγόνου και τη θερμοκρασία (Kolakowska, 2003). Η οξείδωση των λιπιδίων μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε ενζυμικά είτε μη ενζυμικά, με την τελευταία περίπτωση να διακρίνεται στην αυτοοξείδωση και στη φωτοοξείδωση (Gunstone, 1996).

Ο μηχανισμός της οξείδωσης αποδίδεται κυρίως στο φαινόμενο της αυτοοξείδωσης. Εκκινητές της αυτοοξείδωσης, εκτός από το οξυγόνο, μπορεί να είναι η θερμότητα, το φως και ίχνη μετάλλων. Πρόκειται για αλυσιδωτή αντίδραση ελευθέρων ριζών. Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα αντιδρούν με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο

ή με άλλον εκκινητή και παράγουν ελεύθερες ρίζες. Οι ελεύθερες ρίζες με τη σειρά τους αντιδρούν και αυτές με το οξυγόνο, και προωθώντας την οξείδωση παράγονται υδροϋπεροξειδία και νέες ρίζες, οι οποίες αντιδρούν με τον ίδιο τρόπο και έτσι δημιουργείται αλυσιδωτή αντίδραση. Η αντίδραση τερματίζεται με το σχηματισμό σταθερών ενώσεων. Η πορεία της αυτοοξείδωσης αρχικά πραγματοποιείται με ένα βραδύ ρυθμό (περίοδος επώασης), ενώ ακολουθεί μια περίοδος επιταχυνόμενης οξείδωσης (Gunstone, 1996, Porter, 1986). Η αυτοοξείδωση των τροφίμων επιταχύνεται από παράγοντες όπως η θερμότητα, το φως, ίχνη μετάλλων και ένζυμα (Chaiyasit, 2007). Φαίνεται λοιπόν πως ο μηχανισμός της αυτοοξείδωσης ακολουθεί τρία στάδια: την έναρξη, τη διάδοση και τον τερματισμό.

Αντιδράσεις έναρξης

Υπό την παρουσία εκκινητή (In), απομακρύνεται ένα άτομο υδρογόνου από ένα ακόρεστο λιπίδιο (LH), δημιουργώντας μια ελεύθερη ρίζα (L·) σύμφωνα με την αντίδραση:



Το στάδιο αυτό αναπτύσσεται με βραδύ ρυθμό (Porter, 1986). Η ενέργεια ενεργοποίησης και η ταχύτητα της αντίδρασης σε αυτό το στάδιο εξαρτώνται από τον τύπο του εκκινητή και τον αριθμό των ακόρεστων δεσμών της λιπαρής ύλης. Οι ασθενέστεροι δεσμοί C-H στα ακόρεστα λιπαρά οξέα είναι στις α-θέσεις ως προς το διπλό δεσμό (αλλυλική θέση), δηλαδή στη θέση του άνθρακα που συνδέεται με άνθρακα που συμμετέχει σε διπλό δεσμό. Από τη θέση αυτή ξεκινάει και η αυτοοξείδωση. Συγκεκριμένα, στη δις-αλλυλική θέση εμφανίζεται η χαμηλότερη τιμή της ενέργειας ενεργοποίησης, η οποία και είναι 75 kcal/mol (Kolakowska, 2003). Ως δις-αλλυλική θέση αναφέρεται η θέση του άνθρακα που ενώνει δυο άνθρακες που συμμετέχουν σε διαδοχικούς διπλούς δεσμούς, όπως φαίνεται στο Σχήμα 1.2. Στην αλλυλική θέση η ενέργεια ενεργοποίησης υπολογίζεται μεγαλύτερη, με τιμή 88 kcal/mol, ενώ στα υδρογόνα μεθυλενίων που δεν ενώνονται με άνθρακες διπλού δεσμού η ενέργεια ενεργοποίησης είναι 100 kcal/mol (Kolakowska, 2003).

δισ - αλλυλική θέση

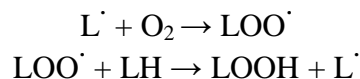


Σχήμα 1.2: Η δις-αλλυλική θέση στα λιπαρά οξέα θεωρείται η ευπαθέστερη ως προς την οξείδωση

Αντιδράσεις διάδοσης

Η ελεύθερη ρίζα αντιδρά ταχέως με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο και παράγεται ρίζα υπεροξειδίου (LOO·), η οποία προσλαμβάνοντας ένα άτομο υδρογόνου από άλλο μόριο ακόρεστου λιπαρού οξέος σχηματίζει υδροϋπεροξειδίο (LOOH), καθώς και μία νέα ρίζα. Το πρώτο στάδιο είναι πάντα ταχύτερο από το δεύτερο (Frankel, 2005). Τα

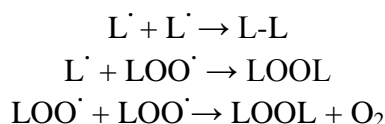
υδροϋπεροξειδία που αναπτύσσονται αποτελούν τα αρχικά κύρια προϊόντα οξειδωσης. Η νέα αυτή ρίζα θα πραγματοποιήσει αντιδράσεις με τον ίδιο τρόπο με αποτέλεσμα να ακολουθήσουν διαδοχικές αλυσιδωτές αντιδράσεις. Οι διαδικασίες αυτές συνοψίζονται στις παρακάτω αντιδράσεις:



Η ταχύτητα των αντιδράσεων είναι υψηλότερη σε λιπαρά οξέα με δις-αλλυλικά μεθυλένια. Ωστόσο έχει διαπιστωθεί πως δύο δις-αλλυλικά μεθυλένια δρουν ανεξάρτητα (Kolakowska, 2003). Έχει αποδειχθεί επίσης, πως η ταχύτητα αντίδρασης του λινελαϊκού οξέος είναι 40 φορές μεγαλύτερη από αυτή του ελαϊκού, γεγονός που εξηγείται από την ύπαρξη δις-αλλυλικού μεθυλενίου στο πρώτο. Το λινολενικό οξύ, που διαθέτει δύο δις-αλλυλικά μεθυλένια, αντιδρά 2.4 φορές ταχύτερα από το λινελαϊκό (Kolakowska, 2003).

Αντιδράσεις τερματισμού

Η αντίδραση τερματίζεται όταν όλες οι ρίζες αντιδράσουν μεταξύ τους προς σχηματισμό σταθερών προϊόντων που δεν περιέχουν ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Η αντίδραση μεταξύ δύο ριζών ονομάζεται διμερισμός. Οι αντιδράσεις τερματισμού που παρέχουν οι ελεύθερες ρίζες είναι οι ακόλουθες:



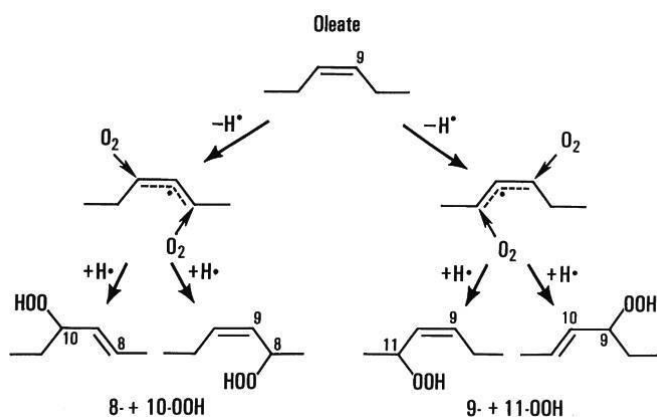
Σε πολλά τρόφιμα οι αντιδράσεις τερματισμού της οξειδωσης δεν έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον όσο τα δύο προηγούμενα στάδια (έναρξη, διάδοση), καθώς το τρόφιμο έχει ήδη ταγγιστεί, δηλαδή έχει ήδη υποστεί σοβαρές αλλοιώσεις προτού πραγματοποιηθούν οι αντιδράσεις τερματισμού (Chaiyasit, 2007).

1.3 Προϊόντα οξειδωσης λιπιδίων

Τα προϊόντα της αυτοοξειδωσης των λιπαρών οξέων μπορούν να διακριθούν σε πρωτογενή και δευτερογενή. Στην πρώτη ομάδα ανήκουν τα υδροϋπεροξειδία, τα οποία παράγονται κατά το μηχανισμό που περιγράφηκε στην προηγούμενη ενότητα. Τα πιο σημαντικά υδροϋπεροξειδία που σχηματίζονται προέρχονται από την αυτοοξειδωση του ελαϊκού, λινελαϊκού και λινολενικού οξέος.

Οξείδωση ελαιϊκού οξέος

Σύμφωνα με τον κλασικό μηχανισμό της αυτοοξειδωσης του ελαιϊκού οξέος, αποσπάται υδρογόνο από τις αλληλικές θέσεις 8 και 11 και έτσι παράγονται τα ακόλουθα τέσσερα υδροϋπεροξειδία σε ίσες ποσότητες: 9-υδροϋπεροξυ-10-ένιο, 11-υδροϋπεροξυ-9-ένιο, 10-υδροϋπεροξυ-8-ένιο και 8-υδροϋπεροξυ-9-ένιο. Ωστόσο, πρόσφατες έρευνες που βασίζονταν σε αναλύσεις με GC-MS και HPLC δείχνουν πως το 11-υδροϋπεροξειδίο και το 8-υδροϋπεροξειδίο παράγονται σε μικρές αλλά μεγαλύτερες ποσότητες (25-29%) από τα άλλα δύο είδη υδροϋπεροξειδίων (22-25%) (Frankel, 2005, Hamilton, 1997). Οι περιεκτικότητες αυτές αναφέρονται στην συνολική ποσότητα του κάθε προϊόντος, δηλαδή τόσο της μορφής cis όσο και της trans, αφού το κάθε υδροϋπεροξειδίο εμφανίζει και τις δύο διατάξεις. Η θερμοκρασία της οξείδωσης φαίνεται να επιδρά στις cis και trans μορφές του κάθε υδροϋπεροξειδίου. Συγκεκριμένα, με αύξηση της θερμοκρασίας οι ποσότητες των cis-8-υδροϋπεροξειδίου και cis-11-υδροϋπεροξειδίου μειώνονται, τα trans-8-υδροϋπεροξειδίου και trans-11-υδροϋπεροξειδίου όπως και τα cis-9-υδροϋπεροξειδίου και cis-10-υδροϋπεροξειδίου αυξάνονται, ενώ τα trans-9-υδροϋπεροξειδίου και trans-10-υδροϋπεροξειδίου δε μεταβάλλονται (Frankel, 2005). Ο μηχανισμός της οξείδωσης του ελαιϊκού οξέος απεικονίζεται στο Σχήμα 1.3.

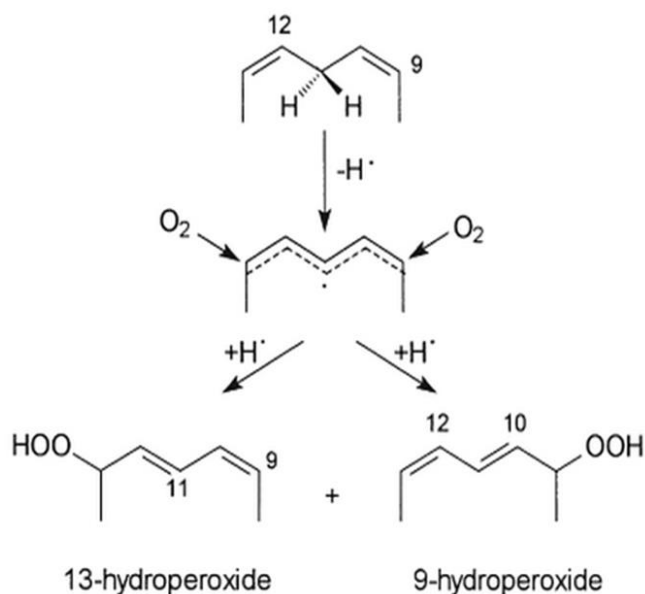


Σχήμα 1.3: Μηχανισμός οξείδωσης ελαιϊκού οξέος

Οξείδωση λινελαϊκού οξέος

Το λινελαϊκό οξύ, που διαθέτει δύο διπλούς δεσμούς, μπορεί να χάσει υδρογόνο από την δις-αλληλική θέση, η οποία συγκεκριμένα βρίσκεται στη θέση 11. Έτσι, το οξυγόνο αντιδρά με τον άνθρακα στη θέση 9 και 13, με αποτέλεσμα την παραγωγή του 9-υδροϋπεροξυ-10-12-διενίου και του 13-υδροϋπεροξυ-9-11-διενίου. Ο μηχανισμός της αυτοοξειδωσης του λινελαϊκού οξέος παρουσιάζεται στο Σχήμα 1.4. Τα δύο προϊόντα εμφανίζονται σε ίδιες συγκεντρώσεις στα διάφορα στάδια της οξείδωσης, καθώς και σε ένα μεγάλο θερμοκρασιακό εύρος (47-53%) (Frankel, 2005, Hamilton, 1997). Με μελέτες που βασίζονται στην HPLC και την C-NMR έχει διαπιστωθεί πως το κάθε υδροϋπεροξειδίο παρουσιάζει δύο μορφές: cis-trans, trans-

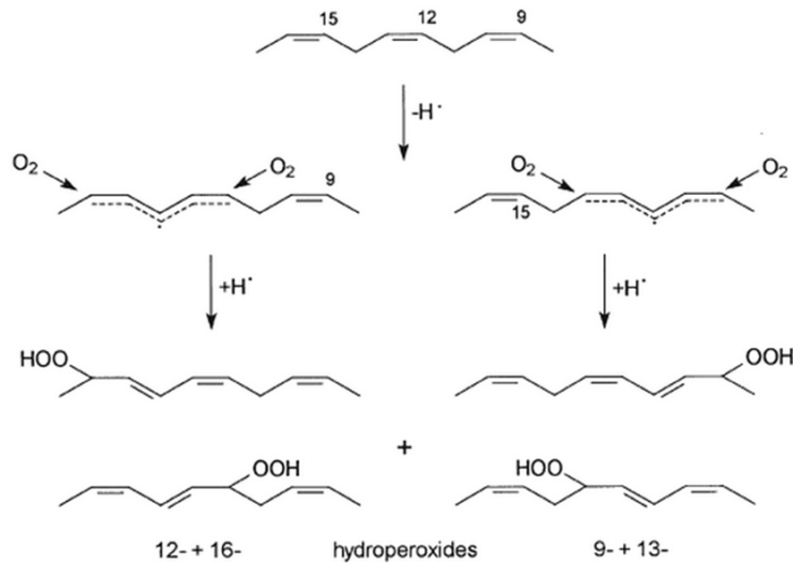
trans, με την πρώτη να είναι η επικρατέστερη στα πρώτα στάδια της οξείδωσης και σε χαμηλές θερμοκρασίες, ενώ η περιεκτικότητα της δεύτερης μορφής αυξάνεται με την πορεία της οξείδωσης και την άνοδο της θερμοκρασίας (Frankel, 2005).



Σχήμα 1.4: Μηχανισμός οξείδωσης λινελαϊκού οξέος

Οξείδωση λινολενικού οξέος

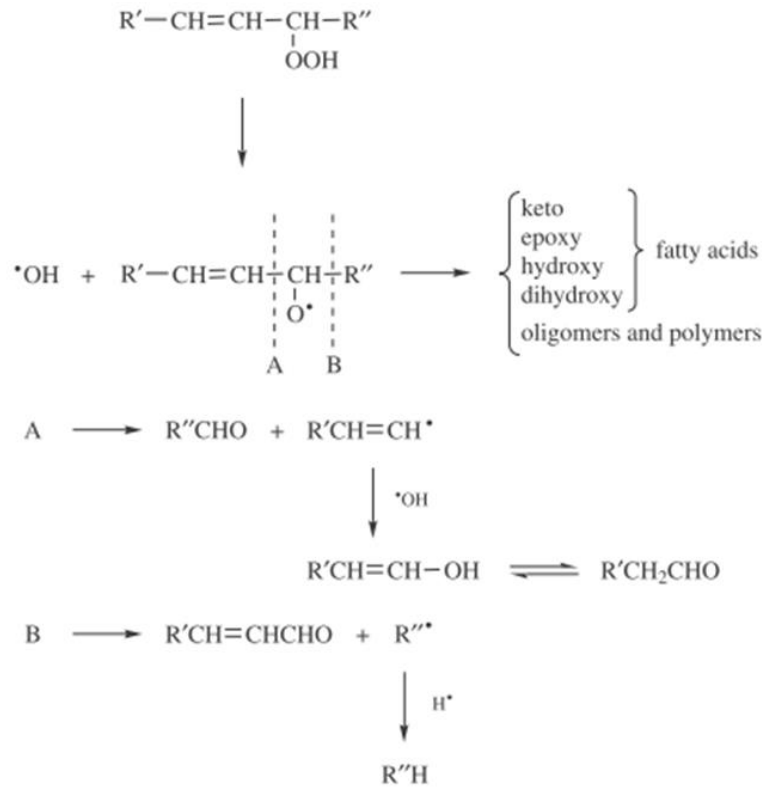
Με τον ίδιο μηχανισμό όπως και το λινελαϊκό, το λινολενικό οξύ που διαθέτει δύο δις-αλλυλικές ομάδες στις θέσεις 11 και 14, χάνει υδρογόνο από τις θέσεις αυτές και με την αντίδραση με το οξυγόνο που ακολουθεί παράγονται τα προϊόντα 13-υδροϋπεροξυ-9,11,15-τριένιο, 9-υδροϋπεροξυ-10,12,15-τριένιο και 16-υδροϋπεροξυ-9,12,14-τριένιο, 12-υδροϋπεροξυ-9,13,15-τριένιο, αντίστοιχα. Η πορεία της αυτοοξείδωσης του λινολενικού οξέος φαίνεται στο Σχήμα 1.5. Σύμφωνα με αναλύσεις της οξείδωσης του λινολενικού σε ένα εύρος της πορείας της οξείδωσης του 2-30% και σε ένα θερμοκρασιακό εύρος 25-80°C, το 16-υδροϋπεροξείδιο εμφανίζει την υψηλότερη περιεκτικότητα (43-49%), ακολουθούμενο από το 9-υδροϋπεροξείδιο (29-34%) και τελευταία τα άλλα δύο προϊόντα με περιεκτικότητα 10-12%, το καθένα (Frankel, 2005, Hamilton, 1997). Στην περίπτωση της οξείδωσης του λινολενικού οξέος, η τάση των cis-trans ισομερών του να μετατρέπονται σε trans-trans είναι πολύ μικρότερη από εκείνη που αναφέρθηκε για τα υδροϋπεροξείδια που αναπτύσσονται κατά την αυτοοξείδωση του λινελαϊκού οξέος (Frankel, 1983).



Σχήμα 1.5: Μηχανισμός οξείδωσης λινολενικού οξέος

Τα υδροϋπεροξειδία που αναπτύσσονται κατά την αυτοοξειδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων αντιδρούν περαιτέρω προς το σχηματισμό των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης. Πρόκειται για πτητικές ενώσεις, όπως αλδεΐδες, κετόνες, αλκοόλες, υδρογονάνθρακες, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την ανάπτυξη της δυσάρεστης οσμής των οξειδωμένων τροφίμων (Gunstone, 1996, Kolakowska, 2003).

Η σύσταση των οξειδωμένων λιπιδίων διαφέρει ως προς τα προϊόντα αυτά, τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά, και εξαρτάται από το είδος του λιπιδίου, την περιεκτικότητά του σε προοξειδωτικά και αντιοξειδωτικά, και τις συνθήκες της οξείδωσης. Τα πτητικά προϊόντα αναπτύσσονται από τη διάσπαση των υδροϋπεροξειδίων κυρίως με ομολυτικό μηχανισμό. Με αυτό το μηχανισμό δημιουργούνται κορεσμένες και ακόρεστες αλδεΐδες, κετόνες και υδρογονάνθρακες. Οι ακόρεστες αλδεΐδες και κετόνες που παράγονται οξειδώνονται περαιτέρω προς σχηματισμό και άλλων πτητικών ενώσεων (Kolakowska, 2003). Κατά την παραγωγή των δευτερογενών προϊόντων αρχικά πραγματοποιείται διάσπαση των οξυγόνων του υδροϋπεροξειδίου, με αποτέλεσμα να σχηματίζονται δύο ρίζες, μια υδροξυλίου και μια αλκοξειδίου. Η δεύτερη διασπάται περαιτέρω, όπως φαίνεται στο Σχήμα 1.6. Συγκεκριμένα, πραγματοποιείται διάσπαση μεταξύ των παρακείμενων στην αλκοξειδική ομάδα δεσμών C-C. Σε κάθε δεσμό που διασπάται παράγεται μια αλδεΐδη και μία ρίζα. Οι ρίζες αυτές σε περαιτέρω αντίδρασή τους σχηματίζουν αλκοόλες και υδρογονάνθρακες (Shahidi, 2005, Gunstone, 1996).



Σχήμα 1.6: Ομολυτικός μηχανισμός διάσπασης υδροϋπεροξειδίου

Μερικά από τα δευτερογενή προϊόντα που αναπτύσσονται κατά την αυτοοξειδωση του ελαιϊκού, λινελαϊκού και λινολενικού οξέος παρατίθενται στον Πίνακα 1.1 (Gunstone, 1996).

Σύμφωνα με τον Frankel (1987) κατά την οξείδωση των υδροϋπεροξειδίων αναπτύσσονται και κάποιες άλλες ενώσεις, όπως εποξυυδροϋπεροξειδία, κετοϋδροϋπεροξειδία, διυδροϋπεροξειδία, κυκλικά υπεροξειδία και δικυκλικά ενδοϋπεροξειδία. Ακόμα και σε ήπιες συνθήκες (25-40°C), τα οξειδωμένα ακόρεστα λιπαρά οξέα μπορούν να παράγουν διάφορα διμερή, των οποίων οι μονάδες συνδέονται με δεσμούς μεταξύ υπεροξειδικών ομάδων, δεσμούς C-C, άνθρακα-αιθέρα ή συζυγών δεσμών διενίων και τριενίων, όπου το καθένα περιέχει διυδροϋπεροξειδία ή εποξυυδροϋπεροξειδία (Kolakowska, 2003).

Πίνακας 1.1: Δευτερογενή προϊόντα που παράγονται κατά την οξείδωση του ελαϊκού, λινελαϊκού, λινολενικού οξέος

Τύπος δευτερογενών προϊόντων	Ελαϊκό οξύ	Λινελαϊκό οξύ	Λινολενικό οξύ
Αλδεΐδες	8 ^α :0 ^β 9:0 10:0 10:1 (2t) ^γ 11:1 (2t)	6:0 7:1 (2t) 9:1 (3c) 10:2 (2t4c)	3:0 4:1 (2t) 6:1 (3c) 7:2 (2t4c) 9:2 (3c6c) 10:3(2t4c7c)
Υδρογονάνθρακες	7:0 8:0	5:0 8:1 (2)	2:0 5:1 (2) 8:2 (2,5)
Αλκοόλες	7:0 8:0	5:0 8:1 (2)	2:0 5:1 (2) 8:2 (2,5)

α: αριθμός ατόμων C της αλυσίδας

β: αριθμός διπλών δεσμών στην ανθρακική αλυσίδα

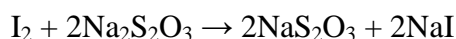
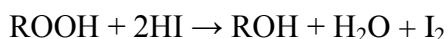
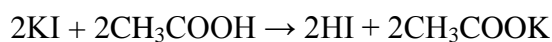
γ: θέση C στην οποία βρίσκεται ο διπλός δεσμός, t-trans μορφή, c-cis δεσμός

1.4 Μέθοδοι προσδιορισμού οξείδωσης λιπιδίων

Ποικίλες μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί για τον προσδιορισμό της οξείδωσης των λιπιδίων στα τρόφιμα. Αλλαγές σε φυσικές, χημικές καθώς και οργανοληπτικές ιδιότητες στα λίπη και έλαια κατά τη διάρκεια της οξείδωσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν, ώστε να εκτιμηθεί ο βαθμός της οξείδωσης. Μερικές από τις πιο σημαντικές και ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθόδους για τη μέτρηση των πρωτογενών και των δευτερογενών προϊόντων περιγράφονται στη συνέχεια.

Αριθμός υπεροξειδίων (Peroxide Value, PV)

Καθώς τα υδροϋπεροξειδία αναπτύσσονται κατά τα πρώτα στάδια της οξείδωσης των λιπιδίων, η μέθοδος του αριθμού υπεροξειδίων είναι κατάλληλη για να παρέχει μια πρώτη ένδειξη για τον ταχυσμό τροφίμων, όπως των ελαίων. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για τη μέτρηση του αριθμού υπεροξειδίου. Η κυριότερη και πιο εύκολη είναι η ιωδιομετρική μέθοδος, η οποία βασίζεται στη μέτρηση του ιωδίου που παράγεται από το ιωδιούχο κάλιο υπό την παρουσία υπεροξειδίων στο έλαιο. Πιο συγκεκριμένα, πραγματοποιείται αντίδραση μεταξύ των υδροϋπεροξειδίων (ROOH) και του ιόντος του ιωδίου (I⁻). Η ποσότητα του ελεύθερου ιωδίου (I₂) που παράγεται μετριέται με τιτλοδότηση με θειοθειικό νάτριο (Na₂S₂O₃) και είναι στοιχειομετρικά ανάλογη της συγκέντρωσης των υδροϋπεροξειδίων που έχουν αναπτυχθεί στο έλαιο (Warner & Eskin, 1995, Akoh & Min, 2008). Οι χημικές αντιδράσεις, οι οποίες πραγματοποιούνται σε φάση διαλυτών οξικού οξέος-χλωροφορμίου ή οξικού οξέος-ισοοκτανίου, είναι οι εξής:



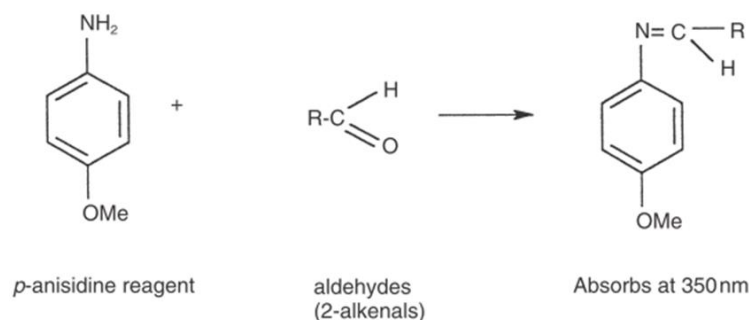
Λόγω του ότι ο αριθμός υπεροξειδίων είναι μια απλή μέθοδος, χρησιμοποιείται ευρέως για τη μελέτη της διατηρησιμότητας τροφίμων και την έρευνα της αντιοξειδωτικής δράσης διαφόρων πρόσθετων συστατικών στα τρόφιμα. Ωστόσο, κατά την αποθήκευση των τροφίμων είναι πιθανόν τα υδροϋπεροξειδία να αποδομούνται λόγω των αντιδράσεων διάδοσης που λαμβάνουν χώρα και έτσι ο αριθμός υπεροξειδίων ίσως να μην παρέχει πλήρη εικόνα για την πορεία της οξείδωσης και να απαιτείται και κάποια άλλη συμπληρωματική μέθοδος (Steele, 2004).

Η ιωδιομετρική μέθοδος για τον προσδιορισμό του αριθμού υπεροξειδίων είναι εφαρμόσιμη για όλα τα καθαρά λίπη και έλαια, παρόλα τα μειονεκτήματα που παρουσιάζει. Μερικά από αυτά είναι οι πιθανές αντιδράσεις προσθήκης του ιωδίου στα ακόρεστα λιπαρά οξέα και η απελευθέρωση του ιωδίου από το ιωδιούχο κάλιο με την παρουσία οξυγόνου στο διάλυμα που τιτλοδοτείται. Τα αποτελέσματα της μέτρησης επηρεάζονται επίσης από τη δομή και τη δραστηριότητα των υπεροξειδίων (Akoḥ & Min, 2008). Επιπλέον, αποτελεί μια εμπειρική μέθοδο και όποια παραλλαγή στη διαδικασία μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στα αποτελέσματα. Τέλος, εμφανίζει δυσκολίες στη μέτρηση χαμηλών τιμών υπεροξειδίων, λόγω δυσκολίας εντοπισμού του τελικού σημείου τιτλοδότησης. Για την επίλυση του τελευταίου προβλήματος έχει αναπτυχθεί μια τροποποίηση στην ιωδιομετρική μέθοδο. Κατά την τροποποίηση αυτή, η διαδικασία της τιτλοδότησης μπορεί να αντικατασταθεί από μια ηλεκτροχημική τεχνική, στην οποία το ιώδιο που παράγεται ανάγεται σε ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου (Akoḥ & Min, 2008).

Αριθμός π-Ανισιδίνης (p-Anisidine Value, p-AV)

Ο αριθμός της π-ανισιδίνης αφορά στη μέτρηση αλδεϋδών σε ένα έλαιο ή λίπος, και συγκεκριμένα εκείνες οι οποίες είναι ακόρεστες (κυρίως τις 2-αλκενάλες). Για να γίνει ο συγκεκριμένος προσδιορισμός, ένα διάλυμα της λιπαρής ύλης με ισοοκτάνιο αντιδρά με την π-ανισιδίνη, η οποία έχει διαλυθεί σε οξικό οξύ, δίνοντας ένα κίτρινο χρώμα. Τέλος, μετράται η απορρόφηση στα 350 nm, πριν και μετά την αντίδραση. Η αντίδραση δίνεται στο Σχήμα 1.7.

Καθώς προσδιορίζει τα δευτερογενή προϊόντα, ο αριθμός της π-ανισιδίνης χρησιμοποιείται αντί ή και συμπληρωματικά με τον αριθμό υπεροξειδίων, ώστε να αξιολογήσει έλαια τα οποία έχουν υποστεί θερμική επεξεργασία, ή γενικά πιο εκτεταμένη οξείδωση. Για παράδειγμα εφαρμόζεται σε μελέτες που διεξάγονται για τον προσδιορισμό του χρόνου ζωής ελαίων που χρησιμοποιούνται για τηγάνισμα ή για την έρευνα της διατηρησιμότητας chips τηγανισμένων σε διάφορα έλαια (Steele, 2004).



Σχήμα 1.7: Αντίδραση *p*-ανισιδίνης με αλκενάλες

Δείκτης TOTOX

Ο δείκτης TOTOX παρέχει μια πιο συλλογική εικόνα για την πορεία της οξείδωσης των λιπαρών υλών, καθώς συμπεριλαμβάνει τόσο τα πρωτογενή όσο και τα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης. Συγκεκριμένα, συνυπολογίζει τον αριθμό υπεροξειδίων και της *p*-ανισιδίνης σύμφωνα με τη σχέση:

$$\text{TOTOX} = \text{p-AV} + 2\text{PV}$$

Κατά μια γενική οδηγία, ένα έλαιο που έχει ποιότητα στα πλαίσια της αποδοχής, εμφανίζει τιμή του δείκτη TOTOX μικρότερη του 10 (Steele, 2004).

Φασματοσκοπία υπεριώδους ακτινοβολίας (Ultraviolet Spectroscopy)

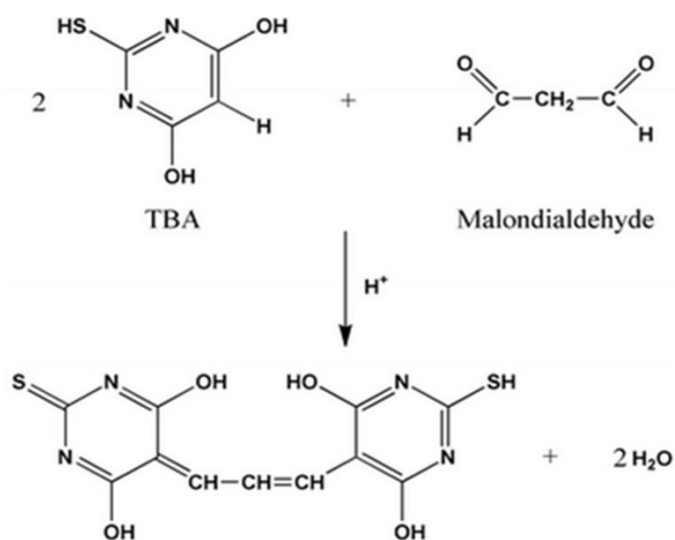
Η φασματοσκοπία υπεριώδους ακτινοβολίας χρησιμοποιείται κυρίως για τον προσδιορισμό των συζευγμένων δεσμών. Οι κορυφές απορρόφησης των διενίων και τριενίων εμφανίζονται στα 232 nm και 268 nm, αντίστοιχα. Η μέθοδος χρησιμοποιείται συχνά λόγω της ευκολίας της και παρά τις ασάφειες που υπάρχουν στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων, μπορεί να είναι χρήσιμη στην παρακολούθηση των αλλαγών των λιπιδίων υπό διαφορετικές συνθήκες (Kolakowska, 2003).

Άλλες μέθοδοι

Υπάρχουν πολλές ακόμα μέθοδοι που εφαρμόζονται για την παρακολούθηση της οξείδωσης των λιπιδίων. Τα πτητικά δευτερογενή προϊόντα, π.χ. αλδεύδες, κετόνες, μπορούν να προσδιοριστούν αρκετά εύκολα με αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC), η οποία συχνά συνδυάζεται με φασματόμετρο μάζας (Mass Spectrometer, MS). Το σημαντικότερο πρόβλημα που αντιμετωπίζει ο αναλυτής είναι η επιλογή και βελτιστοποίηση της τεχνικής ανάκτησης των πτητικών ενώσεων από την οξειδωμένη λιπαρή ύλη. Μερικές ήδη διαθέσιμες τεχνικές είναι η ταυτόχρονη απόσταξη και εκχύλιση (Simultaneous Distillation and Extraction, SDE), η στατική απελευθέρωση της υπερκείμενης φάσης (Static Headspace, SH), η δυναμική απελευθέρωση της υπερκείμενης φάσης (Dynamic Headspace, DH), η

μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Micro-Extraction, SPME) και η ροφητική εκχύλιση υπό ανάδευση (Stir Bar Sorptive Extraction, SBSE) (Steele, 2004).

Επίσης, εκτός του αριθμού π-ανισιδίνης, χρησιμοποιούνται και άλλες μέθοδοι για τον προσδιορισμό των καρβονυλικών ενώσεων, με την πιο δημοφιλή να περιλαμβάνει την αντίδραση με το 2-θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA). Συγκεκριμένα, δύο μόρια του 2-θειοβαρβιτουρικού οξέος αντιδρούν με ένα μόριο μηλονικής αλδεϋδης (Σχήμα 1.8). Η μηλονική αλδεϋδη αποτελεί ένα σημαντικό δευτερογενές προϊόν της οξειδωσης ακόρεστων λιπαρών οξέων που περιέχουν τουλάχιστον τρεις διπλούς δεσμούς, όπως το λινολενικό οξύ. Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετρείται στα 532 nm και προσδιορίζεται η πορεία της οξειδωσης (Kolakowska, 2003, Frankel, 1991). Ωστόσο, έχει πλέον διαπιστωθεί ότι το 2-θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA), εκτός της μηλονικής αλδεϋδης, αντιδρά και με άλλα δευτερογενή κυρίως προϊόντα, στα οποία δίνεται η ονομασία TBARS (Steele, 2004). Λόγω της μη επιλεκτικότητας της μεθόδου, τα αποτελέσματά της απεικονίζουν την οξειδωση του τροφίμου σε καλύτερο βαθμό από άλλες μεθόδους, και κυρίως έχουν μεγάλη συσχέτιση με τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τον οργανοληπτικό έλεγχο του τροφίμου (Kolakowska, 2003).



Σχήμα 1.8: Αντίδραση μηλονικής αλδεϋδης με το 2-θειοβαρβιτουρικό οξύ

1.5 Οξειδωτική σταθερότητα ελαίων με βάση τη σύστασή τους σε λιπαρά οξέα

Υπάρχει μεγάλη ποικιλία φυτικών ελαίων λόγω της διαφορετικής περιεκτικότητας τους σε τριγλυκερίδια και λιπαρά οξέα. Η οξειδωτική σταθερότητα των ελαίων επηρεάζεται κυρίως από τη σύστασή τους σε λιπαρά οξέα και συγκεκριμένα από το βαθμό της ακορεστότητάς τους. Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας είναι τα αντιοξειδωτικά και κατά κύριο λόγο οι τοκοφερόλες που υπάρχουν στα έλαια (Kamal-Eldin, 2006). Όπως αναφέρθηκε και κατά το μηχανισμό

της οξειδωσης των λιπιδίων, η ευπάθεια των λιπαρών οξέων αυξάνεται με την αύξηση του βαθμού ακορεστότητας. Έτσι, η σειρά οξειδωτικής σταθερότητας των κυριότερων λιπαρών οξέων που συναντώνται στα έλαια είναι η εξής (Carvalho de Souza & Others, 2009):

Παλμιτικό και στεατικό > ελαϊκό > λινολεϊκό > λινολενικό

Όπως έχει αναφερθεί, το παλμιτικό και το στεατικό οξύ αποτελούν κορεσμένα λιπαρά οξέα, το ελαϊκό μονοακόρεστο (περιέχει έναν διπλό δεσμό), το λινολενικό διακόρεστο (δύο διπλούς δεσμούς), ενώ το λινολενικό οξύ είναι τριακόρεστο (τρεις διπλούς δεσμούς). Στη συνέχεια καταγράφεται η σύσταση ορισμένων ελαίων στα παραπάνω λιπαρά οξέα και δίνεται μια σύγκρισή τους ως προς την οξειδωτική τους σταθερότητα με κριτήριο το περιεχόμενό τους σε λιπαρά οξέα. Τα έλαια που καταγράφονται αφορούν σε έλαια που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία, αλλά και άλλα εξίσου μεγάλης σημασίας και καθημερινώς χρησιμοποιούμενα.

Αραβοσιτέλαιο

Το αραβοσιτέλαιο είναι ένα έλαιο με υψηλή περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, γεγονός που οφείλεται κυρίως στο υψηλό περιεχόμενό του σε λινελαϊκό οξύ (46-58%). Αντίθετα, η περιεκτικότητά του σε κορεσμένα λιπαρά οξέα κυμαίνεται σε χαμηλά ποσοστά, και συγκεκριμένα κατώτερα του 15%, ενώ η τιμή του λινολενικού οξέος βρίσκεται σε πολύ χαμηλά επίπεδα (0.05-1.8%) (El-Nakhlawy & Shiboob, 2011, Carvalho de Souza & Others, 2009, Kamal-Eldin, 2006, Gunstone, 2002).

Σογιέλαιο

Το σογιέλαιο εμφανίζει υψηλή περιεκτικότητα σε λινελαϊκό οξύ (48-59%) και χαμηλότερη περιεκτικότητα σε λινολενικό οξύ (4.5-10%) (El-Nakhlawy & Shiboob, Carvalho de Souza & Others, 2009, Kamal-Eldin, 2006, Köckritz & Martin, 2008). Παρόλο που τα δύο αυτά λιπαρά οξέα είναι ιδιαίτερα μεγάλης σημασίας για τη διατροφή του ανθρώπου, είναι η αιτία για την οξειδωτική αστάθεια του συγκεκριμένου ελαίου (Gunstone, 2002).

Ηλιέλαιο

Το ηλιέλαιο εμφανίζεται σε τρεις τύπους. Στις περισσότερες ποικιλίες έχει πολύ υψηλό περιεχόμενο σε λινελαϊκό οξύ (65-70%) (Gunstone, 2002, El-Nakhlawy & Shiboob, 2011, Kamal-Eldin, 2006). Ωστόσο, υπάρχουν και ποικιλίες που περιέχουν λινελαϊκό οξύ σε ποσότητα μόνο 5-9%, με την τιμή του ελαϊκού να ανέρχεται σε ποσοστό μεγαλύτερο του 80%, και ποικιλίες με περιεκτικότητες λινελαϊκού και ελαϊκού 15-35% και 55-75%, αντίστοιχα (Gunstone, 2002).

Βαμβακέλαιο

Το ελαϊκό και το λινελαϊκό οξύ αποτελούν το 75% των συνολικών λιπαρών οξέων του ελαίου, με το πρώτο να βρίσκεται σε περιεκτικότητα κοντά στη τιμή 22% και το δεύτερο σε ποσοστό περίπου 53%, ενώ το λινολενικό είναι συνήθως σε ποσότητα μικρότερη του 1%. Η τιμή του παλμιτικού οξέος κυμαίνεται μεταξύ των τιμών 15 με 30%, ενώ άλλα κορεσμένα λιπαρά οξέα, όπως στεατικό και μυριστικό, ανιχνεύονται σε πολύ μικρές ποσότητες (Gunstone, 1996, Gunstone, 2002, Carvalho de Souza & Others, 2009, Kamal-Eldin, 2006).

Φοινικέλαιο

Η σύσταση του φοινικέλαιου σε πολυακόρεστα και κορεσμένα λιπαρά οξέα βρίσκεται στα ίδια επίπεδα. Το παλμιτικό (44-50%) και το ελαϊκό (36-40%) είναι τα κυριότερα λιπαρά οξέα, ακολουθούμενα από το λινελαϊκό (9-11%), ενώ το λινολενικό οξύ βρίσκεται σε ίχνη. Τα χαμηλά επίπεδα σε λινελαϊκό και η σχεδόν απουσία του λινολενικού καθιστούν το φοινικέλαιο σχετικά σταθερό ως προς την οξείδωση (El-Nakhlawy & Shiboob, 2011, Kamal-Eldin, 2006, Gunstone, 2002). Η οξειδωτική σταθερότητα του φοινικέλαιου είναι ο λόγος για τον οποίο θεωρείται κατάλληλο έλαιο για τηγάνισμα (Gunstone, 2002).

Στον Πίνακα 1.2 καταγράφονται οι μέσες περιεκτικότητες των κύριων λιπαρών οξέων, καθώς και των ολικών κορεσμένων και ακόρεστων λιπαρών οξέων στα παραπάνω έλαια, σύμφωνα με μελέτη των El-Nakhlawy & Shiboob (2011). Σύμφωνα με τα στοιχεία του Πίνακα 1.2, τα έλαια θα μπορούσαν να ταξινομηθούν ως εξής:

➤ *ως προς τα ολικά κορεσμένα λιπαρά οξέα:*

ηλιέλαιο < σογιέλαιο < αραβοσιτέλαιο < βαμβακέλαιο < φοινικέλαιο

➤ *ως προς τα ολικά ακόρεστα λιπαρά οξέα:*

φοινικέλαιο < βαμβακέλαιο < αραβοσιτέλαιο < σογιέλαιο < ηλιέλαιο

➤ *ως προς τα ολικά μονο-ακόρεστα λιπαρά οξέα:*

βαμβακέλαιο < ηλιέλαιο < σογιέλαιο < αραβοσιτέλαιο < φοινικέλαιο

➤ *ως προς τα ολικά πολυ-ακόρεστα λιπαρά οξέα:*

φοινικέλαιο < αραβοσιτέλαιο < βαμβακέλαιο < σογιέλαιο < ηλιέλαιο

➤ *ως προς το λινελαϊκό οξύ:*

φοινικέλαιο < αραβοσιτέλαιο < βαμβακέλαιο, σογιέλαιο < ηλιέλαιο

➤ *ως προς το λινολενικό οξύ:*

φοινικέλαιο, βαμβακέλαιο < αραβοσιτέλαιο, ηλιέλαιο < σογιέλαιο

Πίνακας 1.2: Μέσες τιμές λιπαρών οξέων (%) σε διάφορα είδη ελαίων

Λιπαρό οξύ	Αραβοσιτέλαιο	Ηλιέλαιο	Σογιέλαιο	Βαμβακέλαιο	Φοινικέλαιο
Παλμιτικό	13.50	6.80	11.00	24.70	45.10
Στεατικό	2.50	4.70	4.00	2.30	4.70
Ελαϊκό	34.50	18.60	23.40	17.60	38.80
Λινελαϊκό	46.00	68.00	53.20	53.30	9.40
Λινολενικό	0.50	0.50	7.80	0.30	0.30
Ολικά κορεσμένα	18.00	12.70	15.50	28.00	51.40
Ολικά ακόρεστα	82.00	87.30	84.50	72.00	48.60
Ολικά μονο-ακόρεστα	35.50	18.80	23.50	18.40	38.90
Ολικά πολυ-ακόρεστα	46.50	68.50	61.00	53.60	9.70

Συμπερασματικά, το φοινικέλαιο είναι το πιο σταθερό ως προς την οξείδωση, καθώς εμφανίζει τη χαμηλότερη περιεκτικότητα στο συνολικό αριθμό των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, αλλά και πολύ χαμηλές τιμές μεμονωμένα στο λινολενικό και στο λινελαϊκό οξύ, τα οποία είναι τα πιο ασταθή έναντι της οξείδωσης. Το αραβοσιτέλαιο φαίνεται να είναι το αμέσως επόμενο σταθερότερο έλαιο, με περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και λινελαϊκό οξύ συγκριτικά μικρότερη από τα βαμβακέλαιο, ηλιέλαιο και σογιέλαιο. Επίσης, εμφανίζει πολύ χαμηλή τιμή σε λινολενικό οξύ. Ακολουθούν το βαμβακέλαιο και το σογιέλαιο, ενώ το ηλιέλαιο παρουσιάζει τη μεγαλύτερη αστάθεια ως προς την οξείδωση, με την υψηλότερη σύσταση σε πολυακόρεστα και λινελαϊκό και τη μικρότερη περιεκτικότητα σε κορεσμένα οξέα. Ίδια συμπεράσματα προκύπτουν και από την μελέτη του Kamal-Eldin (2006), καθώς χαρακτηριστικά φαίνεται η πολύ χαμηλότερη τιμή του φοινικέλαιου ως προς το λινελαϊκό οξύ (10.3%) συγκριτικά με την υψηλή τιμή του ασταθούς ηλιέλαιου (64.4%), αλλά και σε σχέση με το βαμβακέλαιο (55.5%) και το σογιέλαιο (52.6%).

2. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

Για να προστατευτούν τα τρόφιμα από την οξείδωση είναι απαραίτητο να ελαχιστοποιείται η έκθεσή τους στον αέρα, στο φως και στις υψηλές θερμοκρασίες κατά την παρασκευή και αποθήκευσή τους. Σημαντικό ρόλο στην προφύλαξη των τροφίμων από την οξείδωση διαδραματίζει και η χρήση των αντιοξειδωτικών. Ως αντιοξειδωτικό ορίζεται οποιαδήποτε ουσία, η οποία σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε σύγκριση με εκείνες του οξειδωμένου υποστρώματος, καθυστερεί σημαντικά ή αναστέλλει την οξείδωση του εν λόγω υποστρώματος (Antolovich & others, 2001, Shahidi, 1997).

Αντιοξειδωτικά υπάρχουν φυσικά στα τρόφιμα αλλά μπορούν και να προστεθούν σε αυτά. Ένα ιδανικό αντιοξειδωτικό που προστίθεται σε ένα τρόφιμο πρέπει να πληροί τα εξής χαρακτηριστικά (Choe & Min, 2009, Shahidi & others, 1992):

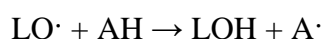
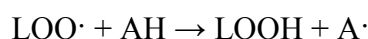
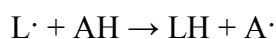
- να είναι διαθέσιμο σε χαμηλό κόστος
- να μην είναι τοξικό
- να είναι αποτελεσματικό σε χαμηλές συγκεντρώσεις
- να μην προκαλεί αλλαγές στο χρώμα, τη γεύση και την οσμή του τροφίμου
- να ενσωματώνεται εύκολα στο τρόφιμο
- να είναι σταθερό στο τελικό προϊόν
- να διατηρεί τα χαρακτηριστικά του μετά από την επεξεργασία

Η αποτελεσματικότητα των αντιοξειδωτικών έναντι της οξείδωσης των τροφίμων εξαρτάται από τη συγκέντρωσή τους, την πολικότητά τους, καθώς και από την παρουσία άλλων αντιοξειδωτικών (Choe & Min, 2009). Ανάλογα με το μηχανισμό της δράσης τους διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: τα πρωτογενή (primary or chain-breaking) και τα δευτερογενή (secondary or preventive). Επίσης, υπάρχει και μία άλλη ταξινόμηση, η οποία κατηγοριοποιεί τα αντιοξειδωτικά σε φυσικά και συνθετικά (Gunstone, 1996).

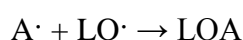
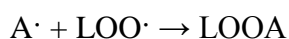
2.1 Κατηγορίες αντιοξειδωτικών

2.1.1 Πρωτογενή αντιοξειδωτικά (primary or chain-breaking)

Τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά (AH) επηρεάζουν την πορεία της οξείδωσης αντιδρώντας με τις ελεύθερες ρίζες που παράγονται. Συγκεκριμένα, όταν υπάρχουν σε ίχνη, μπορούν είτε να καθυστερήσουν ή να αναστείλουν το στάδιο της έναρξης της οξείδωσης αντιδρώντας με μια ελεύθερη ρίζα είτε να αναστείλουν το στάδιο της διάδοσης αντιδρώντας με υπεροξειδικές ($\text{LOO}\cdot$) ή αλκοξειδικές ρίζες ($\text{LO}\cdot$), δίνοντας ένα άτομο υδρογόνου, όπως φαίνεται και στις αντιδράσεις:



Η ελεύθερη ρίζα του αντιοξειδωτικού (A·) που σχηματίζεται, μπορεί να επέμβει περαιτέρω στις αλυσιδωτές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στο στάδιο της διάδοσης, αντιδρώντας με υπεροξειδικές και αλκοξειδικές ρίζες και να παράγουν ενώσεις με το αντιοξειδωτικό. Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα με τη ρίζα του αντιοξειδωτικού παρατίθενται παρακάτω.



Μια μεγάλη ομάδα ουσιών που ανήκουν στα πρωτογενή αντιοξειδωτικά αποτελούν οι φαινολικές ενώσεις. Πρόκειται για υδροξυλιωμένα παράγωγα των αρωματικών υδρογονανθράκων που περιέχουν ένα ή περισσότερα υδροξύλια σε αντικατάσταση ισάριθμων υδρογόνων, συνδεδεμένων με τα άτομα άνθρακα του βενζολικού δακτυλίου. Σημειώνεται ότι τα βενζολικά παράγωγα που περιέχουν υδροξύλιο σε αντικατάσταση υδρογόνου της πλευρικής αλυσίδας ονομάζονται αρωματικές αλκοόλες και όχι φαινόλες. Οι φαινολικές ενώσεις συμπεριλαμβάνουν φυσικά και συνθετικά αντιοξειδωτικά, όπως αναπτύσσεται και στη συνέχεια.

Η αποτελεσματικότητα του αντιοξειδωτικού, δηλαδή η ικανότητά του να προσφέρει υδρογόνο στις ρίζες, αυξάνεται καθώς μειώνεται η ενέργεια διάσπασης των δεσμών A-H του αντιοξειδωτικού. Η ενέργεια διάσπασης του δεσμού A-H των φαινολικών αντιοξειδωτικών επηρεάζεται από το διαλύτη. Συγκεκριμένα, είναι υψηλότερη σε πολικούς διαλύτες (π.χ. ακετονιτρίλιο) από ότι σε μη πολικούς. Επιπροσθέτως, η ενέργεια διάσπασης του δεσμού A-H στις φαινολικές ενώσεις παρέχει μια πρόβλεψη για τη σταθερότητα της ρίζας του αντιοξειδωτικού που παράγεται. Όσο χαμηλότερη είναι αυτή η ενέργεια τόσο πιο σταθερή είναι η αντιοξειδωτική ρίζα (Choe & Min, 2009, Antolovich & others, 2001). Ωστόσο, η δραστηριότητα ενός αντιοξειδωτικού στην ελεύθερη ρίζα, ή αλλιώς η σταθερά ρυθμού της αντίδρασης μεταξύ αντιοξειδωτικού και ελεύθερης ρίζας, δε συνάδει πάντα με την ικανότητα του αντιοξειδωτικού να επιβραδύνει την οξείδωση. Συγκεκριμένα, μερικά συνθετικά φαινολικά αντιοξειδωτικά, ενώ διαθέτουν υψηλή δραστηριότητα στο να αντιδρούν με ελεύθερες ρίζες, δείχνουν μια μέτρια αποτελεσματικότητα έναντι της οξείδωσης, που πιθανώς οφείλεται στην υψηλή χημική δράση των παραγόμενων φαινοξυ-ριζών (Roginsky & Lissi, 2005).

2.1.2 Δευτερογενή αντιοξειδωτικά (secondary or preventive)

Τα δευτερογενή αντιοξειδωτικά δρουν με διάφορους μηχανισμούς, όπως με τη δέσμευση ιόντων μετάλλων, τη δέσμευση οξυγόνου και καθυστερώντας το ρυθμό

έναρξης των αλυσιδωτών αντιδράσεων μετατρέποντας τα υδροϋπεροξειδία σε σταθερά προϊόντα που δεν περιέχουν ασύζευκτα ηλεκτρόνια (Shahidi & Others, 1992, Antolovich & others, 2001). Στη συνέχεια αναφέρονται μερικά αντιοξειδωτικά που κατατάσσονται στην κατηγορία των δευτερογενών αντιοξειδωτικών.

Παραδείγματα δευτερογενών αντιοξειδωτικών συνιστούν το θειοδιπροπιονικό οξύ (thiodipropionate acid) και το διλαυρυλικό θειοδιπροπιονικό οξύ (dilauryl thiodipropionate acid) (Shahidi & others, 1992). Το θείο, οι θειόλες, τα σουλφίδια και τα δισουλφίδια αποτελούν ενεργούς παρεμποδιστές της οξείδωσης και ανήκουν στην κατηγορία των δευτερογενών αντιοξειδωτικών. Επίσης, το σελήνιο και οι ενώσεις του διασπύουν τα υδροϋπεροξειδία σε σταθερά τελικά προϊόντα και έτσι δε συμμετέχουν στις αντιδράσεις που ακολουθούν προς την παραγωγή πτητικών ενώσεων.

Τα φωσφολιπίδια αποτελούν δευτερογενή αντιοξειδωτικά και προστατεύουν τα εδώδιμα έλαια από την οξείδωση διασπώντας τα υδροϋπεροξειδία αλλά και συμμετέχοντας σε διεργασίες σχηματισμού χηλικών συμπλόκων με ίχνη μετάλλων. Εκτός από τα φωσφολιπίδια, πολλοί ακόμα χηλικοί παράγοντες μετάλλων υπάρχουν στα τρόφιμα, όπως το φωσφορικό, κιτρικό, τρυγικό και ασκορβικό οξύ.

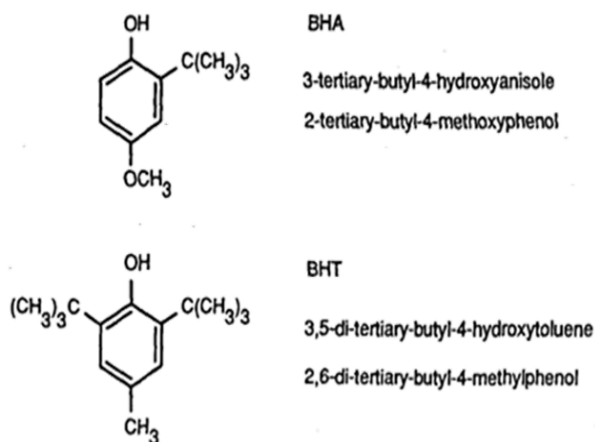
Τα ένζυμα έχουν αξιολογηθεί ως νέα είδη αντιοξειδωτικών στα τρόφιμα. Για παράδειγμα, η υπεροξειδική δισμουτάση (Superoxide Dismutase, SOD) καταλύει την αποσύνθεση του ανιόντος υπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$), ενώ το ένζυμο της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης σεληνίου (Seleno enzyme Glutathione peroxidase, GSH) καταλύει την αναγωγή των υδροϋπεροξειδίων παράγοντας γλουταθειόνη (Pokorny & others, 2001).

2.1.3 Συνθετικά αντιοξειδωτικά

Τα κύρια συνθετικά αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται είναι φαινολικές ενώσεις. Μερικά από τα πιο δημοφιλή είναι: το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT-Butylated hydroxytoluene), η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA-Butylated hydroxyanisole), η τεταρτοταγής βουτυλιωμένη υδροκινόνη (TBHQ-tert-Butylhydroquinone) και οι εστέρες γαλλικού οξέος (π.χ. προπυλεστέρας του γαλλικού οξέος, PG-propyl gallate) (Antolovich & others, 2001, Pokorny & others, 2001). Τα αντιοξειδωτικά αυτά ανήκουν στην κατηγορία των πρωτογενών αντιοξειδωτικών (Gunstone, 1996).

Η χρήση των συνθετικών αντιοξειδωτικών ρυθμίζεται από τις κυβερνήσεις των χωρών, μέσω νομοθεσιών για τη χρήση των πρόσθετων στα τρόφιμα. Οι κανονισμοί για τα επιτρεπόμενα όρια των αντιοξειδωτικών διαφέρουν από χώρα σε χώρα. Το TBHQ ενώ χρησιμοποιείται στις Η.Π.Α., έχει απαγορευτεί στις ευρωπαϊκές χώρες (Shahidi & others, 1992, González, 1998).

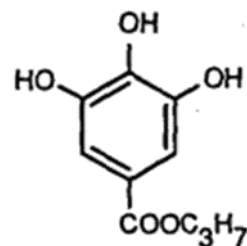
Τα BHA και BHT είναι εξαιρετικά διαλυτά σε λίπη και αδιάλυτα στο νερό. Είναι αρκετά σταθερά στη θερμότητα και για αυτό συχνά χρησιμοποιούνται για τη σταθεροποίηση των λιπών σε ψημένα και τηγανισμένα προϊόντα (Pokorny & others, 2001, Gunstone, 1996). Οι δομές τους απεικονίζονται στο Σχήμα 2.1. Τα BHA και BHT είναι σημαντικά πρόσθετα σε υλικά που χρησιμοποιούνται για τη συσκευασία των τροφίμων, καθώς είναι ικανά να μεταναστεύουν στο τρόφιμο (Shahidi & others, 1992). Το BHT είναι καταλληλότερο για την προστασία ζωικών λιπιδίων παρά φυτικών. Επιπλέον, είναι ιδιαίτερα χρήσιμο και το πλέον κατάλληλο για



Σχήμα 2.1: Δομή των συνθετικών αντιοξειδωτικών BHA και BHT

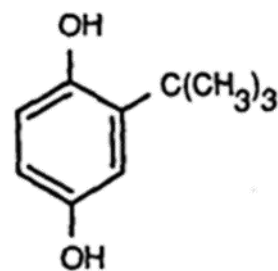
την προστασία της οσμής και του χρώματος των αιθέριων ελαίων, ενώ είναι και αρκετά αποτελεσματικό στον έλεγχο της οξείδωσης λιπαρών οξέων με μικρή ανθρακική αλυσίδα. Κάποια αντιοξειδωτικά, όπως τα BHA και BHT, χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό παρέχοντας συνεργιστικά αποτελέσματα. Το BHA είναι συνεργιστικό με το PG (Pokorny & others, 2001, Gunstone, 1996). Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αντιοξειδωτικών μπορεί να είναι συνεργιστικές, ανταγωνιστικές ή προσθετικές. Ως συνέργεια ορίζεται το φαινόμενο κατά το οποίο η αντιοξειδωτική δράση της συνδυασμένης χρήσης δύο ή περισσότερων αντιοξειδωτικών είναι υψηλότερη σε σχέση με το αποτέλεσμα του αθροίσματος των μεμονωμένων αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων. Αντίθετα, στον ανταγωνισμό η αντιοξειδωτική δράση περισσότερων του ενός αντιοξειδωτικού είναι μικρότερη από εκείνη που παρέχει το άθροισμα των επιμέρους αντιοξειδωτικών, ενώ στις προσθετικές αλληλεπιδράσεις το αποτέλεσμα είναι του ίδιου βαθμού (Choe & Min, 2009).

Το PG, του οποίου η χημική δομή φαίνεται στο Σχήμα 2.2, είναι λιγότερο διαλυτό από τα BHA και BHT, και δεν είναι κατάλληλο για διαδικασίες μαγειρέματος, καθώς οι εστέρες του γαλλικού οξέος παρουσιάζουν ευαισθησία στις υψηλές θερμοκρασίες (Gunstone, 1996). Το PG είναι ελάχιστα διαλυτό στο νερό. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να παρεμποδίσει την οξείδωση φυτικών ελαίων, ζωικών λιπών, προϊόντων κρέατος συμπεριλαμβανομένων νωπών και κατεψυγμένων αλλαντικών και snacks. Επίσης, είναι ένα αντιοξειδωτικό αρκετά αποτελεσματικό για την προστασία ξηρών φυτικών ελαίων (Shahidi & others, 1992).



Σχήμα 2.2: Δομή του PG

Το πιο κατάλληλο αντιοξειδωτικό για τα φυτικά έλαια είναι το TBHQ. Το TBHQ έχει καλή διαλυτότητα και είναι σταθερό σε υψηλές θερμοκρασίες (Gunstone, 1996). Θεωρείται το ιδανικό αντιοξειδωτικό για την προστασία ελαίων τηγανίσματος. Είναι επαρκώς διαλυτό σε λίπη και δε συμπλοκοποιείται με σίδηρο ή χαλκό, όπως παρατηρείται στο PG. Επίσης, δεν αποχρωματίζει τα επεξεργασμένα τρόφιμα. Χρησιμοποιείται μόνο του ή σε συνδυασμό με το BHA ή το BHT, αλλά όχι με το PG (Shahidi & others, 1992). Στο Σχήμα 2.3 παριστάνεται η δομή του TBHQ.



Σχήμα 2.3: Χημική δομή του TBHQ

Τα συνθετικά αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων και περιλαμβάνονται στη διατροφή του ανθρώπου. Ωστόσο, από το 1980 έχουν εμφανιστεί τα φυσικά αντιοξειδωτικά και η χρήση τους φαίνεται συνεχώς να αυξάνεται. Αυτό οφείλεται στις ανησυχίες σχετικά με την ασφάλεια των συνθετικών αντιοξειδωτικών. Πρόσφατες μελέτες έχουν αποδείξει την τοξικότητα ορισμένων συνθετικών αντιοξειδωτικών (Antolovich & others, 2001, Pokorny & others, 2001), ενώ υπάρχουν θεωρίες για τη δράση τους ως υποκινητές της καρκινογένεσης (Milos & others, 2000).

2.1.4 Φυσικά αντιοξειδωτικά

Τα φυσικά αντιοξειδωτικά παρέχουν παρόμοια ή ακόμα και υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση από τα συνθετικά (Antolovich & Others, 2001). Έχουν το πλεονέκτημα ότι είναι γενικά αποδεκτά από τους καταναλωτές, καθώς θεωρούνται ως “μη χημικά”. Ως μειονέκτημά τους θεωρείται το γεγονός ότι είναι ακριβότερα από τα συνθετικά (Fasseas & others, 2008, Gunstone, 1996).

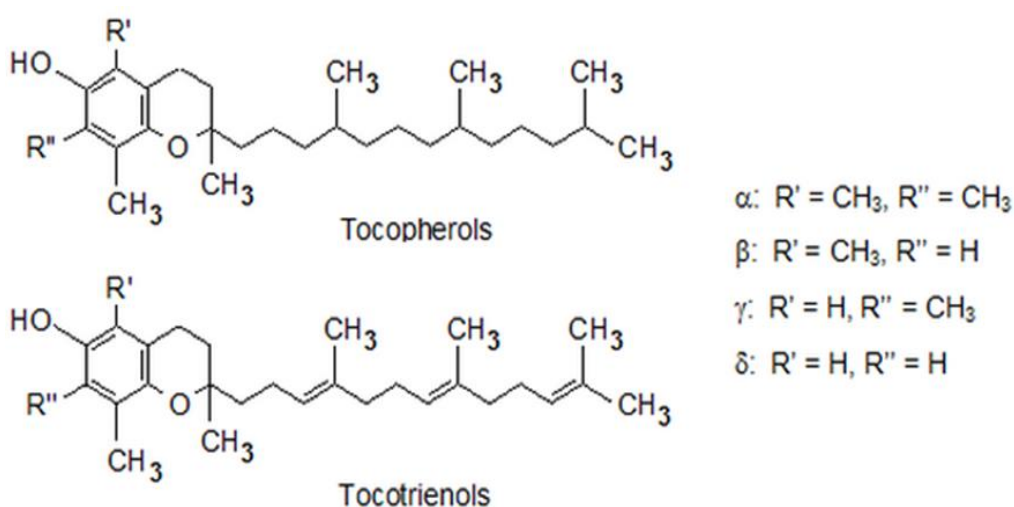
Φυσικά αντιοξειδωτικά βρίσκονται σε φυτικούς και ζωικούς ιστούς. Η πλειοψηφία τους είναι φαινολικές ενώσεις με τις κυριότερες ουσίες να αποτελούν οι τοκοφερόλες, τα φλαβονοειδή και τα φαινολικά οξέα.

Τοκοφερόλες

Οι τοκοφερόλες, οι οποίες βρίσκονται σε πολλά τρόφιμα, είναι τα πιο γνωστά και ευρέως χρησιμοποιούμενα αντιοξειδωτικά. Είναι μονοφαινολικά συστατικά. Μπορούν να διακριθούν σε τοκόλες και τοκοτριενόλες, όπου και οι δύο ομάδες συναντώνται σε τέσσερα ισομερή (α, β, γ, δ), ανάλογα με τον αριθμό και τη θέση των μεθυλομάδων στον αρωματικό δακτύλιο. Στις τοκόλες, οι οποίες αναφέρονται ως τοκοφερόλες, η πλευρική ανθρακική αλυσίδα είναι κορεσμένη, ενώ στις τοκοτριενόλες ακόρεστη. Η δομή των τεσσάρων ισομερών φαίνεται στο Σχήμα 2.4. Οι τοκοφερόλες λειτουργούν ως αντιοξειδωτικά προσφέροντας ένα υδρογόνο από την υδροξυλική ομάδα τους στις ελεύθερες ρίζες των λιπιδίων (Pokorny & others, 2001).

Οι τοκοφερόλες αποτελούν τα πιο σημαντικά αντιοξειδωτικά για τα εδάδια λιπική και έλαια, καθώς είναι πολύ διαλυτά στη λιπαρή ύλη. Συναντώνται πιο συχνά σε φυτικά έλαια (κυρίως σογιέλαιο, ηλιέλαιο, αραβοσιτέλαιο, φοινικέλαιο) παρά σε ζωικά. Τα περισσότερα φυτικά έλαια περιέχουν τοκοφερόλες σε συγκέντρωση υψηλότερη των 500 ppm. Το φοινικέλαιο περιέχει τοκοφερόλες σε επίπεδα 100-150 ppm και τοκοτριενόλες 620-650 ppm (Choe & Min, 2009).

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των τοκοφερολών αυξάνεται με την εξής σειρά: $\alpha < \beta < \gamma < \delta$ (Shahidi & others, 1992, Pokorny & others, 2001), ενώ εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη συγκέντρωσή τους στη λιπαρή ύλη. Η α -τοκοφερόλη σε τριγλυκερίδια κραιβέλαιου ήταν πιο αποτελεσματική από την γ -τοκοφερόλη σε χαμηλές περιεκτικότητες (≤ 50 $\mu\text{g/g}$), ενώ σε υψηλές περιεκτικότητες (> 100 $\mu\text{g/g}$) αποδείχθηκε πιο αποτελεσματική η γ -τοκοφερόλη έναντι της α -τοκοφερόλης (Pokorny & others, 2001). Αντίστοιχα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στο ηλιέλαιο. Η αντιοξειδωτική δράση των τοκοφερολών παρατηρείται κυρίως στα λιπίδια που περιέχουν μικρές ποσότητες αντιοξειδωτικών. Σε υψηλές συγκεντρώσεις, οι τοκοφερόλες εμφανίζουν προ-οξειδωτική δράση. Για παράδειγμα, η α -τοκοφερόλη έχει εμφανίσει προ-οξειδωτική δράση σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες του 0.01% κατά τα αρχικά στάδια αυτοοξειδωσης αραβοσιτελαίου και ελαιολάδου (Pokorny & others, 2001).



Σχήμα 2.4: Δομή των τεσσάρων δομών τοκοφερολών και τοκοτριενολών

Φλαβονοειδή

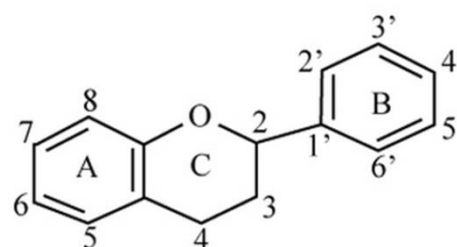
Τα φλαβονοειδή αποτελούν μια ομάδα φαινολικών ουσιών, οι οποίες συναντώνται ευρέως στο φυτικό βασίλειο, σε σημαντικές ποσότητες (0.5-1.5%) (Jovanovic, 1994). Μέχρι σήμερα έχουν εντοπιστεί πάνω από 9000 διαφορετικά φλαβονοειδή. Βρίσκονται σε πολλά φρούτα, λαχανικά, ξηρούς καρπούς, σπόρους και βότανα (Hernández & others, 2009, Shahidi, 1997). Επίσης, ποτά που

παρασκευάζονται από φυτικά εκχυλίσματα (π.χ. μπύρα, τσάι, κρασί, χυμός φρούτων) αποτελούν την κύρια πηγή πρόσληψης φλαβονοειδών (Malesev, 2007).

Λόγω της αντιοξειδωτικής τους δράσης, προσφέρουν πολλές ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η ικανότητά τους να αναστέλλουν την οξείδωση της LDL χοληστερίνης, με αποτέλεσμα να επιδεικνύουν μοναδική καρδιοπροστατευτική δράση (Heim & others, 2002). Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί πως έχουν αντιφλεγμονώδη, αγγειοδιασταλτική, αντιαλλεργική, ανοσοδιεγερτική και αντι-ική δράση (Rice-Evans & others, 1996).

Σε πρόσφατες μελέτες, η ικανότητα των φλαβονοειδών να αδρανοποιούν οργανικές υπεροξειδικές ρίζες βρέθηκε να είναι τουλάχιστον συγκρίσιμη, αν όχι και μεγαλύτερη, σε σχέση με συνθετικά φαινολικά αντιοξειδωτικά, όπως τα BHT και BHA (Jovanovic, 1994).

Η χημική δομή τους χαρακτηρίζεται από έναν σκελετό C₆-C₃-C₆. Συγκεκριμένα, αποτελούνται από δύο αρωματικούς δακτυλίους (A και B), που συνδέονται με μια γέφυρα τριών ατόμων άνθρακα, η οποία συνήθως σχηματίζει ένα δακτύλιο πυρανίου (C), όπως φαίνεται στο Σχήμα 2.5. Τα φλαβονοειδή ανάλογα με τη δομή της ανθρακικής γέφυρας διακρίνονται στις εξής υποομάδες: φλαβόνες, φλαβονόλες, ισοφλαβόνες, φλαβονόνες και χαλκόνες. Οι φλαβονόλες και οι φλαβόνες βρίσκονται σχεδόν σε κάθε φυτό, και ιδιαίτερα στα φύλλα και τα πέταλα, με τις πρώτες να συναντώνται πιο συχνά. Η δομή των κυριότερων ομάδων απεικονίζεται στο Σχήμα 2.6.



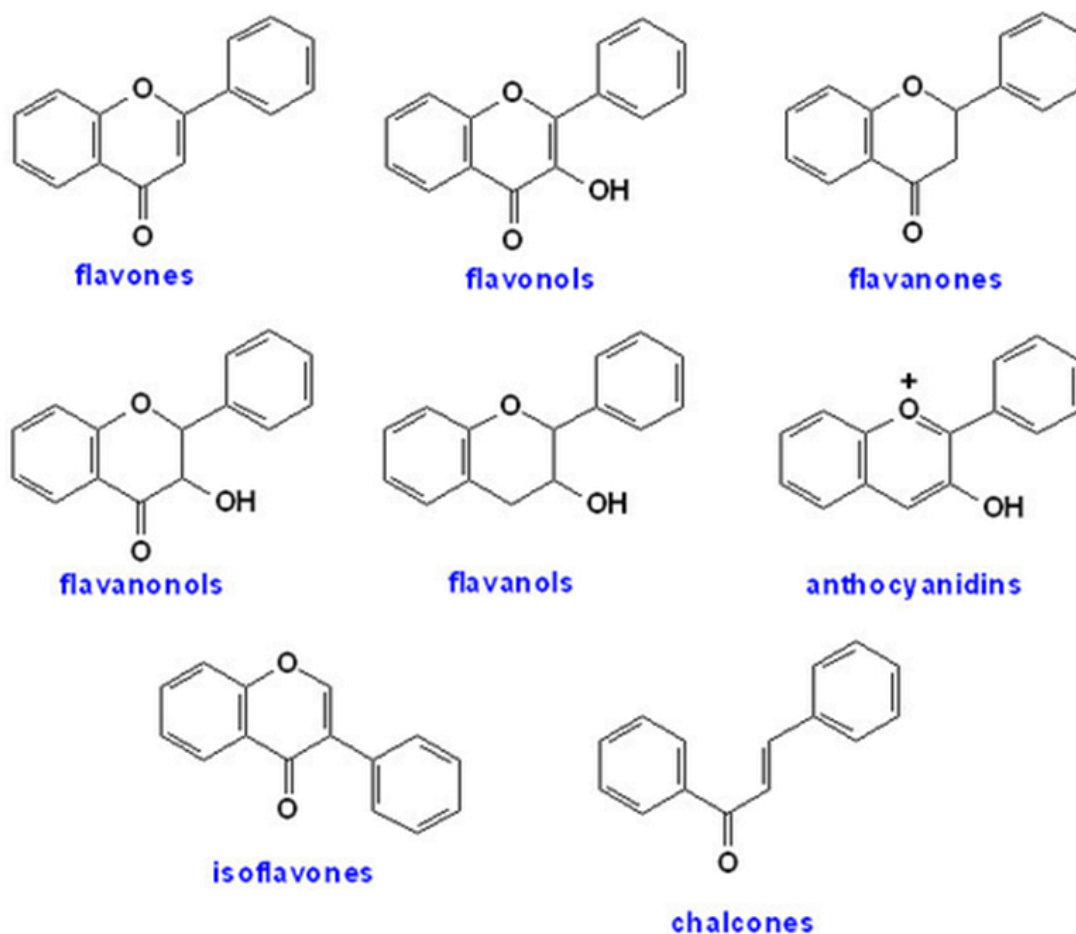
Σχήμα 2.5: Βασική δομή φλαβονοειδούς

Τα φλαβονοειδή δρουν ως αντιοξειδωτικά κυρίως παγιδεύοντας ρίζες οι οποίες περιλαμβάνουν ανιόντα υπεροξειδίου (O₂⁻), υπεροξειδικές ρίζες των λιπιδίων (LOO[·]) και ρίζες υδροξυλίου (OH[·]) (Pokorny & Others, 2001). Άλλοι μηχανισμοί επιλεγμένων φλαβονοειδών περιλαμβάνουν αποδιέγερση του οξυγόνου απλής διεγερμένης κατάστασης (singlet oxygen quenching) και χηλίωση μετάλλων (metal chelation).

Έχει αποδειχθεί πως τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση παρέχουν τα φλαβονοειδή με την εξής δομή (Pokorny & others, 2001):

- α. 3'-4'-διυδροξυδική δομή στο B-δακτύλιο
- β. 2,3-διπλό δεσμό σε συνδυασμό με μια 4-οξο-ομάδα (ομάδα =O στη θέση 4) στο C-δακτύλιο
- γ. παρουσία μιας 3-υδροξυλικής ομάδας στο C-δακτύλιο και μιας 5-υδροξυλικής ομάδας στον A-δακτύλιο

Σύμφωνα με τους Rice-Evans & Others (1997) ισχυρή αντιοξειδωτική δράση προσφέρει και η δομή μετα-5,7-διυδροξυδικής ομάδας στον Α-δακτύλιο (π.χ. καμπφερόλη).



Σχήμα 2.6: Κύριες κατηγορίες φλαβονοειδών

Φαινολικά οξέα

Τα φαινολικά οξέα απαντώνται ευρέως σε όλα τα φυτά. Το ροσμαρινικό, καφεϊκό, π-κουμαρικό, φερουλικό, σιναπικό, χλωρογενικό, συριγγικό, βανιλλικό, π-υδροξυβενζοϊκό και 3,4-διυδροξυβενζοϊκό καθιστούν μερικά από τα πιο σημαντικά φαινολικά οξέα.

Η θέση και ο βαθμός της υδροξυλίωσης είναι σημαντικοί παράγοντες της αντιοξειδωτικής ικανότητας των φαινολικών οξέων. Σύμφωνα με μελέτες, τα μονοφαινολικά φαίνεται να είναι λιγότερο αποτελεσματικά από τα πολυφαινολικά. Η εισαγωγή μιας δεύτερης υδροξυλομάδας στην όρθο (π.χ. καφεϊκό) ή στην πάρα θέση (π.χ. πρωτοκατεχουϊκό οξύ) αυξάνει την αντιοξειδωτική δράση, κάνοντας τα φαινολικά αυτά οξέα πιο αποτελεσματικά από τα αντίστοιχα μονοφαινολικά π-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ και π-κουμαρικό οξύ. Επιπροσθέτως, φάνηκε πως η αντιοξειδωτική δράση των μονοφαινολών αυξάνεται σημαντικά με ένα ή δύο μεθοξυ-

υποκαταστάτες στις όρθο θέσεις του υδροξυλίου. Για παράδειγμα, το σιναπικό οξύ είναι πιο αποτελεσματικό από το φερουλικό, το οποίο με τη σειρά του δείχνει καλύτερη αντιοξειδωτική δράση από το π-κουμαρικό, ενώ το συριγγικό είναι πιο αποτελεσματικό από το βανιλικό και το π-υδροξυβενζοϊκό οξύ (Pokorny & others, 2001, Rice-Evans & others, 1996).

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των φαινολικών οξέων εξαρτάται από το pH. Εμφανίζουν καλή αποτελεσματικότητα σε pH που κυμαίνεται μεταξύ των τιμών 7-8. Η χρήση των φαινολικών οξέων ως αντιοξειδωτικά σε έλαια είναι περιορισμένη λόγω των προβλημάτων της διαλυτότητάς τους (Choe & Min, 2009).

Αναφέρεται πως η α-τοκοφερόλη με το ροσμαρινικό ή το καφεϊκό οξύ και η κατεχίνη με το καφεϊκό οξύ δρουν ως ανταγωνιστικά αντιοξειδωτικά (Choe & Min, 2009).

2.2 Αρωματικά φυτά ως πηγές αντιοξειδωτικών

Τα αρωματικά φυτά έχουν μία μακρά ιστορία ως προς τη θεραπευτική τους χρήση. Οι ευεργετικές τους ιδιότητες ήταν γνωστές από τους αρχαίους χρόνους. Οι Έλληνες, οι Κινέζοι, οι Αιγύπτιοι αναγνώριζαν την αξία τους. Ο πατέρας της Ιατρικής, Ιπποκράτης, είχε ασχοληθεί με τις θεραπευτικές ιδιότητες των φυτών. Οι ευεργετικές ιδιότητες των αρωματικών φυτών αποδίδονται κυρίως στη σύστασή τους σε πολυφαινόλες και κατ' επέκταση στην αντιοξειδωτική τους δράση. Η αντιοξειδωτική αυτή ικανότητά τους, οδήγησε τους ερευνητές στην αναζήτηση αρωματικών φυτών ωφέλιμων για την υγεία του ανθρώπου, καθώς και σε μελέτες για τη δυνατότητα της χρήσης τους για την επέκταση της διάρκειας ζωής των λιπαρών τροφίμων (Dorman & others, 2003). Σήμερα, οι παραδοσιακές πρακτικές με χρήση φαρμακευτικών φυτών αποτελούν αναπόσπαστο μέρος της συμπληρωματικής ή εναλλακτικής ιατρικής, ενώ έχει διαπιστωθεί πως μια διατροφή πλούσια σε αρωματικά φυτά και στα κλάσματά τους μειώνει τον κίνδυνο για την ανάπτυξη διαφόρων ασθενειών, όπως καρκίνο, στεφανιαία νόσο, διαβήτη. Παρά τις εξαιρετικές προόδους στη συνθετική οργανική χημεία, πολλά αρωματικά φυτά εξακολουθούν να αποτελούν βασικό υλικό για την παρασκευή φαρμάκων (Tang & Halliwell, 2010, Surveswaran & others, 2007). Πολλές μελέτες έχουν υπάρξει σχετικά με τις αντιοξειδωτικές δράσεις διαφόρων αρωματικών φυτών.

Μια από τις κύριες οικογένειες αρωματικών φυτών της Ελλάδας αποτελεί η οικογένεια *Lamiaceae* (ή *Lamiatae* ή *χειλανθή*). Φύεται σε όλη την ελληνική επικράτεια και ευδοκimeί σε θερμά και ξηρά κλίματα. Περιλαμβάνει 180 γένη και 3500 είδη, ενώ τα μέλη της είναι φυτά ποώδη, ετήσια ή πολυετή, φρύγανα, θάμνοι και σπανίως δένδρα και αναρριχόμενα. Πολλά φυτά της συγκεκριμένης οικογένειας έχουν μελετηθεί ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση. Η ρίγανη (*Origanum vulgare*), το θυμάρι (*Thymus capitatus*) και το θρούμπι (*Satureja thymbra*) αποτελούν αρωματικά φυτά της οικογένειας *Lamiaceae* με μεγάλο ενδιαφέρον ως προς την

αντιοξειδωτική τους ικανότητα και τη χρήση τους σε λιπαρά τρόφιμα. Στη συνέχεια παρουσιάζονται πληροφορίες για τα τρία αυτά είδη αρωματικών φυτών.

2.2.1 Ρίγανη (*Origanum vulgare*)

Η ρίγανη αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά καρυκεύματα των τροφίμων. Πρόκειται για φυτό που χρησιμοποιείται ευρέως στη Νότια ευρωπαϊκή κουζίνα. Η ρίγανη (*Origanum vulgare*) είναι διαδεδομένη στην περιοχή της Μεσογείου, ενώ στην Ελλάδα συναντάται σε τρία είδη: *vulgare*, *viridulum* και *hirtum*. Το τελευταίο αναφέρεται και ως Greek oregano και εμφανίζεται στα περισσότερα μέρη της Ελλάδας με μεταβλητά μορφολογικά χαρακτηριστικά (Tsimogiannis & others, 2006).



Σχήμα 2.7: *Origanum vulgare-hirtum*

Η αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων της ρίγανης έχει διαπιστωθεί από πολλούς ερευνητές. Το είδος *Origanum hirtum* εξετάστηκε από τους Exarchou & others (2002) ως πιθανή πηγή φαινολικών αντιοξειδωτικών συστατικών. Το αιθανολικό και το ακετονικό εκχύλισμα του ξηραμένου φυτού φάνηκαν να έχουν αντιοξειδωτική ικανότητα κατά την αντίδρασή τους με τη ρίζα DPPH. Ως κύριο συστατικό και των δύο εκχυλισμάτων ανιχνεύτηκε το ροσμαρινικό οξύ, ενώ στο αιθανολικό εκχύλισμα εντοπίστηκε και καφεϊκό οξύ. Επίσης, ανιχνεύθηκαν και κάποια φλαβονοειδή, όπως απιγενίνη και λουτεολίνη. Επιπλέον, το υδατικό και το μεθανολικό εκχύλισμα του αρωματικού φυτού *Origanum vulgare* μελετήθηκε ως προς την αντιοξειδωτική του ικανότητα από τους Cervato & others (2000). Και τα δύο εκχυλίσματα ήταν αποτελεσματικά ως προς την παρεμπόδιση όλης της φάσης της υπεροξειδικής διαδικασίας, πρώτα μέσω της εξουδετέρωσης ελευθέρων ριζών, έπειτα μέσω παρεμπόδισης της οξειδωσης που καταλύεται από μέταλλα και τέλος μέσω της αναστολής των αλυσιδωτών αντιδράσεων των ριζών των λιπιδίων. Στα εκχυλίσματα από εξάνιο και μεθανόλη έχουν βρεθεί τα εξής κύρια φαινολικά συστατικά: πρωτοκατεχινικό οξύ και ένα φαινολικό γλυκοσίδιο του, καφεϊκό οξύ και ροσμαρινικό οξύ (Cervato & others, 2000). Εκχύλισμα του φυτού με φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα αναλύθηκε ως προς το φαινολικό του περιεχόμενο από τους Zheng & Wang (2001) και εξετάστηκε ως προς την ικανότητά του να αναστέλλει τη μείωση του R-PE φθορισμού που επάγεται από την υπεροξειδική ρίζα AAPH, ως προς τυφλό διάλυμα Trolox (διαλυτό στο νερό, ανάλογο της βιταμίνης E) σύμφωνα με τη μέθοδο Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay, ORAC. Έτσι, επιβεβαιώθηκε το υψηλό περιεχόμενο της ρίγανης σε φαινολικά συστατικά (11.80 ± 0.60 mg γαλλικού οξέος/g υγρού βάρους) και η εξαιρετικά σημαντική αντιοξειδωτική της δράση (64.71 ± 1.05 μmol ισοδύναμα Trolox/g υγρού βάρους). Οι Lagouri & Boskou (1996) επιβεβαίωσαν την ύπαρξη τοκοφερολών σε ξηρά φύλλα

και στο εκχύλισμα από εξάνιο του φυτού, με την μορφή της γ-τοκοφερόλης να κυριαρχεί (550 ppm και 0.71%, αντίστοιχα).

Η ρίγανη έχει κερδίσει το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών ως ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό σε λιπαρά ύλες. Οι Vekiaris & others (1993) παρασκευάζοντας διάφορα εκχυλίσματα του αρωματικού φυτού *Origanum vulgare* διαπίστωσαν ότι το εκχύλισμα του διαιθυλαιθέρα ήταν το πιο αποτελεσματικό στη σταθεροποίηση ζωικού λίπους έναντι της οξειδωσης. Επίσης, φάνηκε να έχει αντιοξειδωτική δράση σε φυτικά έλαια σε συνθήκες αποθήκευσης ή τηγανίσματος. Ακετονικό εκχύλισμα του ξηραμένου αρωματικού φυτού *Origanum vulgare* παρουσίασε αντιοξειδωτική δράση κατά την ενσωμάτωσή του σε ηλιέλαιο σε επίπεδο προσθήκης 600 ppm, καθώς και σε γαλάκτωμά του 20% ο/w, τα οποία υποβλήθηκαν σε επιταχυνόμενη οξειδωση στους 60 °C. Ωστόσο, μέσω προσδιορισμού του αριθμού συζυγών διενίων και πτητικών ενώσεων, αποδείχθηκε πως η αποτελεσματικότητά του στο γαλάκτωμα ήταν χαμηλότερης έκτασης σε σχέση με εκείνη που παρατηρήθηκε στο έλαιο (Abdalla & Roozen, 1999). Σε μελέτη των Houhoula & others (2003), σκόνη ρίγανης και αιθανολικό εκχύλισμα του φυτού εξετάστηκαν ως προς την προστασία βαμβακέλαιου που χρησιμοποιήθηκε για τηγάνισμα chips πατάτας σε συγκέντρωση 2000 ppm το καθένα. Διαπιστώθηκε η μείωση του ρυθμού αύξησης των δεικτών οξειδωσης (αριθμού υπεροξειδίων, συζυγών διενίων και τριενίων, π-ανισιδίνης και πολικών συστατικών) τόσο του τηγανισμένου ελαίου όσο και του τηγανισμένου προϊόντος κατά την αποθήκευσή του. Η σκόνη και το εκχύλισμα δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς τη δράση τους στην οξειδωση του ελαίου, ενώ κατά την αποθήκευση των chips πατάτας φάνηκε πως το αιθανολικό εκχύλισμα έδρασε πιο αποτελεσματικά στην οξειδωτική σταθερότητα του προϊόντος.

Το αιθέριο έλαιο της ρίγανης αναφέρεται πως εμφανίζει αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές και αντιμυκητιακές ιδιότητες (Jerkovic & others, 2001). Οι Lagouri & others (1992) εξέτασαν την αντιοξειδωτική δράση του αιθέριου ελαίου ξηραμένου αρωματικού φυτού *Origanum hirtum* κατά την προσθήκη τους σε ζωικό λίπος, το οποίο αποθηκεύτηκε στους 35 °C απουσία φωτός. Η προσθήκη του αιθέριου ελαίου σε επίπεδο 1000 mg/kg στο ζωικό λίπος, φάνηκε να παρέχει πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα προσδιορίζοντας τον αριθμό υπεροξειδίου (PV). Με ανάλυση του αιθέριου ελαίου με GC-MS διαπιστώθηκε το υψηλό περιεχόμενό του σε φαινολικά συστατικά, με τα κυριότερα να είναι η καρβακρόλη, η θυμόλη, το γ-τερπινένιο και το π-κυμένιο. Το αιθέριο έλαιο είναι ικανό να προστατεύσει από την οξειδωση προϊόντα κρέατος. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώθηκε και από τη μελέτη των Fasseas & others (2008), κατά την οποία εξετάστηκε η πορεία οξειδωσης ομογενοποιημένου κρέατος (βοδινού και χοιρινού) με αιθέριο έλαιο της ρίγανης σε περιεκτικότητα 3% w/w. Τα δείγματα κρέατος αποθηκεύτηκαν στους 4 °C ωμά και μαγειρεμένα. Με τη μέθοδο TBA, διαπιστώθηκε ότι το αιθέριο έλαιο μείωσε σημαντικά την οξειδωση και στις δύο καταστάσεις των προϊόντων κρέατος, με μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στη περίπτωση του μαγειρεμένου κρέατος. Έπειτα από ανάλυση του αιθέριου ελαίου με GC-MS, αποδείχθηκε ότι η σύστασή του εμφάνιζε παρόμοια εικόνα με προηγούμενες

μελέτες (θυμόλη 60.9%, π-κυμένιο 10.5%, γ-τερπινένιο 7.6% και καρβακρόλη 5.8%). Ωστόσο, από έρευνα των Economou & others (2011) παρατηρήθηκε ως κύριο συστατικό η καρβακρόλη (84.36-93.83%), ακολουθούμενη από το γ-τερπινένιο (1.31-4.90%), το π-κυμένιο (1.62-4.56%) και το καριοφυλένιο (0.96-3.79%), ενώ η θυμόλη δεν ανιχνεύτηκε. Οι διαφορές στη σύσταση οφείλονται στη διαφορετική προέλευση του φυτού, αφού για παράδειγμα ανάλογα με την περιοχή της Ελλάδας το είδος *Origanum hirtum* παρουσιάζει άλλα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά.

2.2.2 Θυμάρι (*Thymus capitatus*)

Το γένος *Thymus* είναι ιδιαίτερα διαδεδομένο στην περιοχή της Μεσογείου και αποτελείται από 215 είδη. Είναι πολύ ανθεκτικό φυτό και επιβιώνει κάτω από ακραίες κλιματολογικές συνθήκες όσον αφορά στη θερμοκρασία και στην παροχή νερού (Biskup & Saez, 2002). Το είδος *Thymus capitatus* διαθέτει αντιβακτηριακές, αντι-υικές, αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές και αντιμυκητιακές ιδιότητες (Jabri-Karoui & others, 2012). Τα αιθέρια έλαια και τα εκχυλίσματα πολλών ειδών του χρησιμοποιούνται ευρέως στη φαρμακευτική, στα καλλυντικά και στη διατήρηση διαφόρων προϊόντων τροφίμων (Ouariachi & others, 2011).



Σχήμα 2.8: *Thymus capitatus*

Οι Karoui & others (2012) προσδιόρισαν τη σύσταση μεθανολικού εκχυλίσματος του θυμαριού ως προς τα φαινολικά συστατικά του, καθώς και την αντιοξειδωτική του δράση. Τα αποτελέσματά τους ήταν αρκετά ελπιδοφόρα ως προς τη χρήση του συγκεκριμένου εκχυλίσματος ως πηγή φυσικού αντιοξειδωτικού σε τρόφιμα, προσδίδοντας του ένα υψηλό περιεχόμενο σε ολικά φαινολικά συστατικά (5.06 ± 0.73 mg γαλλικού οξέος/g ξηρού βάρους), ολικά φλαβονοειδή (10.62 ± 0.24 mg ισοδύναμα κατεχίνης/g ξηρού βάρους) και συμπυκνωμένες ταννίνες (0.66 ± 0.06 mg ισοδύναμα κατεχίνης/g ξηρού βάρους) και μια υψηλή συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα (12.42 ± 0.55 mg γαλλικού οξέος /g ξηρού βάρους). Οι κύριες ουσίες που ανιχνεύτηκαν ήταν η θυμόλη, το φερουλικό και το γαλλικό οξύ. Το αιθανολικό εκχύλισμα αποτελεί επίσης μια πιθανή πηγή φυσικού αντιοξειδωτικού σύμφωνα με τους Tabti & others (2014). Συγκρίνοντας την αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο DPPH των εκχυλισμάτων του φυτού με αιθανόλη και εξάνιο αλλά και του αιθέριου ελαίου προέκυψε η εξής σειρά δραστηριότητας: αιθέριο έλαιο < εκχύλισμα εξανίου << αιθανολικό εκχύλισμα.

Το αιθέριο έλαιο του θυμαριού είναι μεταξύ των δέκα κορυφαίων στον κόσμο και χρησιμοποιείται ως συντηρητικό για τα τρόφιμα (Jabri-Karoui & others, 2012). Τα κύρια συστατικά του σύμφωνα με τους Ouariachi & others (2011) είναι: το π-κυμένιο, η καρβακρόλη, ο οξικός γερανυλεστέρας και η βορνεόλη. Επιπλέον, τόσο το αιθέριο έλαιο, όσο και εκχυλίσματα του φυτού με διαιθυλαιθέρα και οξικό

αιθυλεστέρα έδειξαν αντιοξειδωτική ικανότητα κατά την αντίδρασή τους με τη ρίζα DPPH, με το τελευταίο να εμφανίζει την καλύτερη αποτελεσματικότητα. Διαφορετική σύσταση του αιθέριου ελαίου έχει αναφερθεί ανάλογα με τη γεωγραφική προέλευση του φυτού. Έτσι, ένα από τα κύρια συστατικά που μπορεί να εντοπιστεί είναι η καρβακρόλη ή η θυμόλη ή ακόμα και συνδυασμός των δύο συστατικών σε εξίσου σημαντικές ποσότητες. Οι Bounatirou & others (2007) αναφέρουν ως κύριες ουσίες του αιθέριου ελαίου την καρβακρόλη, το π-κυμένιο, το γ-τερπινένιο και το β-καρυοφυλλένιο. Επίσης, προσδιόρισαν την αντιοξειδωτική δράση αιθέριων ελαίων σε ποικίλες συγκεντρώσεις (100-1000 mg/L), μέσω της δραστηριότητάς τους στη χηλίωση μετάλλων, στην προσφορά ηλεκτρονίου ώστε να αντιδράσουν με ελεύθερες ρίζες, στη παγίδευση ελευθέρων ριζών (DPPH) και μέσω της μεθόδου TBARS. Κατέληξαν στο συμπέρασμα πως η αντιοξειδωτική δράση των αιθέριων ελαίων αυξανόταν με την αύξηση της συγκέντρωσής τους, με τη μέγιστη να παρουσιάζεται σε εύρος συγκεντρώσεων 500-1000 mg/L, ενώ σε όλες τις συγκεντρώσεις το αιθέριο έλαιο φάνηκε να μη δρα στη χηλίωση των μετάλλων. Σε μελέτη των Teixeira & others (2013) για την αντιοξειδωτική ικανότητα διαφόρων εμπορικών αιθέριων ελαίων, εκείνο του αρωματικού φυτού *Thymus capitatus* βρέθηκε να κατέχει τη δεύτερη θέση ως προς την αποτελεσματικότητά του έναντι της ρίζας DPPH, ενώ αναφέρεται η δράση του ως παρόμοια με την αντίστοιχη του συνθετικού αντιοξειδωτικού BHT.

Σύμφωνα με τους Karoui & others (2011), αποξηραμένο θυμάρι ήταν αποτελεσματικό έναντι της θερμικής οξείδωσης αραβοσιτελαίου από τους 25 στους 200 °C, προσφέροντας μια μικρή αύξηση του χρόνου επώασης του και μικρότερες τιμές στον αριθμό υπεροξειδίων, συζυγών διενίων και τριενίων, καθώς και χαμηλότερο περιεχόμενο σε ελεύθερα λιπαρά οξέα. Το εμπλουτισμένο έλαιο εμφάνισε υψηλότερη περιεκτικότητα σε χλωροφύλλες, καροτενοειδή και ολικές φαινόλες σε σχέση με το καθαρό, μεγαλύτερες εντάσεις κίτρινου και κόκκινου χρώματος, ενώ δε προσέφερε κάποιο θετικό αποτέλεσμα κατά τη δοκιμή τηγανίσματος chips πατάτας στους 180 °C. Επιπλέον, οι Ayadi & others (2009) μελέτησαν την επίδραση αποξηραμένων αρωματικών φυτών στη σταθερότητα ελαιόλαδου κατά τη θερμική οξείδωσή του στους 60 και στους 130 °C σε διάρκεια 55 days και 6 h, αντίστοιχα, σε επίπεδο προσθήκης τους 5% w/w και στις δύο περιπτώσεις. Με μέτρηση του αριθμού υπεροξειδίων, των συζυγών διενίων και τριενίων και το περιεχόμενο των ελαίων σε χλωροφύλλη, καροτενοειδή και πολυφαινόλες επιβεβαιώθηκε η καλή δράση του φυτού του γένους *Thymus*, με το *Rosemary* ωστόσο να το ξεπερνά, δείχνοντας καλύτερη αποτελεσματικότητα. Το *Thymus* και στο παρόν πείραμα επέφερε σημαντικές αλλαγές στο χρώμα του ελαιόλαδου, όπως παρατηρήθηκε και στη μελέτη με το αραβοσιτέλαιο. Αντίστοιχη δράση αποξηραμένου θυμαριού διέκριναν οι Bensmira & others (2007) σε θερμική οξείδωση ηλιέλαιου σε τρεις θερμοκρασίες τηγανίσματος (150, 180, 200 °C) με προσθήκη 3% w/v του φυτού, παρατηρώντας μείωση του αριθμού υπεροξειδίων, των περιεχόμενων ελευθέρων λιπαρών οξέων και του ιζώδες.

2.2.3 Θρούμπι (*Satureja thymbra*)

Τα είδη της *Satureja* απαντώνται, όπως και εκείνα των *Origanum* και *Thymus*, σε μεγάλο ποσοστό στις μεσογειακές χώρες. Έχουν βρεθεί περίπου 200 είδη (Tere, 2015). Μερικά από αυτά, όπως η *Satureja thymbra*, έχουν εμπορική σημασία λόγω της χρήσης τους ως μπαχαρικά. Το θρούμπι χαρακτηρίζεται από μια μυρωδιά παρόμοια με εκείνη της ρίγανης. Πρόκειται για ξυλώδες θάμνο που συναντάται σε ξηρές και βραχώδεις τοποθεσίες (Skoula, 2005). Τα είδη της *Satureja* έχουν ευρέως χρησιμοποιηθεί στην παραδοσιακή ιατρική. Βιβλιογραφική έρευνα δείχνει πως έχουν αντιβακτηριακές, αντιμυκητιακές, αντι-ικές και αναλγητικές ιδιότητες. Τα αιθέρια έλαιά τους χρησιμοποιούνται επίσης σε φαρμακευτικές και καλλυντικές βιομηχανίες (Öztürk, 2012).



Σχήμα 2.9: *Satureja thymbra*

Πολλές μελέτες έχουν διεξαχθεί για το αιθέριο έλαιο του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra*. Σύμφωνα με τη μελέτη των Lagouri & others (1992), επιβεβαιώθηκε η εξίσου καλή αντιοξειδωτική δράση του αιθέριου ελαίου του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra* με του *Origanum hirtum* που αναφέρθηκε. Η ενσωμάτωσή τους (1000 mg/kg) σε ζωικό λίπος, το οποίο αποθηκεύτηκε στους 35 °C απουσία φωτός και με μέτρηση του αριθμού υπεροξειδίων, διαπιστώθηκε πως τα δύο φυτά εμφάνισαν αντίστοιχη αποτελεσματικότητα. Τα κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου της *Satureja thymbra* ήταν ίδια με εκείνα της ρίγανης (καρβακρόλη, γ-τερπινένιο, π-κυμένιο), μόνο που στο θρούμπι εντοπίστηκε και α-καρνοφυλλένιο. Επιπλέον, τα δύο αιθέρια έλαια εμφάνισαν σημαντική διαφορά ως προς τη σύστασή τους σε θυμόλη (13.7% για τη ρίγανη, 0.1% για το θρούμπι). Οι Economou & others (2011) αναφέρουν παρόμοια αποτελέσματα ως προς τη σύσταση του αιθέριου ελαίου. Ο Öztürk (2012) ανίχνευσε 25 συστατικά στο αιθέριο έλαιο της *Satureja thymbra* με τα κυριότερα να είναι: καρβακρόλη (34.6%), γ-τερπινένιο (22.9%), π-κυμένιο (13.0%), θυμόλη (12.8%), β-θυμολη-μεθυλο-αιθέρας (4.40%) και β-καρνοφυλλένιο (3.69%). Επίσης, εντοπίστηκαν το α-τερπινένιο και η λιναλοόλη σε ποσοστά 2.33% και 1.67%, αντίστοιχα. Στη συγκεκριμένη έρευνα προσδιορίστηκε και η αντιοξειδωτική δράση τόσο του αιθέριου ελαίου όσο και του μεθανολικού εκχυλίσματος του φυτού. Με δοκιμές, όπως με τη δέσμευση της ρίζας DPPH και της ρίζας ABTS, το αιθέριο έλαιο και το μεθανολικό εκχύλισμα έδειξαν μια καλή ανασταλτική δραστηριότητα έναντι της οξειδωσης. Τα αποτελέσματα της σύστασης του αιθέριου ελαίου έρχονται σε συμφωνία με άλλες μελέτες, όπως για παράδειγμα με την έρευνα των Chorianoopoulos & others (2006), κατά την οποία φάνηκε πως ανεξάρτητα από την εποχή της συγκομιδής του φυτού, το άθροισμα των δύο ισομερών φαινολικών μονοτερπενίων καρβακρόλης και θυμόλης και των πρόδρομων ενώσεών τους π-κυμένιου και γ-τερπινένιου αντιπροσωπεύουν πάντα το μεγαλύτερο

μέρος του αιθέριου ελαίου. Η ισχυρή αντιοξειδωτική δράση του αιθέριου ελαίου έναντι τη ρίζας DPPH διαπιστώθηκε και από τους Giweli (2012).

Επιπροσθέτως, έχει επιβεβαιωθεί η ύπαρξη τοκοφερολών σε εκχύλισμα εξανίου και σε ξηρά φύλλα του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra*. Σύμφωνα με τους Lagouri & Boskou (1996), η περιεκτικότητα σε γ-τοκοφερόλη, που βρέθηκε να είναι η επικρατέστερη και όπως έχει αναφερθεί αποτελεί τη δεύτερη σε σειρά αποτελεσματικότερη, ανέρχεται σε ποσοστό 0.95% για το εκχύλισμα και 456 ppm για το ξηρό φυτό, σε σύγκριση με τις τιμές 0.71% και 500 ppm, που βρέθηκαν για τη ρίγανη, αντίστοιχα. Οι Skoula & others (2005) αναφέρουν συγκέντρωση φλαβονοειδών της τάξεως 3.26 mg/g ξηρού φυτού, με φλαβανόνες τις: ναρινγενίνη, αρωμαδενδρίνη, εριοδικτυόλη, ταξιφολίνη και κυριότερες φλαβόνες: λαδανεΐνη και 6-υδροξυ-λουτεολινο-7,3',4'-τριμεθυλο-αιθέρα.

Πολλά είδη της *Satureja* έχουν μελετηθεί ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση κατά την ενσωμάτωσή τους σε τρόφιμα, όπως σε λουκάνικα (Oliveira & others, 2012, Bozkurt, 2007). Χαρακτηριστικά αναφέρεται η μελέτη των Ozkan & others (2007), κατά την οποία το αιθέριο έλαιο του είδους *Satureja cilicica*, που είχε παρόμοια σύσταση με εκείνο της *Satureja thymbra* (θυμόλη-22.76%, καρβακρόλη-18.90%, π-κυμένιο-19.52% και γ-τερπινένιο-13.40%) ήταν αποτελεσματικό κατά την προσθήκη του σε περιεκτικότητα 0.5, 1.0 και 2.0% σε βούτυρο που αποθηκεύτηκε στους 4 και 20 °C. Με μέτρηση του αριθμού υπεροξειδίων διαπίστωσαν πως αυξανόμενης της περιεκτικότητας βελτιωνόταν και η δράση του αιθέριου ελαίου.

3. ΕΝΕΡΓΟΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ

3.1 Ορισμός ενεργού συσκευασίας

Οι παραδοσιακές συσκευασίες τροφίμων προορίζονται για τη μηχανική υποστήριξη των μη στερεών προϊόντων, καθώς και για την προστασία των τροφίμων από εξωτερικούς παράγοντες, όπως τους μικροοργανισμούς, το οξυγόνο, το φως, τις οσμές, κ.ά. Με αυτόν τον τρόπο, εξασφαλίζουν την ευκολία στο χειρισμό του τροφίμου και τη διατήρησή του για ένα χρονικό διάστημα. Νέες τεχνολογίες συσκευασίας αναπτύσσονται λόγω της απαίτησης των καταναλωτών και των βιομηχανιών για παρατεταμένη διάρκεια ζωής και ελεγχόμενη ποιότητα των προϊόντων. Κατά τις τελευταίες δεκαετίες, μία από τις πιο καινοτόμες εξελίξεις αποτελεί η ενεργός συσκευασία. Η λειτουργία της βασίζεται στη σκόπιμη αλληλεπίδρασή της με το τρόφιμο ή το περιβάλλον του τροφίμου (Dainelli D. & others, 2008). Συγκεκριμένα, αφορά στην ενσωμάτωση ορισμένων συστατικών σε συστήματα συσκευασίας, τα οποία απελευθερώνουν ή απορροφούν ουσίες από ή μέσα στο συσκευασμένο τρόφιμο ή το περιβάλλον του, έτσι ώστε να επιμηκυνθεί η διάρκεια ζωής του τροφίμου και να διατηρηθεί η ποιότητα, η ασφάλεια και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του (Realini & Marcos, 2014).

Η ανάπτυξη της τεχνολογίας της ενεργού συσκευασίας είναι αρκετά νέα, ωστόσο η ιδέα ανήκει σε προγονικές παραδόσεις των τροπικών χωρών του κόσμου. Σε περιοχές της Αφρικής, της Ασίας και της Νότιας Αμερικής, φύλλα φυτών χρησιμοποιούνταν πολύ για τη συσκευασία τροφίμων. Στις μεσογειακές χώρες της Ευρώπης, επίσης, έχουν χρησιμοποιηθεί για χρόνια τα φύλλα, για παράδειγμα για να τυλιχθούν παραδοσιακά τυριά, ώστε να επιτραπεί η καλή διαδικασία της ωρίμανσης. Σήμερα, η τεχνολογία της ενεργού συσκευασίας έχει αρχίσει να αναπτύσσεται ραγδαία στις αναπτυγμένες χώρες. Ωστόσο, η διείσδυση της στην ευρωπαϊκή αγορά είναι περιορισμένη μέχρι στιγμής, σε σύγκριση με άλλες, όπως της Ιαπωνίας, των Η.Π.Α. και της Αυστραλίας (Dainelli D. & others, 2008).

3.2 Κατηγορίες ενεργού συσκευασίας

Οι τεχνικές της ενεργού συσκευασίας για διατήρηση και βελτίωση της ποιότητας και της ασφάλειας των τροφίμων μπορούν να διαχωριστούν σε τρεις κατηγορίες: απορροφητικές ουσίες, απελευθερωτικά συστήματα και άλλες εφαρμογές. Οι δύο πρώτες κατηγορίες, ανάλογα με τη φυσική μορφή της ενεργού συσκευασίας, μπορεί να είναι θύλακες (σακουλάκια), ετικέτες ή μεμβράνες (Ahvenainen, 2003). Οι κύριες τεχνικές ενεργού συσκευασίας βασίζονται σε ουσίες, οι οποίες απορροφούν οξυγόνο, διοξείδιο του άνθρακα, αιθυλένιο, υγρασία, γεύσεις και οσμές και συστατικά που απελευθερώνουν διοξείδιο του άνθρακα, αντιοξειδωτικούς και αντιμικροβιακούς παράγοντες, καθώς και γεύσεις/οσμές (Vermeiren & others, 1999). Ακολουθεί περιγραφή των διαφόρων ειδών ενεργού συσκευασίας, σχετικά με το μηχανισμό της δράσης τους, την αποτελεσματικότητα και τις επιδράσεις τους στα τρόφιμα.

3.2.1. Δέσμευση οξυγόνου (Oxygen scavengers)

Η παρουσία οξυγόνου εντός της συσκευασίας ενός τροφίμου είναι ένας βασικός παράγοντας που περιορίζει τη διάρκεια ζωής του, καθώς είναι υπεύθυνο για διάφορα φαινόμενα υποβάθμισης, όπως οξειδωση των συστατικών του, πολλαπλασιασμό αερόβιων βακτηρίων και μυκήτων. Παρόλο που έχουν αναπτυχθεί αρκετές τεχνολογίες για την κατάλληλη συσκευασία των ευαίσθητων στο οξυγόνο τροφίμων (συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, συσκευασία κενού), οι τεχνικές αυτές δεν αφαιρούν πάντα εντελώς το οξυγόνο. Επιπλέον, το οξυγόνο που διαπερνά τη μεμβράνη της συσκευασίας, δεν είναι δυνατό να αφαιρεθεί με αυτές τις μεθόδους. Με τη χρήση ενός δεσμευτή οξυγόνου, ο οποίος απορροφά την εναπομείνουσα ποσότητα οξυγόνου μετά τη συσκευασία, οι αλλαγές στην ποιότητα των τροφίμων μπορούν να ελαχιστοποιηθούν (Vermeiren & others, 1999). Οι δεσμευτές οξυγόνου αναφέρεται ότι είναι ικανοί να μειώσουν την ποσότητα του οξυγόνου που έχει παραμείνει στη συσκευασία σε λιγότερο από 0.01% (Realini & Marcos, 2014). Μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνοι τους ή συχνότερα σε συνδυασμό με τις τεχνικές απομάκρυνσης του οξυγόνου. Έτσι, συνηθίζεται η απομάκρυνση του μεγαλύτερου μέρους του ατμοσφαιρικού οξυγόνου με μία μέθοδο όπως η MAP (συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα) και στη συνέχεια η χρήση ενός σχετικά μικρού και φτηνού δεσμευτή, ο οποίος θα απομακρύνει το εναπομείναν οξυγόνο στο εσωτερικό της συσκευασίας. Οι υπάρχουσες τεχνολογίες βασίζονται κυρίως στην οξειδωση σιδήρου, ασκορβικού οξέος, φωτοευαίσθητων χρωστικών, ενζυμικά καταλυόμενων οξειδώσεων (π.χ. γλυκόζης, αλκοόλης) και σε ακόρεστα λιπαρά οξέα (π.χ. ελαϊκό ή λινολενικό οξύ) ή ακινητοποιημένη ζύμη σε ένα στερεό υλικό (Realini & Marcos, 2014, Vermeiren & others, 1999).

Τα συστήματα παγίδευσης οξυγόνου εφαρμόζονται σε διάφορα τρόφιμα. Η χρήση τους σε προϊόντα κρέατος είναι ήδη εμπορικά διαθέσιμη (Realini & Marcos, 2014). Τα πρώτα συστήματα που αναπτύχθηκαν, αφορούσαν στον εγκλεισμό ενός δεσμευτή οξυγόνου σε σακουλάκι, το οποίο τοποθετούνταν εντός της συσκευασίας. Η τεχνολογία αυτή έχει χρησιμοποιηθεί σε πολλά τρόφιμα, όπως σε φρέσκα και προμαγειρεμένα ζυμαρικά, προϊόντα κρέατος, προϊόντα αρτοποιίας (π.χ. ψωμί, γλυκά), τυριά, καφέ, ξηρούς καρπούς και chips πατάτας (Vermeiren & others, 1999). Η εξέλιξη των συστημάτων παγίδευσης οξυγόνου οδήγησε στη μορφή των ετικετών δέσμευσης οξυγόνου, οι οποίες είναι σε θέση να απορροφούν υψηλά επίπεδα οξυγόνου. Η τάση στις εμπορικές εφαρμογές έχει στραφεί στην ενσωμάτωση της ουσίας στο ίδιο το υλικό συσκευασίας, ώστε να αποφευχθεί η αρνητική αντίληψη του καταναλωτή που προκαλείται από την παρουσία ενός μη βρώσιμου συστατικού στο τρόφιμο, εξαλείφοντας τον κίνδυνο θραύσης της σακούλας και κατάποσης του περιεχόμενου της. Συστατικά χαμηλού μοριακού βάρους διαλύονται ή διασπείρονται στο υλικό της συσκευασίας ή το υλικό κατασκευάζεται από ένα δεσμευτικό πολυμερές (Vermeiren & others, 1999). Η παρασκευή ενός πολυμερούς, πολυστρωματικού, εύκαμπτου φιλμ, που ενεργοποιείται με ιοντίζουσα ακτινοβολία, σύμφωνα με τον κατασκευαστή, μειώνει τα επίπεδα του οξυγόνου στον υπερκείμενο

χώρο από 0.4 έως 0.1%, περίπου σε μία εβδομάδα (Realini & Marcos, 2014). Σύστημα το οποίο περιλαμβάνει οξείδωση κοβαλτίου από ένα πολυμερές νάιλον αναμειγμένο σε υλικό PET, βρίσκει εφαρμογή για τη συσκευασία διαφόρων ροφημάτων, όπως κρασιού ή μπύρας, και για σάλτσες (Vermeiren & others, 1999). Διάφορα υλικά μπορούν να αποτελέσουν βάση για την ενσωμάτωση παγιδευτών οξυγόνου, π.χ. πολυπροπυλένιο (PP), πολυαιθυλένιο (PE), τερεφθαλικό πολυαιθυλένιο (PET), συμπολυμερές αιθυλενίου και οξικού βινυλίου (EVA), ενώ, πιο πρόσφατα, χρησιμοποιούνται υλικά που είναι κατάλληλα για εφαρμογές υψηλής θερμοκρασίας (Realini & Marcos, 2014).

Οι δεσμευτές οξυγόνου πρέπει να πληρούν ορισμένες απαιτήσεις. Είναι σημαντικό (Ahvenainen, 2003):

- να είναι ακίνδυνοι για τον άνθρωπο, καθώς, παρόλο που δεν αποτελούν πρόσθετα των τροφίμων, η τοποθέτησή τους στη συσκευασία οδηγεί στην πιθανότητα κατανάλωσής τους
- να απορροφούν το οξυγόνο σε κατάλληλο ρυθμό. Αν η αντίδραση είναι πολύ γρήγορη, θα υπάρξει απώλεια της ικανότητας απορρόφησης οξυγόνου, ενώ αν είναι πολύ αργή, το τρόφιμο δε θα προστατευτεί επαρκώς
- να μην παράγουν τοξικές ουσίες ή ανεπιθύμητες οσμές
- να έχουν μικρό μέγεθος και να επιδεικνύουν σταθερή ποιότητα και επίδοση
- να απορροφούν μία μεγάλη ποσότητα οξυγόνου
- να διατίθενται σε οικονομική τιμή

3.2.2. Παγίδευση ή απελευθέρωση διοξειδίου του άνθρακα (Carbon dioxide scavengers and emitters)

Το διοξείδιο του άνθρακα παράγεται σε ορισμένα τρόφιμα κατά την αλλοίωσή τους, καθώς και λόγω της διαδικασίας της αναπνοής. Το παραγόμενο διοξείδιο του άνθρακα πρέπει να αφαιρεθεί από τη συσκευασία για να αποφευχθεί η υποβάθμιση του προϊόντος και/ή η καταστροφή της συσκευασίας. Το υδροξείδιο του ασβεστίου και το οξείδιο του ασβεστίου βρίσκουν εφαρμογή στην παγίδευση του διοξειδίου του άνθρακα. Σακουλάκια που περιέχουν τέτοιες ουσίες χρησιμοποιούνται, όπως και για τη δέσμευση του οξυγόνου, σε διάφορα τρόφιμα, π.χ. στον καφέ (Vermeiren & others, 1999).

Από την άλλη μεριά, σε ορισμένες περιπτώσεις, υψηλά επίπεδα διοξειδίου του άνθρακα (10-80%) είναι επιθυμητά για τρόφιμα, όπως προϊόντα κρέατος, ιχθύες και τυριά, καθώς αναστέλλουν την επιφανειακή ανάπτυξη μικροβίων και παρατείνουν έτσι τη διάρκεια ζωής τους (Vermeiren & others, 1999). Για αυτό το λόγο, υπάρχουν εφαρμογές ενεργού συσκευασίας που βασίζονται στην απελευθέρωση του διοξειδίου του άνθρακα. Όταν σε μία συσκευασία διοχετεύεται διοξείδιο του άνθρακα, αυτό διαλύεται εν μέρει στο προϊόν και δημιουργεί ένα μερικό κενό. Επίσης, η

απομάκρυνση του οξυγόνου από τη συσκευασία με τη χρήση των δεσμευτών του, προκαλεί και αυτή ένα μερικό κενό, το οποίο μπορεί να οδηγήσει στην κατάρρευση των εύκαμπτων συσκευασιών. Σε αυτές τις περιπτώσεις, χρησιμοποιούνται φακελάκια, τα οποία απελευθερώνουν διοξείδιο του άνθρακα και ταυτόχρονα καταναλώνουν οξυγόνο. Τέτοια συστήματα βασίζονται σε μίγμα ασκορβικού οξέος με όξινο ανθρακικό νάτριο ή σε ανθρακικό σίδηρο, και βρίσκουν εφαρμογή κυρίως σε προϊόντα όπως chips πατάτας και φιστίκια (Vermeiren & others, 1999). Αυτού του είδους οι συσκευασίες συχνά σχετίζονται με συστήματα τροποποιημένης ατμόσφαιρας, προκειμένου να εξισορροπηθούν οι απώλειες του διοξειδίου του άνθρακα λόγω της διάλυσής του στο τρόφιμο και της διεϊσδυσης μέσα από το υλικό συσκευασίας (Realini & Marcos, 2014).

3.2.3. Δέσμευση αιθυλενίου (Ethylene scavengers)

Το αιθυλένιο ενεργεί ως μια φυσική ορμόνη, η οποία έχει διαφορετικές επιπτώσεις στα νωπά φρούτα και λαχανικά. Επιταχύνει την αναπνοή, οδηγώντας στην ωρίμανση και στη γήρανση, καθώς και στο μαλάκωμα πολλών ειδών φρούτων. Η συσσώρευση του αιθυλενίου μπορεί να προκαλέσει κιτρίνισμα σε πράσινα λαχανικά και επίσης, μπορεί να είναι υπεύθυνη για μία σειρά συγκεκριμένων διαταραχών σε φρέσκα φρούτα και λαχανικά, μετά τη συγκομιδή τους. Για να αντιμετωπιστούν οι αρνητικές επιδράσεις του αιθυλενίου στα τρόφιμα, ώστε να παραταθεί η διάρκεια ζωής τους και η αποδεκτή οπτική και οργανοληπτική ποιότητά τους, είναι απαραίτητο να αποφευχθεί η συσσώρευσή του στη συσκευασία. Υπάρχει μία ποικιλία προσροφητικών ουσιών του αιθυλενίου, με τις περισσότερες από αυτές να παρέχονται ως θύλακες ή ενσωματωμένες σε μεμβράνες (Vermeiren & others, 1999).

Πολλές εφαρμογές της απορρόφησης του αιθυλενίου στηρίζονται στο υπερμαγγανικό κάλιο, το οποίο οξειδώνει το αιθυλένιο σε οξικό άλας και αιθανόλη. Με αυτή τη διαδικασία, παρατηρείται αλλαγή χρώματος από μωβ σε καφέ, υποδεικνύοντας την εναπομείνασα χωρητικότητα του δεσμευτή. Λόγω του χρώματος του υπερμαγγανικού καλίου και της τοξικότητάς του, δεν επιτρέπεται η ενσωμάτωσή του στο υλικό που έρχεται σε επαφή με το τρόφιμο, αλλά παρέχεται μόνο εγκλεισμένο σε φακελάκι. Τυπικά, αυτά τα προϊόντα περιέχουν 4-6% υπερμαγγανικό κάλιο σε ένα αδρανές υπόστρωμα, όπως περλίτη, αλουμίνα, silica gel, ενεργοποιημένο άνθρακα. Το υπόστρωμα προσροφά το αιθυλένιο και το υπερμαγγανικό το οξειδώνει. Η τεχνολογία υποστρώματος-υπερμαγγανικού καλίου έχει μεταφερθεί σε ψυγεία των καταναλωτών. Ένας άλλος τύπος παγίδευσης αιθυλενίου βασίζεται στην προσρόφηση και επακόλουθη διάσπασή του επί ενεργού άνθρακα. Η μέθοδος αυτή αναφέρεται ότι μείωσε το ποσοστό μαλακώματος σε ελαφρώς επεξεργασμένα ακτινίδια και μπανάνες, καθώς και ελαχιστοποίησε την απώλεια χλωροφύλλης σε φύλλα από σπανάκι (Vermeiren & others, 1999). Η ενσωμάτωση λεπτών διεσπαρμένων ορυκτών, όπως ζεόλιθοι και άργιλοι, σε μεμβράνες συσκευασίας φαίνεται να έχει θετικά αποτελέσματα στην προσρόφηση αιθυλενίου. Οι περισσότερες από αυτές τις μεμβράνες, ωστόσο, είναι αδιαφανείς και

δε μπορούν να απορροφήσουν επαρκώς το αιθυλένιο. Τα συστατικά αυτά είναι επίσης πιθανό, να μεταβάλλουν τη διαπερατότητα των μεμβρανών, με αποτέλεσμα τη γρήγορη διάχυση αιθυλενίου και διοξειδίου του άνθρακα και την εύκολη εισαγωγή οξυγόνου. Επιπροσθέτως, η ικανότητα προσρόφησης των ανόργανων συστατικών συχνά χάνεται, κατά την ενσωμάτωσή τους σε μία μήτρα πολυμερούς (Vermeiren & others, 1999).

3.2.4. Απορρόφηση υγρασίας (Moisture absorbers)

Τα τρόφιμα που είναι ευαίσθητα στην υγρασία, πρέπει να συσκευάζονται σε ένα υψηλού φραγμού υγρασίας υλικό. Ωστόσο, μία ορισμένη ποσότητά της μπορεί να παγιδευτεί μέσα στη συσκευασία ή να αναπτυχθεί κατά τη διάρκεια της διανομής του προϊόντος. Μη απομάκρυνσή της σημαίνει απορρόφησή της από το τρόφιμο ή σχηματισμό συμπυκνωμάτων, με αποτέλεσμα τη μικροβιακή αλλοίωση και τη μη αποδοχή από τον καταναλωτή. Υψηλά επίπεδα υγρασίας προκαλούν σημαντικές αλλοιώσεις σε διάφορα τρόφιμα, όπως μαλάκωμα ξηρών, τραγανών προϊόντων (π.χ. μπισκότα, κράκερ), συσσωμάτωση σκόνης γάλακτος και στιγμιαίου καφέ ή ύγρανση υγροσκοπικών προϊόντων (γλυκά, καραμέλες). Από την άλλη πλευρά, η εκτεταμένη εξάτμιση του νερού μέσα στο υλικό συσκευασίας μπορεί να οδηγήσει σε ξήρανση του τροφίμου ή και να ευνοήσει την οξείδωση των λιπιδίων. Για να αποφευχθούν τα φαινόμενα αυτά και να καθοριστεί η επιθυμητή σχετική υγρασία, έχουν αναπτυχθεί εφαρμογές για ουσίες που απορροφούν την υγρασία. Συγκεκριμένα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια ταινία με την κατάλληλη διαπερατότητα υδρατμών, μία ξηραντική μεμβράνη ή ένα φακελάκι που ελέγχει την υγρασία. Η ενεργός συσκευασία για απορρόφηση της υγρασίας εφαρμόζεται σε ένα ευρύ φάσμα τροφίμων, για παράδειγμα σε τυριά, αλλαντικά, τσιπς, καρύδια, ποπ κορν, καραμέλες και μπαχαρικά. Αναφέρεται ότι η διάρκεια ζωής συσκευασμένων ντοματών στους 20 °C, παρατάθηκε από 5 σε 15-17 ημέρες, με τη χρήση ενός θύλακα που περιείχε χλωριούχο νάτριο (Vermeiren & others, 1999). Τα απορροφητικά φύλλα που χρησιμοποιούνται συνίστανται κυρίως από ένα πολυμερές υπεραπορροφητικό ανάμεσα σε δύο στρώματα. Τα προτιμώμενα πολυμερή για την απορρόφηση της υγρασίας είναι πολυακρυλικά άλατα και συμπολυμερή αμύλου. Μία άλλη προσέγγιση για τον έλεγχο της υγρασίας είναι η απορρόφησή της στην αέρια φάση. Αυτό επιτυγχάνεται με την τοποθέτηση υγραντών (π.χ. προπυλενογλυκόλη) μεταξύ δύο στρωμάτων μίας πλαστικής μεμβράνης, που είναι εξαιρετικά διαπερατή από υδρατμούς ή με τη χρήση απορροφητικών θυλάκων. Μερικά από τα πιο συχνά ξηραντικά που περιέχονται στα σακουλάκια είναι το silica gel, το οξείδιο του ασβεστίου και φυσικοί άργιλοι (π.χ. μοντμοριλλονίτη) (Vermeiren & others, 1999).

3.2.5. Αντιοξειδωτική συσκευασία (Antioxidant packaging)

Μία εναλλακτική λύση στην παγίδευση οξυγόνου, ώστε να αποτραπεί η οξείδωση των τροφίμων με χρήση ενεργού συσκευασίας, αποτελεί η ενσωμάτωση αντιοξειδωτικών ουσιών στο υλικό συσκευασίας. Η ενεργός συσκευασία προσφέρει

αρκετά πλεονεκτήματα έναντι της άμεσης προσθήκης των αντιοξειδωτικών στα τρόφιμα (Realini & Marcos, 2014):

- απαίτηση μικρότερων ποσοτήτων των δραστικών ουσιών
- εντοπισμένη δράση
- ελεγχόμενη απελευθέρωση των αντιοξειδωτικών
- εξάλειψη σταδίων επεξεργασίας, π.χ. ανάμειξη, εμβάπτιση ή ψεκασμός

Αντιοξειδωτικοί παράγοντες μπορούν να εφαρμοστούν σε συστήματα συσκευασίας σε διάφορες μορφές (θύλακες, ετικέτες, επικαλύψεις στην επιφάνεια του υλικού συσκευασίας, ενσωματωμένα σε μήτρα πολυμερούς, πολυστρωματικές μεμβράνες) (Realini & Marcos, 2014). Μπορούν, λοιπόν, να διακριθούν δύο μέθοδοι παραγωγής αντιοξειδωτικής συσκευασίας (Gómez-Estaca & others, 2014):

- α. *Ανεξάρτητες συσκευές*: Μία ανεξάρτητη συσκευή, π.χ. σακουλάκι, ετικέτα, που περιέχει τη δραστική ουσία χωριστά από το τρόφιμο, προστίθεται σε μία συμβατική 'παθητική' συσκευασία.
- β. *Αντιοξειδωτικά υλικά συσκευασίας*: Αντιοξειδωτικές ουσίες χρησιμοποιούνται για την κατασκευή της συσκευασίας, πράγμα που σημαίνει, ότι η δραστική ουσία ενσωματώνεται στα τοιχώματα της συσκευασίας και είτε απορροφά ανεπιθύμητα συστατικά από τον υπερκείμενο χώρο είτε απελευθερώνει αντιοξειδωτικά συστατικά στο τρόφιμο ή στον υπερκείμενο χώρο.

Τα αντιοξειδωτικά υλικά συσκευασίας αναπτύσσονται με την ενσωμάτωση δραστικών ουσιών εντός μίας μήτρας πολυμερούς ή στην επιφάνεια της πολυμερικής μεμβράνης. Η διαδικασία παρασκευής πρέπει να επιλέγεται λαμβάνοντας υπόψη το είδος του πολυμερούς και τα χαρακτηριστικά της αντιοξειδωτικής ουσίας, ειδικά την αντοχή της στη θερμοκρασία και το μηχανισμό δράσης της. Εφόσον, η αντιοξειδωτική δράση του υλικού βασίζεται στη μετανάστευση ενεργών ουσιών στο τρόφιμο, είναι απαραίτητο οι ουσίες αυτές να ακολουθούν τους κανονισμούς, όσον αφορά στη μέγιστη συγκέντρωσή τους. Από τεχνολογικής σκοπιάς, η ενεργός ουσία (ή τα δραστικά συστατικά που την παράγουν) αναμιγνύεται με το πολυμερές, είτε με διάλυση και των δύο σε κατάλληλο διαλύτη και εφαρμογή του διαλύματος σε ένα υπόστρωμα μέσω τεχνικών επικαλύψεων, είτε με λιώσιμο του πολυμερούς, ενσωμάτωση και ανάμειξη της ουσίας στο τήγμα του, χρησιμοποιώντας τεχνολογίες εκβολής (extrusion technologies) (Gómez-Estaca & others, 2014).

Η κατάλληλη επιλογή της αντιοξειδωτικής ένωσης, η οποία θα ενσωματωθεί στο υλικό συσκευασίας είναι ιδιαίτερης σημασίας. Η αντιοξειδωτική ουσία και το υλικό συσκευασίας πρέπει να είναι συμβατά, προκειμένου να επιτευχθεί μία ομοιόμορφη κατανομή του αντιοξειδωτικού και να ευνοείται η απελευθέρωση των συντελεστών του στο τρόφιμο ή στην υπερκείμενη φάση. Ως εκ τούτου, ο τύπος του αντιοξειδωτικού πρέπει να επιλέγεται σε συνάρτηση με το είδος του τροφίμου. Για παράδειγμα, τα άπολα αντιοξειδωτικά φαίνεται να είναι πιο κατάλληλα για τρόφιμα

με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια. Ωστόσο, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη το φαινόμενο που καλείται 'αντιοξειδωτικό παράδοξο'. Σύμφωνα με αυτό, οι υδρόφιλοι δεσμευτές ελευθέρων ριζών (free radical scavengers, FRS) έχουν φανεί πιο αποτελεσματικοί σε σύγκριση με τους αντίστοιχους υδρόφοβους σε έλαια (bulk oils), ενώ οι τελευταίοι είχαν καλύτερη αντιοξειδωτική δράση σε γαλακτώματα ελαίων σε νερό. Η εξήγηση του φαινομένου αυτού αποδόθηκε στην ικανότητα των πολικών FRS να επικεντρώνονται στην διεπιφάνεια ελαίου-αέρα των ελαίων, όπου η οξείδωση ήταν πιο διαδεδομένη, και στην ικανότητα των μη-πολικών FRS να επικεντρώνονται στη λιπιδική φάση των γαλακτωμάτων, ενώ τα πολικά κατανεμήθηκαν τόσο στη λιπαρή όσο και στην υδατική φάση (Gómez-Estaca & others, 2014).

Συνθετικά αντιοξειδωτικά έχουν χρησιμοποιηθεί στην τεχνολογία της ενεργού συσκευασίας. Ενσωμάτωση του αντιοξειδωτικού BHT στο υλικό συσκευασίας αναφέρεται πως έχει επεκτείνει το χρόνο ζωής διαφόρων τροφίμων, π.χ. δημητριακών. Ωστόσο, η χρήση του σε επαφή με τα τρόφιμα έχει αμφισβητηθεί, καθώς υπάρχουν ανησυχίες σχετικά με τις επιδράσεις της κατανάλωσής του, λόγω της τάσης του να συσσωρεύεται στον ανθρώπινο λιπώδη ιστό. Αντίστοιχα αποτελέσματα προκύπτουν και από την προσθήκη του BHA σε πολυολεφίνες (Gómez-Estaca & others, 2014). Είναι επομένως επιθυμητή η χρήση φυσικών αντιοξειδωτικών, και ιδιαιτέρως τοκοφερολών, εκχυλισμάτων και αιθέριων ελαίων φυτών. Η Artibal SA έχει αναπτύξει μία αντιοξειδωτική μεμβράνη, που περιέχει αιθέρια έλαια ρίγανης σε διάφορες συγκεντρώσεις, κατάλληλη για συσκευασίες MAP φρέσκων προϊόντων κρέατος. Η λειτουργία της βασίζεται στην παρεμπόδιση της οξείδωσης βοδινού κρέατος και αρνιού και προλαμβάνει τον οστικό αποχρωματισμό σε προϊόντα αρνιού (Realini & Marcos, 2014). Οι βιταμίνες E και C έχουν προταθεί για την προσθήκη τους σε πολυμερές φιλμ. Η βιταμίνη E έχει αποδειχθεί ότι είναι πολύ σταθερή κάτω από τις συνθήκες επεξεργασίας και εμφανίζει εξαιρετική διαλυτότητα σε πολυολεφίνες. Από την άλλη πλευρά, καθώς είναι μεγαλύτερο μόριο από το BHT, εμφάνισε χαμηλότερη αντιοξειδωτική δράση σε υλικό LPDE (Vermeiren & others, 1999).

3.2.6. Αντιμικροβιακή συσκευασία (Antimicrobial packaging)

Η αντιμικροβιακή συσκευασία αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για τον έλεγχο της ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Για τον περιορισμό των ανεπιθύμητων μικροοργανισμών στα τρόφιμα, αντιμικροβιακές ουσίες μπορούν να ενσωματωθούν ή να επιστρωθούν σε υλικά συσκευασίας. Η αρχή των εφαρμογών αυτών βασίζεται στην απελευθέρωση αντιμικροβιακών ουσιών, μερικές από τις οποίες, ωστόσο, μπορούν να θέσουν σε κίνδυνο την ασφάλεια των καταναλωτών, αν η απελευθέρωσή τους δεν ελέγχεται αυστηρά από ορισμένους μηχανισμούς στο υλικό συσκευασίας. Οι αντιμικροβιακές συσκευασίες εφαρμόζονται σε φρούτα, λαχανικά, τυριά, ψωμί, ιχθύες και προϊόντα κρέατος (Vermeiren & others, 1999). Οι αντιμικροβιακές ουσίες πρέπει να είναι σε άμεση επαφή με την επιφάνεια του

τροφίμου εάν είναι μη-πτητικές, και μπορούν είτε να ακινητοποιούνται στο υλικό είτε να μεταναστεύουν στο προϊόν (Realini & Marcos, 2014).

Παρά τη σημαντική έρευνα που έχει γίνει μέχρι σήμερα, η αντιμικροβιακή συσκευασία έχει περιορισμένη εμπορική επιτυχία, εκτός από εφαρμογές που βασίζονται στον άργυρο και είναι κοινές σε χώρες, όπως η Ιαπωνία και οι Η.Π.Α., ενώ αναμένεται να αυξηθεί η χρήση τους στην Ευρώπη (Realini & Marcos, 2014). Στην Ιαπωνία, υποκατεστημένη με άργυρο ζεόλιθος είναι η πιο κοινή αντιμικροβιακή ουσία, που ενσωματώνεται σε πλαστικά. Το χαρακτηριστικό των ζεόλιθων αυτών είναι το ευρύ αντιμικροβιακό φάσμα τους. Το κανονικό επίπεδο ενσωμάτωσής τους κυμαίνεται από 1 μέχρι 3%. Αρκετές άλλες ενώσεις έχουν προταθεί για την αντιμικροβιακή δραστηριότητά τους σε συσκευασίες τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων οργανικών οξέων (σορβικό, προπιονικό, βενζοϊκό) ή αντίστοιχων ανυδριτών, βακτηριοσίνων (νισίνη, πεδιοκίνη), ενζύμων (π.χ. λυσοζύμης), μετάλλων και μυκητοκτόνων. Το 1998 προτάθηκε μεμβράνη, η οποία περιείχε φυσική αντιμικροβιακή ένωση, που προερχόταν από σπόρους γκρέιπφρουτ (Vermeiren & others, 1999). Η επιλογή του αντιμικροβιακού συχνά περιορίζεται από την ασυμβατότητά του με το υλικό συσκευασίας. Ανυδρίτες οξέων θεωρούνται περισσότερο συμβατοί από τα ελεύθερα οξέα και τα άλατά τους, λόγω της μικρότερης πολικότητάς τους. Συστήματα που απελευθερώνουν σταδιακά SO₂ έχουν αναπτυχθεί για τον έλεγχο της ανάπτυξης της μούχλας σε ορισμένα φρούτα. Βέβαια, η υπερβολική απελευθέρωσή του, προκαλεί προβλήματα, όπως λεύκανση σε σταφύλια, αλλά και τοξικολογικές επιπτώσεις (Vermeiren & others, 1999). Σε αντίθεση με τις συμβατικές αντιμικροβιακές μεμβράνες, ορισμένες λειτουργικές ομάδες που έχουν αντιμικροβιακή δράση, ακινητοποιούνται στην επιφάνεια ενός πολυμερούς φιλμ. Επίσης, διερευνήθηκε η χρήση 193 nm UV ακτινοβολίας, για τη μετατροπή ομάδων αμιδίου στην επιφάνεια νάιλον σε αμίνες που έχουν αντιμικροβιακές ικανότητες (Vermeiren & others, 1999). Μία άλλη ένωση, η οποία επιδεικνύει αντιμικροβιακές δράσεις είναι η αιθανόλη. Αντί να ψεκάζονται τα τρόφιμα με αιθανόλη, είναι δυνατή η επιλογή θυλάκων που δημιουργούν ατμούς αιθανόλης. Οι εφαρμογές αυτές είναι ευρέως διαδεδομένες στην Ιαπωνία και χρησιμοποιούνται κυρίως για αρτοσκευάσματα με υψηλό περιεχόμενο σε υγρασία, ιχθύες και τυριά. Ένα σημαντικό μειονέκτημα αποτελεί η απορρόφηση της αιθανόλης από το τρόφιμο. Εάν το προϊόν θερμαίνεται πριν από την κατανάλωσή του, η συσσωρευμένη αιθανόλη σε αυτό μπορεί να εξατμιστεί. Ένα άλλο μειονέκτημα είναι το υψηλό κόστος των θυλάκων (Vermeiren & others, 1999).

3.2.7. Απελευθέρωση ή απορρόφηση γεύσεων και οσμών (Release or absorption of flavours and odours)

Η απορρόφηση των οσμών των τροφίμων από πολυμερή υλικά συσκευασίας, μπορεί να οδηγήσει στην απώλεια των εντάσεων των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των τροφίμων. Γενικά, η απορρόφηση οσμών/γεύσεων, ενώ φαίνεται να είναι επιζήμια για την ποιότητα των τροφίμων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί

με θετικό τρόπο για την απορρόφηση επιλεκτικών ανεπιθύμητων οσμών. Μία ενεργός συσκευασία έχει περιγραφεί για τη μείωση της πικράδας σε χυμούς γκρέιπφρουτ (Vermeiren & others, 1999). Τα αίτια της πικρής γεύσης οφείλονται στην παρουσία των ουσιών ναρινγίνης και λιμονίνης. Μία ακόμη αντιμικροβιακή συσκευασία που έχει αναπτυχθεί για την απορρόφηση των δύο αυτών ουσιών, βασίζεται στη χρήση ενός λεπτού στρώματος οξικής κυτταρίνης (cellulose acetate, CA) στο εσωτερικό της συσκευασίας. Δύο άλλοι τύποι ουσιών που θα μπορούσαν να απομακρυνθούν μέσω της ενεργού συσκευασίας είναι οι αμίνες και οι αλδεϋδες. Μembrάνη που περιέχει άλας δισθενούς σιδήρου και ένα οργανικό οξύ (π.χ. κιτρικό ή ασκορβικό οξύ) αναφέρεται πως οξειδώνει αμίνες και άλλα οσμές (Vermeiren & others, 1999).

Η απελευθέρωση γεύσεων μπορεί επίσης να παρέχει έναν τρόπο για να καλυφθούν οι δυσάρεστες οσμές, που προέρχονται από τα τρόφιμα ή τη συσκευασία. Περαιτέρω εφαρμογές των εμπλουτισμένων υλικών συσκευασίας περιλαμβάνουν την εκπομπή επιθυμητών γεύσεων στα τρόφιμα και την ενθυλάκωση ευχάριστων αρωμάτων, τα οποία απελευθερώνονται κατά το άνοιγμα της συσκευασίας και έχουν τη δυνατότητα να βελτιώνουν την οργανοληπτική ποιότητα του προϊόντος (Vermeiren & others, 1999).

3.3 Μελλοντικές τάσεις και ζητήματα ασφαλείας για την ενεργό συσκευασία

Η τεχνολογία της ενεργού συσκευασίας έχει σχεδιαστεί για να ικανοποιήσει την αυξανόμενη ζήτηση για την ασφάλεια των τροφίμων και τη μεγαλύτερη διάρκεια ζωής τους στο ράφι, να συμβάλει στην καλύτερη διαχείριση των αποθεμάτων και να ευνοήσει τη διαφοροποίηση της μάρκας. Αυτοί είναι και οι κύριοι λόγοι, για τους οποίους τα συστήματα ενεργού συσκευασίας αναμένεται να διαδραματίσουν καθοριστικό ρόλο στην τεχνολογία των τροφίμων, και ιδιαίτερα των ευπαθών, π.χ. των προϊόντων κρέατος (Realini & Marcos, 2014).

Οι δεσμευτές οξυγόνου και οι εφαρμογές που αφορούν στην απορρόφηση υγρασίας αποτελούν τις πιο εμπορικά σημαντικές κατηγορίες της ενεργού συσκευασίας. Οι παρεμποδιστές αερίων καταλάμβαναν την πρώτη θέση στις τεχνολογίες της ενεργού συσκευασίας, το 2012, στις Η.Π.Α. Μάλιστα, η ζήτησή τους αναμένεται να αυξηθεί με πολύ γρήγορο ρυθμό, λόγω των διευρυσμένων εφαρμογών των δεσμευτών οξυγόνου. Η μεγάλη πρόκληση για την ενεργό συσκευασία είναι να αναπτύξει δραστικά υλικά, που είναι σε θέση να διατηρήσουν τις αρχικές μηχανικές ιδιότητές τους, καθώς και τις ιδιότητες φραγμού τους. Εκτιμάται ότι οι εμπορικές εφαρμογές των αντιοξειδωτικών και των αντιμικροβιακών υλικών θα αυξηθούν, προκειμένου να εξασφαλιστεί η ασφάλεια των τροφίμων και να επεκταθεί η διάρκεια ζωής τους στο ράφι. Ωστόσο, το κόστος και η απόδοση των δραστικών παραγόντων εξακολουθεί να αποτελεί έναν περιορισμό (Realini & Marcos, 2014).

Η κύρια ανησυχία των βιομηχανιών, σχετικά με την εισαγωγή ενεργών συστατικών στη συσκευασία τροφίμων, φαίνεται να εντοπίζεται στη μη αποδοχή αυτών από τους καταναλωτές, καθώς θεωρούν τις πρόσθετες ουσίες βλαβερές. Κατά

γενικό κανόνα, η απάντηση στα ζητήματα ασφαλείας σε σχέση με την ενεργό συσκευασία θα πρέπει να βασίζεται σε τρεις κύριους άξονες (Dainelli & others, 2008):

- i. Ανάγκη για σήμανση: για αποφυγή κατάχρησης και παρανοήσεων από τους καταναλωτές, π.χ. για μη κατάποση θυλάκων.
- ii. Τοξικότητα: η μετανάστευση ενεργών συστατικών θα πρέπει να εξετάζεται προσεκτικά, όπως και τα προϊόντα διάσπασης, ως προς την τοξικότητά τους. Κρίνεται απαραίτητη η τήρηση της νομοθεσίας.
- iii. Η αποτελεσματικότητα της συσκευασίας: σε πολύ συγκεκριμένες περιπτώσεις, η ικανότητα της συσκευασίας να εκτελέσει τη λειτουργία της, μπορεί να προκαλέσει θέματα ασφάλειας

3.4 Εφαρμογές ενεργών συσκευασιών που περιέχουν φυσικά αντιοξειδωτικά σε τρόφιμα

Η χρήση φυσικών αντιοξειδωτικών στη συσκευασία των τροφίμων αποτελεί μία υψηλού ενδιαφέροντος τεχνολογία, η οποία στοχεύει στη μείωση της οξείδωσης των λιπιδίων και ακόμα και στην αύξηση της θρεπτικής αξίας των προϊόντων. Η ενσωμάτωση φυσικών αντιοξειδωτικών έχει μελετηθεί για τη συσκευασία ποικίλων τροφίμων. Στη συνέχεια, παρουσιάζονται μελέτες που αφορούν στην προστασία προϊόντων σνακς, τα οποία αποτέλεσαν αντικείμενο της συγκεκριμένης μελέτης ως προς την έρευνα της ενεργού συσκευασίας, ιχθύων, καθώς ήταν τρόφιμα που επεξεργάστηκαν στην παρούσα εργασία, αλλά και άλλων προϊόντων, για μία συλλογική εικόνα της δράσης της αντιοξειδωτικής συσκευασίας.

3.4.1. Εφαρμογή αντιοξειδωτικής συσκευασίας σε σνακς

Στη μελέτη των López-de-Dicastillo & others (2012) εξετάστηκε η προσθήκη δύο φλαβονοειδών, κατεχίνης (0.5 και 2%) και κερκετίνης (1 και 5%), σε υλικό αιθυλενο-βινυλικής αλκοόλης (EVOH), για τη συσκευασία τηγανητών φιστικιών. Οι εμπλουτισμένες μεμβράνες παρασκευάστηκαν με ενσωμάτωση των αντιοξειδωτικών στο τήγμα του υλικού (cast extrusion) και τα συσκευασμένα προϊόντα αποθηκεύτηκαν στους 37 °C για 40 ημέρες. Αποδείχθηκε ότι η ενεργός συσκευασία ήταν ικανή να παρεμποδίσει την οξείδωση των φιστικιών, μειώνοντας το ποσοστό της εξανάλης (δευτερογενές προϊόν της οξείδωσης) στον υπερκείμενο χώρο, όπως παρατηρήθηκε με χρωματογραφικές μεθόδους. Όλα τα δείγματα της κατεχίνης, και εκείνα με κερκετίνη σε περιεκτικότητα 1%, εμφάνισαν την καλύτερη αποτελεσματικότητα. Επίσης, οι ίδιες συσκευασίες ελέγχθηκαν ως προς τη δράση τους έναντι της οξείδωσης ηλιέλαιου, μέσω μέτρησης του αριθμού υπεροξειδίου, παρατηρώντας και πάλι την, πιο περιορισμένη, αλλά, ικανοποιητική προστασία που παρείχαν οι μεμβράνες με τα δύο αντιοξειδωτικά.

Οι López-de-Dicastillo & others (2011) ενσωμάτωσαν β-κυκλοδεξτρίνη (β-CD) σε υλικό συσκευασίας EVOH, ώστε να μειώσουν το ποσοστό των αλδεϋδών σε

τηγανητά φιστίκια. Η β-κυκλοδεξτρίνη παράγεται από το άμυλο και αποτελείται από επτά υπομονάδες γλυκόζης, οι οποίες συνδέονται με α (1→4) γλυκοσιδικούς δεσμούς σε μία κυλινδρική κοιλότητα με μία υδρόφοβη εσωτερική και μία υδρόφιλη εξωτερική επιφάνεια. Το υδρόφοβο κομμάτι της είναι ικανό να σχηματίζει σύμπλοκα με μία μεγάλη ποικιλία οργανικών μορίων, κυρίως μέσω ασθενών δεσμών (van der Waals, δεσμών υδρογόνου και διπόλου-διπόλου). Το επίπεδο προσθήκης στο υλικό συσκευασίας ήταν 20 και 30% w/w, ενώ τα συσκευασμένα φιστίκια αποθηκεύτηκαν στους 37 °C για 10 εβδομάδες. Με τη χρήση της ενεργού συσκευασίας φάνηκε πως η ενσωμάτωση της β-CD οδήγησε σε χαμηλότερη συγκέντρωση αλδευδών (π.χ. εξανάλης) στον υπερκείμενο χώρο της συσκευασίας, σύμφωνα με τα αποτελέσματα αέριας χρωματογραφίας.

3.4.2. Εφαρμογή αντιοξειδωτικής συσκευασίας σε ιχθύες

Οι Pereira de Abreu & others (2010) μελέτησαν την αποτελεσματικότητα ενεργού συσκευασίας, που περιείχε φυσικά αντιοξειδωτικά από φλούδες κριθαριού (barley husks), στην παρεμπόδιση της οξείδωσης σολομού, που αποθηκεύτηκε στους -20 °C. Συγκεκριμένα, αποξηραμένα εκχυλίσματα κριθαριού διαλύθηκαν σε μεθανόλη, ώστε να παρασκευαστεί το διάλυμα, που χρησιμοποιήθηκε για την επικάλυψη μεμβράνης πολυαιθυλενίου χαμηλής πυκνότητας, σε δύο συγκεντρώσεις (7 και 24 mg/dm²). Μέσω προσδιορισμού του αριθμού υπεροξειδίων, των συζυγών διενίων/τριενίων, των ελεύθερων λιπαρών οξέων, της π-ανισιδίνης και των δεικτών TBARS και της ολικής οξείδωσης (TV), αποδείχθηκε η άκρως αποτελεσματική προστασία των δειγμάτων σολομού έναντι της οξείδωσης, μέσω της ενσωμάτωσης των αντιοξειδωτικών στη συσκευασία. Πείραμα υπό τις ίδιες συνθήκες διεξάχθηκε από τους ίδιους ερευνητές, για τη μελέτη εμπλουτισμένης συσκευασίας με το εκχύλισμα κριθαριού, στην οξείδωση ενός άλλου είδους κατεψυγμένου ψαριού (καρχαρία, *Prionace glauca*). Τα αποτελέσματα, με βάση τις ίδιες μεθόδους, απέδειξαν και πάλι την αποτελεσματικότητα της ενεργού συσκευασίας με το φυσικό αντιοξειδωτικό, αυξάνοντας την οξειδωτική σταθερότητα του ιχθύος. Επίσης, αποδείχθηκε ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του αντιοξειδωτικού στη μεμβράνη, βελτιώνει την αποτελεσματικότητα της αντιοξειδωτικής ικανότητας της ενεργού συσκευασίας. Όμοια αποτελέσματα προέκυψαν και από την επεξεργασία ενός άλλου ιχθύος, ιπόγλωσσας (Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*), με τις ίδιες διεργασίες (Pereira de Abreu & others, 2011).

Αντιοξειδωτικές συσκευασίες παρασκευάστηκαν από τους López-de-Dicastillo & others (2012), με ενσωμάτωση ασκορβικού οξέος, φερούλικού οξέος, κερκετίνης και εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού σε μία μήτρα συμπολυμερούς αιθυλενο-βινυλικής αλκοόλης (EVOH). Η έκθεση των μεμβρανών σε διάφορα συστήματα τροφίμων έδειξε ότι η απελευθέρωση των δραστικών ουσιών από τις μεμβράνες εξαρτάται από τον τύπο του συστήματος του τροφίμου και το ενσωματωμένο αντιοξειδωτικό. Έτσι, τα υλικά που περιείχαν ασκορβικό οξύ παρουσίασαν καλύτερη απόδοση στα υδατικά συστήματα, ενώ η κερκετίνη και το εκχύλισμα τσαγιού είχαν καλύτερη

αποτελεσματικότητα στα λιπαρά συστήματα τροφίμων. Επιπλέον, η χρήση των υλικών για τη συσκευασία σαρδέλας βελτίωσε την οξειδωτική σταθερότητα του τροφίμου, που αποθηκεύτηκε στους 4 °C, απουσία φωτός, με τη συσκευασία που περιείχε το εκχύλισμα τσαγιού να προσφέρει την καλύτερη προστασία έναντι της οξείδωσης των λιπιδίων, μειώνοντας τον αριθμό υπεροξειδίου, και των δεικτών TBARS κατά 25%, κατά τη διάρκεια του χρόνου αποθήκευσης.

3.4.3. Εφαρμογή αντιοξειδωτικής συσκευασίας σε προϊόντα κρέατος

Οι Nerin & others (2006) χρησιμοποίησαν ένα εμπορικά διαθέσιμο φυσικό εκχύλισμα από δεντρολίβανο (Amexol) για την παρασκευή αντιοξειδωτικού υλικού που προοριζόταν για τη συσκευασία βοδινού κρέατος. Ενσωματώνοντας το εκχύλισμα σε διάφορες συγκεντρώσεις (0.1-8.0% w/w) σε τρι-στρωματικό φιλμ πολυπροπυλενίου, συσκευάσαν τα τρόφιμα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, τα οποία αποθηκεύτηκαν στους 2 °C, υπό συμβατικές συνθήκες φωτισμού. Μέσω της μεθόδου TBARS, φάνηκε πως η αντιοξειδωτική συσκευασία προστάτευσε το τρόφιμο από την οξείδωση, παρέχοντας μέχρι και μείωση του σχηματισμού της μηλονοδιαλδεύδης κατά 43%, κατά τη 14^η ημέρα αποθήκευσης, χωρίς, ωστόσο, στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος.

Σύμφωνα με την έρευνα των Camo & others (2008), φρέσκες μπριζόλες από αρνί υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με φυσικά αντιοξειδωτικά με τρεις μεθόδους: συσκευάζοντας τα προϊόντα με υλικό (πολυστυρένιο), το οποίο εμπλουτίστηκε με εκχύλισμα δεντρολίβανου (Amexol), εκχύλισμα ρίγανης και ψεκάζοντας την επιφάνεια του τροφίμου με το εκχύλισμα δεντρολίβανου, πριν τη συσκευασία του με μη εμπλουτισμένο υλικό. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν υπό φωτισμό σε 1 °C και σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα. Με βάση τις τιμές του δείκτη TBARS, φάνηκε ότι όλες οι συνθήκες οδήγησαν σε αυξημένη οξειδωτική σταθερότητα του τροφίμου, με την ενεργό συσκευασία που περιείχε τη ρίγανη να είναι πιο αποτελεσματική σε σύγκριση με τη συσκευασία που περιείχε το δεντρολίβανο, ασκώντας παρόμοια επίδραση με εκείνη της άμεσης προσθήκης του εκχυλίσματος του δεντρολίβανου στο προϊόν.

Οι ίδιοι ερευνητές (Camo & others, 2011) εξέτασαν το εκχύλισμα ρίγανης και για την προστασία φρέσκων μοσχαρίσιων προϊόντων. Τα δείγματα συσκευάστηκαν με υλικά που περιείχαν το αντιοξειδωτικό σε περιεκτικότητες 0.5, 1, 2 και 4%, ενώ ελέγχθηκε και η ενσωμάτωσή του στην επιφάνεια του τροφίμου με ψεκάσμο. Τα δείγματα συσκευάστηκαν και αποθηκεύτηκαν κατά τις ίδιες συνθήκες με το πείραμα που αφορούσε στα προϊόντα αρνιού. Αποδείχθηκε, μέσω της μεθόδου TBARS, ότι αυξανόμενη της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος στη συσκευασία, υπήρξε μία πολύ σημαντική ανασταλτική επίδραση στην οξείδωση των προϊόντων. Διατυπώθηκε, ωστόσο, πως η βέλτιστη ενεργός συσκευασία θα πρέπει να περιέχει το εκχύλισμα σε ποσοστό 1-2%, καθώς η ενσωμάτωσή του σε επίπεδα 4% έδωσε μία έντονη μυρωδιά. Τα δείγματα στα οποία ψεκάστηκε το αντιοξειδωτικό έδειξαν καλύτερη αποτελεσματικότητα.

Μπιφτέκια κοτόπουλου συσκευάστηκαν με αντιοξειδωτική συσκευασία που περιείχε αιθανολικό εκχύλισμα δεντρολίβανου, υποβλήθηκαν σε επεξεργασία υψηλής πίεσης (800 MPa, 10 min, 5 °C) και αποθηκεύτηκαν στους 5 °C, κατά την έρευνα των Bolumar & others (2011). Συγκεκριμένα, πολυαιθυλένιο χαμηλής πυκνότητας επικαλύφθηκε με το εκχύλισμα δεντρολίβανου, σε επίπεδο ενσωμάτωσης 0.45 mg εκχυλίσματος/cm². Παρακολουθώντας την πορεία της οξείδωσης, τόσο στην επιφάνεια όσο και στο εσωτερικό των προϊόντων, με τη μέθοδο TBARS, παρατήρησαν ότι η οξείδωση των λιπιδίων ήταν πολύ υψηλότερη στο επιφανειακό μέρος, αλλά η αντιοξειδωτική συσκευασία ήταν ικανή να παρεμποδίσει την οξείδωση του μέχρι και για 25 ημέρες.

Μεθανολικό εκχύλισμα εσπεριδοειδούς (Citrus) αξιολογήθηκε από τους Contini & others (2012) ως συστατικό για την παραγωγή ενεργού συσκευασίας. Το εκχύλισμα ψεκάστηκε σε επιφάνεια PET και χρησιμοποιήθηκε για τη συσκευασία φετών μαγειρεμένης γαλοπούλας, οι οποίες αποθηκεύτηκαν στο 4 °C για 4 ημέρες. Για λόγους σύγκρισης, μελετήθηκε επίσης, αντίστοιχη επικάλυψη συσκευασίας με α-τοκοφερόλη. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι τα προϊόντα που συσκευάστηκαν με μεμβράνες, οι οποίες περιείχαν το εκχύλισμα, είχαν χαμηλότερες τιμές εξανάλης και TBARS, από εκείνα που συσκευάστηκαν με μη επικαλυμμένες μεμβράνες. Η χρήση της α-τοκοφερόλης δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική επίδραση στην παρεμπόδιση της οξείδωσης του τροφίμου.

3.4.4. Εφαρμογή αντιοξειδωτικής συσκευασίας σε φρούτα

Οι Montero-Prado & others (2011) χρησιμοποίησαν ενεργό συσκευασία, στην οποία είχε ενσωματωθεί μία ετικέτα εμπλουτισμένη με αιθέριο έλαιο κανέλας, για την συσκευασία ροδάκινων. Έπειτα από 12 ημέρες αποθήκευσης σε θερμοκρασία δωματίου, μελετήθηκε η επίδραση της ενεργού συσκευασίας στη δραστικότητα της πολυφαινολικής οξειδάσης, της υπεροξειδάσης, του υπεροξειδίου της δισμουτάσης, της καταλάσης και στο περιεχόμενο της μαλονοδιαλδεύδης, ως μία ένδειξη της οξείδωσης των λιπιδίων. Παρατηρήθηκε πως το αιθέριο έλαιο που ενσωματώθηκε στην ενεργό συσκευασία, επηρέασε τη δραστικότητα των επιλεγμένων ενζύμων, τα οποία συμμετέχουν στις διαδικασίες της οξείδωσης.

Ενεργός συσκευασία αναπτύχθηκε με χρήση ευγενόλης ή θυμόλης, ώστε να μελετηθεί, από τους Valero & others (2006), η δράση της έναντι της οξείδωσης επιτραπέζιων σταφυλιών. Η ευγενόλη και η θυμόλη προστέθηκαν σε αποστειρωμένη γάζα εντός της συσκευασίας, αποφεύγοντας την επαφή με το τρόφιμο, και πραγματοποιήθηκε αποθήκευση υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα, σε 1 °C και σε συνθήκες 90% σχετικής υγρασίας, απουσία φωτός. Φάνηκε ότι η συγκεκριμένη τεχνολογία μπορεί να αποτελέσει ένα εργαλείο για τη διατήρηση της ποιότητας των σταφυλιών, παρέχοντας μεγαλύτερες τιμές στο δείκτη ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (Total antioxidant activity, TAA), με καλύτερη αποτελεσματικότητα να παρουσιάζει η ενεργός συσκευασία που περιείχε την ευγενόλη.

4. ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ-ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΑ

4.1 Εισαγωγή

Κάθε είδος υλικού που χρησιμοποιείται για την επικάλυψη τροφίμου ώστε να παρατείνει τη διάρκεια ζωής του, ενώ μπορεί και να καταναλωθεί μαζί με το τρόφιμο, ορίζεται ως εδώδιμη μεμβράνη ή επικαλυπτικό. Οι εδώδιμες μεμβράνες εμποδίζουν την απώλεια υγρασίας του τροφίμου και επιτρέπουν την ελεγχόμενη ανταλλαγή αερίων, όπως οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα. Μπορούν επίσης να παρέχουν μία επίστρωση, η οποία αποτρέπει την απώλεια και άλλων σημαντικών συστατικών (Embuscado & Huber, 2009). Το υλικό μπορεί να επικαλύψει όλο το τρόφιμο ή να ενσωματωθεί ως ένα συνεχές στρώμα ανάμεσα στα συστατικά του προϊόντος (Bourtoom, 2008).

Στις περισσότερες περιπτώσεις, οι όροι μεμβράνες και επικαλυπτικά χρησιμοποιούνται εναλλακτικά για να υποδείξουν ότι μια επιφάνεια ενός τροφίμου καλύπτεται από ένα σχετικά λεπτό στρώμα ενός υλικού μια ορισμένη σύνθεσης. Ωστόσο, μία μεμβράνη μπορεί να διαφοροποιηθεί από το επικαλυπτικό, με την έννοια ότι η πρώτη είναι ένα αυτόνομο υλικό που χρησιμοποιείται για την επικάλυψη, ενώ το δεύτερο εφαρμόζεται και διαμορφώνεται απευθείας στην επιφάνεια του τροφίμου. Γενικά, το πάχος της επίστρωσης είναι μικρότερο από 0.3 mm (Embuscado & Huber, 2009).

Οι εδώδιμες μεμβράνες και τα επικαλυπτικά χρησιμοποιούνταν για αιώνες, πολύ πριν κατανοηθεί η λειτουργία τους από τη σκοπιά της χημείας. Μια από τις πρώτες εφαρμογές τους το 12^ο αιώνα, ήταν η επικάλυψη φρούτων με κερί, ώστε για αισθητικούς λόγους η επιφάνεια του φρούτου να γίνεται λαμπερή, αλλά και για να διατηρείται το τρόφιμο για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (Embuscado & Huber, 2009, Rodrigues & Fernandes, 2012). Σήμερα, η χρήση των εδώδιμων μεμβρανών έχει επεκταθεί ραγδαία για τη διατήρηση της ποιότητας μιας ευρείας ποικιλίας τροφίμων. Η επιτακτική ανάγκη των καιρών για συντήρηση των τροφίμων όσο το δυνατόν περισσότερο διάστημα, έχει φέρει στο φως διάφορες σύγχρονες μεθόδους, όπως την κατάψυξη, τη χρήση ελεγχόμενης ατμόσφαιρας και την αποστείρωση με υπεριώδη και γάμμα ακτινοβολία. Παρόλα αυτά, για πολλά είδη τροφίμων, η επικάλυψη με εδώδιμες μεμβράνες εξακολουθεί να είναι ένας από τους πιο οικονομικά αποδοτικούς τρόπους για τη διατήρηση της ποιότητας και της ασφάλειας τους (Embuscado & Huber, 2009).

Οι εδώδιμες μεμβράνες έχουν τύχει ιδιαίτερης προσοχής τα τελευταία χρόνια, λόγω των πλεονεκτημάτων τους έναντι των συνθετικών. Κύριο χαρακτηριστικό τους αποτελεί το γεγονός ότι μπορούν να καταναλωθούν μαζί με το προϊόν που επικαλύπτουν. Ακόμα και αν δεν καταναλώνονται, εφόσον δε χρειάζεται επιπλέον συσκευασία για το τρόφιμο, συνεισφέρουν στη μείωση της ρύπανσης του περιβάλλοντος. Ωστόσο, αν και οι βασικές λειτουργίες τους είναι παρόμοιες με εκείνες των συμβατικών συσκευασιών, αναφέρεται πως η χρήση τους απαιτεί και μια

εξωτερική συσκευασία για λόγους υγιεινής (Rodrigues & Fernandes, 2012). Τα επικαλυπτικά παράγονται αποκλειστικά από ανανεώσιμα εδώδιμα συστατικά και επιπλέον εκτιμάται ότι αποδομούνται πιο εύκολα από τα πολυμερή υλικά. Επιπροσθέτως, είναι ικανά να βελτιώνουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες των τροφίμων αλλά και να λειτουργήσουν ως φορείς αντιμικροβιακών και αντιοξειδωτικών ουσιών (Bourtoom, 2008).

4.2 Χρήση εδώδιμων μεμβρανών

Οι εδώδιμες μεμβράνες χρησιμοποιούνται για διάφορους σκοπούς σε ένα πλήθος προϊόντων, αν και συχνά αυτό δε γίνεται αντιληπτό από τους καταναλωτές. Μερικά γλυκά έχουν επικαλυπτικό, το οποίο αυξάνει τη διάρκεια ζωής τους και προσφέρει το επιθυμητό γυάλισμα. Εδώδιμες μεμβράνες χρησιμοποιούνται ακόμα και σε τηγανητές πατάτες, ώστε να προστατευτούν κατά την αποθήκευσή τους πριν το τηγάνισμα, και για να ελεγχθεί η απώλεια υγρασίας κατά το τηγάνισμα τους. Φαρμακευτικά χάπια συχνά επικαλύπτονται για να κρύψουν όποια πικρή ή ανεπιθύμητη γεύση πριν την κατάποση, καθώς και για να παρέχουν ελεγχόμενη απελευθέρωση του φαρμάκου. (Embuscado & Huber, 2009).

Τα επικαλυπτικά εφαρμόζονται στα τρόφιμα με διάφορους τρόπους:

- α. βυθίζοντας το προϊόν ή απλώνοντας σε αυτό ή ψεκάζοντάς το με διάλυμα που περιέχει τα συστατικά της επικάλυψης, έτσι ώστε να ενσωματωθεί η μεμβράνη απευθείας στην επιφάνεια του τροφίμου
- β. δημιουργώντας ανεξάρτητη μεμβράνη από διάλυμα ή μέσω θερμοδιαμόρφωσης για κάλυψη της επιφάνειας του τροφίμου

Τα χαρακτηριστικά των αυτόνομων υλικών πιθανώς να διαφέρουν από εκείνα που διαμορφώνονται στην επιφάνεια του τροφίμου. Για παράδειγμα, αυτόνομη μεμβράνη που παράγεται από διάλυμα με εξάτμιση βρέθηκε να έχει χαμηλότερη διαπερατότητα νερού από επικαλυπτικό που παρασκευάστηκε με ψεκασμό (Embuscado & Huber, 2009).

Ο πιο απλός τρόπος για να εφαρμοστεί μια μεμβράνη είναι απευθείας από το διάλυμα. Ανάλογα με τη συγκέντρωση του επικαλυπτικού διαλύματος, το προϊόν απορροφά την κατάλληλη ποσότητα του υλικού επίστρωσης για να διαμορφώσει το επιθυμητό στρώμα, το οποίο όταν στεγνώσει, αποτελεί ένα προστατευτικό φιλμ στην επιφάνεια του τροφίμου (Embuscado & Huber, 2009). Η επικάλυψη τροφίμων με ψεκασμό είναι η συνηθέστερα χρησιμοποιούμενη τεχνική (Rodrigues & Fernandes, 2012).

Μία ιδανική εδώδιμη μεμβράνη πρέπει να έχει τα εξής χαρακτηριστικά (Embuscado & Huber, 2009):

- Μη παρουσία τοξικών, αλλεργικών και μη-εύπεπτων συστατικών
- Παροχή δομικής σταθερότητας για αποφυγή της φθοράς της κατά τη μεταφορά, το χειρισμό και την έκθεση του τροφίμου
- Καλή προσκόλληση στην επιφάνεια του προϊόντος παρέχοντας ομοιόμορφη κάλυψη
- Έλεγχος της μετανάστευση του νερού τόσο εντός όσο και εκτός του προστατευμένου τροφίμου για διατήρηση της επιθυμητής περιεκτικότητας σε υγρασία
- Παροχή ημι-διαπερατότητας με σκοπό να διατηρείται η εσωτερική ισορροπία των αερίων
- Παρεμπόδιση της απώλειας συστατικών που σταθεροποιούν το άρωμα, τη γεύση, τα θρεπτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, που είναι απαραίτητα για την αποδοχή του προϊόντος από τον καταναλωτή
- Παροχή κατάλληλης επιφάνειας για προστασία του τροφίμου από ρύπανση, μόλυνση, πολλαπλασιασμό μικροβίων και άλλων ειδών φθοράς
- Διατήρηση ή βελτίωση των αισθητικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (π.χ. εμφάνιση, γεύση) του προϊόντος
- Δυνατότητα ενσωμάτωσης αντιοξειδωτικών και αντιμικροβιακών παραγόντων, ώστε να περιοριστεί η παρουσία τους μόνο στην επιφάνεια του τροφίμου και να ελαχιστοποιηθεί το κόστος και η παρέμβαση στη γεύση
- Εύκολη και οικονομική παρασκευή

4.3 Συστατικά εδώδιμων μεμβρανών

Τα κύρια συστατικά των τροφίμων που ανήκουν στην καθημερινή διατροφή του ανθρώπου (πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και λιπίδια) μπορούν να εκπληρώσουν τις απαιτήσεις για την παρασκευή των εδώδιμων μεμβρανών. Κατά γενικό κανόνα, τα λιπίδια χρησιμοποιούνται για τη μείωση της μεταφοράς του νερού, οι πολυσακχαρίτες για τον έλεγχο της μεταφοράς του οξυγόνου και άλλων αερίων, ενώ οι πρωτεΐνες παρέχουν μηχανική σταθερότητα στις μεμβράνες. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε μεμονωμένα είτε συνδυαστικά (Embucado & Huber, 2009).

Στις περισσότερες περιπτώσεις, εκτός από το κύριο υλικό της μεμβράνης, προστίθεται στο επικαλυπτικό διάλυμα και κάποιος πλαστικοποιητής, όπως γλυκερόλη, μαννιτόλη, σορβιτόλη και σουκρόζη, για να αποφευχθεί η θραύση της μεμβράνης (Embucado & Huber, 2009). Επιπλέον, για καλύτερη ομοιομορφία και καλύτερη προσκολλησιμότητα της επικάλυψης ενσωματώνεται στο διάλυμα κάποιο επιφανειοδραστικό συστατικό, όπως γαλακτωματοποιητής, το οποίο μειώνει την επιφανειακή τάση του διαλύματος, μειώνοντας έτσι τη διαφορά μεταξύ της επιφανειακής τάσης του προϊόντος και του επικαλυπτικού (Rodrigues & Fernandes, 2012). Με αυτόν τον τρόπο, μειώνονται επίσης και οι απώλειες της υγρασίας (Embucado & Huber, 2009). Το Tween 20 είναι ένας γαλακτωματοποιητής που χρησιμοποιείται συχνά. Για παράδειγμα, έχει χρησιμοποιηθεί σε εδώδιμες μεμβράνες αμύλου (Rodríguez & others, 2006), καθώς και σε μεμβράνες χιτοζάνης (Ziani &

others, 2008), με πλαστικοποιητή τη γλυκερόλη. Η καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη (CMC) αποτελεί ένα επίσης διαδεδομένο συστατικό της κατηγορίας των επιφανειοδραστικών ουσιών.

Στη συνέχεια παρατίθενται πληροφορίες για τις τρεις κατηγορίες κύριων υλικών, στα οποία βασίζεται η παρασκευή των εδώδιμων μεμβρανών, καθώς και μερικές από τις ευρέως χρησιμοποιούμενες ουσίες της κάθε κατηγορίας.

4.3.1. Εδώδιμες μεμβράνες από πρωτεΐνες

Λόγω των εγγενών ιδιοτήτων τους (την κρυσταλλικότητα, τη σύνθεση των αμινοξέων, τη υδροφοβικότητα/υδροφιλικότητα, το επιφανειακό φορτίο, το ισοηλεκτρικό σημείο, το μοριακό μέγεθος και το τρισδιάστατο σχήμα), οι πρωτεΐνες θεωρούνται εξαιρετικά υλικά για τη σύνθεση εδώδιμων μεμβρανών. Πρωτεΐνες τόσο ζωικής όσο και φυτικής προέλευσης χρησιμοποιούνται στην τεχνολογία των επικαλυπτικών (Embuscado & Huber, 2009).

Οι μεμβράνες που βασίζονται σε πρωτεΐνες παρασκευάζονται από διαλύματα που αποτελούνται από τρία κύρια συστατικά: πρωτεΐνη, διαλύτη και πλαστικοποιητή. (Embuscado & Huber, 2009). Ο διαλύτης συνήθως περιορίζεται σε νερό, αιθανόλη ή μίγμα αιθανόλης-νερού (Bourtoom, 2008). Ο κύριος μηχανισμός σχηματισμού μεμβρανών από πρωτεΐνες περιλαμβάνει μετουσίωση των πρωτεϊνών, η οποία προκαλείται με θερμότητα, διαλύτες ή αλλαγή του pH. Πραγματοποιείται ένωση των πεπτιδικών αλυσίδων μέσω νέων μοριακών αλληλεπιδράσεων (δεσμών υδρογόνου, ιοντικών, υδρόφοβων και ομοιοπολικών δεσμών) και σχηματίζεται η δομή που απαιτείται για την παρασκευή του επικαλυπτικού (Rodrigues & Fernandes, 2012, Bourtoom, 2008). Οι μεμβράνες πρωτεϊνικής φύσεως αποτελούν καλούς παρεμποδιστές του οξυγόνου, ιδιαίτερα σε χαμηλή σχετική υγρασία (Bourtoom, 2008).

4.3.1.1. Καζεΐνη

Η καζεΐνη αποτελεί την κύρια πρωτεΐνη (80%) των γαλακτοκομικών προϊόντων. Υπάρχουν τέσσερις βασικές υπομονάδες της, η α -s1-καζεΐνη, η α -s2-καζεΐνη, η β -καζεΐνη και η κ-καζεΐνη, που απαρτίζουν το 38%, 10%, 36% και 13% της καζεΐνης, αντίστοιχα. Κάθε μία έχει μοναδικές ιδιότητες που επηρεάζουν την ικανότητα της καζεΐνης να σχηματίζει μεμβράνες (Embuscado & Huber, 2009). Περιορισμένη έρευνα έχει διεξαχθεί για επικαλυπτικά που βασίζονται στα επιμέρους κλάσματά της, λόγω του υψηλού κόστους παραγωγής. Ωστόσο, αναφέρεται πως οι μεμβράνες της β -καζεΐνης έχουν χαμηλότερη διαπερατότητα σε αέρια και υδρατμούς από εκείνες άλλων πρωτεϊνών γάλακτος (Khwaldia & others, 2004).

Η καζεΐνη αναφέρεται πως έχει καλύτερες ιδιότητες γαλακτωματοποίησης από πρωτεΐνες ορού γάλακτος, γεγονός που αποδίδεται στην υψηλότερη περιεκτικότητά της στο αμινοξύ προλίνη. Οι καζεΐνες είναι διαλυτές και ικανές να σχηματίζουν μεμβράνες που παρουσιάζουν αντίσταση στη θερμική μετουσίωση ή/και πήξη, με

αποτέλεσμα τα συγκεκριμένα επικαλυπτικά να παραμένουν σταθερά σε ένα μεγάλο εύρος του pH, της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης αλάτων. Επιπλέον, καζεϊνικά άλατα χρησιμοποιούνται ως υλικά των εδώδιμων μεμβρανών, λόγω της τυχαίας ελικοειδούς φύσης τους και της ικανότητάς τους να σχηματίζουν εκτεταμένους διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου, ηλεκτροστατικούς και υδρόφοβους δεσμούς. Αυτές οι μεμβράνες είναι εύκολα υδατοδιαλυτές, ωστόσο η υποβολή τους σε ρυθμιστικό διάλυμα στο ισοηλεκτρικό σημείο της καζεΐνης, τις καθιστά αδιάλυτες στο νερό (Khwaldia & others, 2004). Επικάλυψη καζεϊνικού νατρίου φαίνεται να προστάτευσε chips πατάτας από την απορρόφηση μεγάλης ποσότητας ελαίου κατά το τηγάνισμά τους, μειώνοντας το ποσοστό αυτό κατά 14.5%, σύμφωνα με τους Aminlari & others (2005). Επίσης, αποδείχθηκε πως η πρωτεϊνική επικάλυψη μείωσε την ανάπτυξη του αριθμού υπεροξειδίων κατά την αποθήκευση των chips στους 25 °C σε διάστημα 12 εβδομάδων, με την επικάλυψη ορού γάλακτος, ωστόσο, να παρουσιάζει χαμηλότερες τιμές PV.

4.3.1.2. Ζελατίνη

Η ζελατίνη λαμβάνεται από ελεγχόμενη υδρόλυση του κολλαγόνου, το οποίο αποτελεί κύριο συστατικό του δέρματος, των ιστών και του συνδετικού ιστού. Χαρακτηριστικό γνώρισμα της ζελατίνης είναι η υψηλή περιεκτικότητά της στα αμινοξέα γλυκίνη, προλίνη και υδροξυπρολίνη. Περίπου στους 40 °C, τα υδατικά διαλύματά της είναι σε κολλοειδή κατάσταση και σχηματίζουν πήγμα κατά την ψύξη. Η ζελατίνη ενσωματώνεται σε χαμηλής υγρασίας ή ελαιώδους φάσης συστατικά τροφίμων, καθώς και σε φαρμακευτικά προϊόντα. Παρέχει προστασία έναντι του οξυγόνου και του φωτός. Επιπροσθέτως, οι μεμβράνες από ζελατίνη έχουν χρησιμοποιηθεί για την επικάλυψη κρεάτων για μείωση του οξυγόνου, της υγρασίας και της μεταφοράς ελαίου (Bourtoom, 2008). Η αναζήτηση εναλλακτικών πρώτων υλών ζελατίνης έχει ενταθεί, ενώ η χρήση ζελατίνης από προϊόντα κρέατος και από ιχθύες έχει αρχίσει να αυξάνεται (Hosseini & others, 2015).

4.3.1.3. Ζεΐνη καλαμποκιού

Η ζεΐνη αποτελεί την πιο σημαντική πρωτεΐνη του καλαμποκιού και είναι σχετικά υδρόφοβη και θερμοπλαστική ουσία. Η υδρόφοβη φύση της σχετίζεται με την υψηλή σύστασή της σε μη πολικά αμινοξέα. Οι εδώδιμες μεμβράνες από ζεΐνη σχηματίζονται με ξήρανση υδατικών διαλυμάτων αιθανόλης της πρωτεΐνης. Διαλύεται σε 70-80% αιθανόλη. Έχει εξαιρετικές ιδιότητες σχηματισμού μεμβράνης και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή βιοαποδομήσιμων επικαλυπτικών. Η μεμβράνη από ζεΐνη σχηματίζεται μέσω ανάπτυξης υδροφοβικών δεσμών, δεσμών υδρογόνου και περιορισμένων δισουλφιδικών δεσμών μεταξύ των αλυσίδων της πρωτεΐνης. Επικαλυπτικά από ζεΐνη καλαμποκιού προσφέρουν καλή φραγή των υδρατμών σε σύγκριση με άλλες μεμβράνες. Επίσης, έχουν δείξει μια ικανότητα στη μείωση της υγρασίας και στην καθυστέρηση της αλλαγής χρώματος σε φρέσκες ντομάτες. Ωστόσο, απαιτείται και χρήση πλαστικοποιητή, καθώς χωρίς την προσθήκη του, οι τελικές μεμβράνες είναι εύθραυστες (Bourtoom, 2008).

4.3.1.4. Γλουτένη σιταριού

Ο όρος γλουτένη σίτου αναφέρεται στις αδιάλυτες στο νερό πρωτεΐνες του αλεύρου σιταριού, που αποτελούνται από ένα μίγμα πολυπεπτιδικών μορίων, που θεωρούνται ως σφαιρικές πρωτεΐνες. Η συνεκτικότητα και η ελαστικότητα της γλουτένης διευκολύνουν το σχηματισμό της μεμβράνης. Αν και αδιάλυτη στο νερό, διαλύεται σε υδατικά διαλύματα υψηλού ή χαμηλού pH με χαμηλή ιοντική ισχύ. Εδώδιμες μεμβράνες σχηματίζονται με ξήρανση υδατικών διαλυμάτων αιθανόλης της γλουτένης. Ο μηχανισμός σχηματισμού μεμβράνης από γλουτένη περιλαμβάνει διάσπαση των εγγενών δισουλφιδικών δεσμών κατά τη θέρμανση του επικαλυπτικού διαλύματος, έπειτα σχηματισμό νέων δισουλφιδικών δεσμών κατά τη ξήρανση της μεμβράνης, καθώς εμπλέκονται και σχηματισμοί δεσμών υδρογόνου και υδρόφοβων δεσμών. Η προσθήκη πλαστικοποιητή κρίνεται και σε αυτήν την περίπτωση απαραίτητη, ώστε να βελτιωθεί η ευκαμψία της μεμβράνης. Ωστόσο, η προσθήκη του μπορεί να μειώσει την αντοχή του φιλμ, την ελαστικότητά του, καθώς και την ιδιότητά του να αποτελεί φράγμα των υδρατμών (Bourtoom, 2008).

4.3.1.5. Πρωτεΐνη σόγιας

Οι περισσότερες πρωτεΐνες της σόγιας είναι αδιάλυτες στο νερό, αλλά διαλυτές σε διάλυμα ουδέτερου άλατος. Η πρωτεΐνη της σόγιας έχει υψηλή σύσταση σε ασπαραγίνη και υπολείμματα γλουταμίνης. Μεμβράνες βασισμένες στην πρωτεΐνη σόγιας μπορούν να παραχθούν με δύο τρόπους: από θερμαινόμενο γάλα σόγιας, το οποίο παράγεται με άλεσή της με νερό, ή από διαλύματα υπερσυμπυκνωμάτων πρωτεΐνης σόγιας (Soy Protein Isolate, SPI). Ο σχηματισμός μεμβρανών τόσο από γάλα σόγιας όσο και από SPI ακολουθεί τον ίδιο μηχανισμό, ο οποίος είναι όμοιος με εκείνον που περιγράφηκε για τις εδώδιμες μεμβράνες βασισμένες σε γλουτένη (Bourtoom, 2008). Εδώδιμες μεμβράνες από πρωτεΐνη σόγιας (10% SPI) έδειξαν αποτελεσματικότητα έναντι της απορρόφησης ελαίου, κατά το τηγάνισμα chips πατάτας, σύμφωνα με τη μελέτη των Rayner & others (2000).

4.3.2. Εδώδιμες μεμβράνες από πολυσακχαρίτες

Οι πολυσακχαρίτες είναι βιοπολυμερή μακράς αλυσίδας και σχηματίζονται από επαναλαμβανόμενες ομάδες μονο- ή δι-σακχαρίτων, συνδεδεμένες με γλυκοσιδικούς δεσμούς. Ως συνέπεια του μεγάλου αριθμού υδροξυλίων και άλλων πολικών ομάδων στη δομή τους, οι δεσμοί υδρογόνου παίζουν σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό των μεμβρανών και τα χαρακτηριστικά τους. Αρνητικά φορτισμένα κόμμεα, όπως το αλγινικό, η πηκτίνη και η καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη (CMC), τείνουν να παρουσιάζουν μερικές διαφορετικές ιδιότητες ανάλογα με το pH. Λόγω του ότι είναι υδρόφιλοι, οι μεμβράνες από πολυσακχαρίτες παρέχουν ένα καλό φράγμα σε O₂ και CO₂, και ως εκ τούτου επιβραδύνουν την αναπνοή και την ωρίμανση των φρούτων. Από την άλλη πλευρά, η πολικότητα των πολυσακχαριτών τους καθιστά κακούς παρεμποδιστές των υδρατμών (Rodrigues & Fernandes, 2012).

4.3.2.1. Κυτταρίνη και παράγωγά της

Η κυτταρίνη και τα παράγωγά της (όπως αιθέρες και εστέρες) μαζί με το άμυλο είναι οι σημαντικότερες πρώτες ύλες για την επεξεργασία των εδώδιμων μεμβρανών. Η κυτταρίνη αποτελεί το πιο άφθονο πολυμερές στη γη. Έχει μερικώς κρυσταλλική δομή και είναι αδιάλυτη στο νερό. Ωστόσο, οι αιθέρες της κυτταρίνης, συμπεριλαμβανομένης της μεθυλοκυτταρίνης (MC), της υδροξυπροπυλοκυτταρίνης (HPC), της υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης (HPMC) και της καρβοξυμεθυλοκυτταρίνης (CMC), είναι υδατοδιαλυτές και παρουσιάζουν καλές ιδιότητες για το σχηματισμό επικαλυπτικών (Rodrigues & Fernandes, 2012). Οι μεμβράνες από MC, HPC, HPMC και CMC είναι γενικά άοσμες, άγευστες, διαφανείς, εύκαμπτες, μέτριας αντοχής, διαθέτουν ανθεκτικότητα σε έλαια και λίπη και μειώνουν την υγρασία και τη διαπέραση οξυγόνου (Bourtoom, 2008).

Το MC είναι το πιο ανθεκτικό στο νερό και το λιγότερο υδρόφιλο παράγωγο της κυτταρίνης, αλλά η διαπερατότητά του σε υδρατμούς είναι σχετικά υψηλή (Bourtoom, 2008). Μια επικάλυψη από MC έχει αποδειχθεί πως μειώνει τα ποσοστά αναπνοής σε αβοκάντο (Rodrigues & Fernandes, 2012). Τα MC και HPMC έχουν χρησιμοποιηθεί για να επιβραδύνουν την απορρόφηση ελαίου σε διαδικασίες τηγανίσματος προϊόντων. Το MC φάνηκε να είναι πιο αποτελεσματικό κατά της απορρόφησης ελαίου από chips πατάτας, έναντι του HPMC, με βάση τη μελέτη των García & others (2002). Αναφέρεται μάλιστα πως ο συνδυασμός 1% MC με πλαστικοποιητή σορβιτόλη 0.5%, προκάλεσε μείωση της απορρόφησης του ελαίου κατά 40.6%. Σύμφωνα με τους Balasubramaniam & others (1997), επικάλυψη HPMC παρεμπόδισε την απορρόφηση φυστικέλαιου σε ποσοστό 33.7%, κατά το τηγάνισμα πουλερικών στους 175 °C. Το MC θα μπορούσε επίσης, να εφαρμοστεί ως επίστρωση για προϊόντα ζαχαροπλαστικής ως παρεμποδιστής της μετανάστευσης των λιπιδίων (Bourtoom, 2008).

Το CMC χρησιμοποιείται σε πολλές εφαρμογές τροφίμων κυρίως για το ιξώδες του, τις ιδιότητες δέσμευσης νερού και την διαύγεια των διαλυμάτων που προσφέρει. Υπάρχουν διάφορες διαθέσιμες ποιότητες CMC ως προς το ιξώδες του, με τιμές που κυμαίνονται από 50 έως 13.000 cP σε νερό. Στις εφαρμογές των μεμβρανών προτιμάται CMC χαμηλού ιξώδους (Embuscado & Huber, 2009). Το CMC εμφανίζει θερμική ζελατινοποίηση και διαμορφώνει εξαιρετικές μεμβράνες, εξαιτίας της πολυμερικής δομής του και των υψηλού μοριακού βάρους αλυσίδων του (Ghanbarzadeh & others, 2010). Αποτελεί δεσμευτικό του νερού και της υγρασίας και επιπλέον είναι μη τοξικό και μη αλλεργικό (Tongdeesoontorn & others, 2011). Τα αποτελέσματα της έρευνας των Garmakhany & others (2012) έδειξαν πως η επικάλυψη chips πατάτας με CMC συγκέντρωσης 0.5% ή και μίγματος CMC-πηκτίνης (0.5 και 1%), μειώνει τις απώλειες υγρασίας των προϊόντων, κατά το τηγάνισμα, και βοηθά στη χαμηλότερη απορρόφηση ελαίου. Σύμφωνα με τους Singthong & Thongkaew (2009), επικαλυπτόμενα τηγανητά chips μπανάνας με 1 g CMC/100 mL H₂O και ζεματισμένα σε 0.25 g CaCl₂/100 mL H₂O, απορρόφησαν

πολύ λιγότερο έλαιο (23 g/100 g δείγματος), σε σύγκριση με μη επικαλυπτόμενα (40 g/100 g δείγματος), κατά το τηγάνισμά τους στους 150 °C σε φοινικέλαιο. Ίδια δράση παρατηρήθηκε και από chips επεξεργασμένα με 0.5 g CaCl₂/100 mL H₂O και 1 g πηκτίνης/100 mL, ενώ αλγινική μεμβράνη που παρασκευάστηκε υπό τις ίδιες συνθήκες με την πηκτίνη είχε υψηλότερα επίπεδα απορρόφησης (38 g/100 g δείγματος).

4.3.2.2. Χιτίνη-Χιτοζάνη

Η χιτίνη αποτελεί το δεύτερο, μετά την κυτταρίνη, πιο άφθονο βιοπολυμερές που συναντάται στη γη. Βρίσκεται κυρίως στον εξωτερικό σκελετό των μαλακοστράκων, στο κυτταρικό τοίχωμα των μυκήτων και σε άλλα βιολογικά υλικά. Η χιτοζάνη προέρχεται από την χιτίνη με αποακετυλίωση σε αλκαλικό περιβάλλον. Οι χιτοζάνες χαρακτηρίζονται από το βαθμό της αποακετυλίωσης και το μέσο μοριακό βάρος και η σημασία τους έγκειται στις αντιμικροβιακές ιδιότητές τους σε συνδυασμό με την κατιονικότητα και τις ιδιότητες σχηματισμού μεμβρανών. Η χιτοζάνη μπορεί να σχηματίσει ημιδιαπερατές μεμβράνες, οι οποίες έχουν την ικανότητα να τροποποιούν την εσωτερική ατμόσφαιρα, και με αυτόν τον τρόπο να καθυστερούν την ωρίμανση σε φρούτα και λαχανικά (Bourtoom, 2008). Επιπλέον, έχει αναφερθεί πως μειώνουν τη μικροβιακή ανάπτυξη σε επιφάνειες φρούτων (Rodrigues & Fernandes, 2012). Τα επικαλυπτικά από υδατικά διαλύματα χιτοζάνης είναι εύκαμπτα, σκληρά και είναι καλοί παρεμποδιστές του οξυγόνου. Υδατικό διάλυμα χιτοζάνης (2%), σύμφωνα με τους Fan & others (2009), είχε θετική επίδραση στην ποιότητα και στη διάρκεια ζωής κατεψυγμένου ιχθύος (ασημοκυπρίνου), έπειτα από μικροβιολογικούς (TVC), χημικούς (pH, TBA, TVB-N, K-value) και οργανοληπτικούς προσδιορισμούς. Η διαπερατότητα του διοξειδίου του άνθρακα θα μπορούσε να βελτιωθεί με μεθυλίωση του πολυμερούς. Έχει παρατηρηθεί ότι κατά την αποθήκευσή τους, οι μεμβράνες από χιτοζάνη ήταν σχετικά σταθερές, ενώ οι μηχανικές, καθώς και οι ιδιότητες φραγής τους μεταβλήθηκαν μόνο ελαφρώς. Συνήθως χρησιμοποιούνται ως αντιμικροβιακή επίστρωση σε φρούτα και λαχανικά, όπως φράουλες, αγγούρια, πιπεριές και ως φράγμα αερίων σε μήλα, αχλάδια, ροδάκινα και δαμάσκηνα (Bourtoom, 2008).

4.3.2.3. Καραγεννάνη

Οι καραγεννάνες είναι φυσικά, υδατοδιαλυτά υδροκολλοειδή, που αποτελούνται από μία γραμμική αλυσίδα θειωμένων γαλακτάνων και εξάγονται από ορισμένα είδη κόκκινων φυκιών. Μερικά από τα πιο γνωστά είδη καραγεννάνης που χρησιμοποιούνται στην τεχνολογία τροφίμων είναι οι: ι, κ και λ. Οι διαφορές μεταξύ τους οφείλονται στο βαθμό θείωσης (Embuscado & Huber, 2009). Αποτελούν πιθανά υλικά για το σχηματισμό μεμβρανών, καθώς τα διαλύματά τους σχηματίζουν συμπαγείς και δομημένες μεμβράνες (Shojaee-Aliabadi & others, 2013). Σύμφωνα με μελέτη των Shojaee-Aliabadi & others (2013), η κ-καραγεννάνη παράγει ένα διαυγές φιλμ με μηχανικές και δομικές ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένης της αντοχής εφελκυσμού, υψηλότερες από εκείνες της ι-καραγεννάνης.

4.3.2.4. Άμυλο

Το άμυλο είναι ένα πολυμερές που αποτελείται από μονάδες ανυδρογλυκόζης. Δεν είναι ομοιόμορφο υλικό και τα περισσότερα άμυλα περιέχουν δύο τύπους πολυμερών γλυκόζης: ένα μόριο γραμμικής αλυσίδας που ονομάζεται αμυλάση και ένα διακλαδισμένο πολυμερές της γλυκόζης, την αμυλοπηκτίνη. Το άμυλο χρησιμοποιείται συχνά στις βιομηχανίες τροφίμων. Το χαμηλό του κόστος, η ικανότητά του να ανανεώνεται και οι καλές μηχανικές ιδιότητές του, του επιτρέπουν να χρησιμοποιείται συχνά για την παραγωγή βιοαποδομήσιμων μεμβρανών. Μία καλή πηγή αμύλου που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή επικαλυπτικών είναι το άμυλο αραβοσίτου, το οποίο περιέχει υψηλά ποσοστά αμυλόζης (Bourtoom, 2008). Σύμφωνα με τους Bravin & others (2006), το άμυλο αραβοσίτου παρέττεινε τη διάρκεια ζωής κράκερ, σε συνθήκες σχετικής υγρασίας 65, 75 και 85%, ενώ αντίστοιχα αποτελέσματα αναφέρουν και για μεμβράνη MC. Η αμυλόζη έχει τη δυνατότητα να σχηματίζει συνεκτικές και ισχυρές μεμβράνες (Rodrigues & Fernandes, 2012). Έρευνες έχουν δείξει πως μεμβράνες που παράγονται από άμυλο αραβοσίτου δεν είχαν ανιχνεύσιμη διαπερατότητα οξυγόνου σε επίπεδα σχετικής υγρασίας μικρότερα από 100%. Μάλιστα αυτό παρατηρήθηκε τόσο σε πλαστικοποιημένες μεμβράνες όσο και μη. Ανεξάρτητες μεμβράνες μπορούν να διαμορφωθούν από υδατικά διαλύματα ζελατοποιημένου αμύλου πλούσιου σε αμυλόζη με ξήρανσή τους (Bourtoom, 2008). Από την άλλη μεριά, μεμβράνες που βασίζονται στην αμυλοπηκτίνη εμφανίζουν εύθραυστη και μη συνεχή δομή (Rodrigues & Fernandes, 2012). Δύο μειονεκτήματα των εδώδιμων μεμβρανών από άμυλο, έχουν περιορίσει τη χρήση τους σε ελαφρώς επεξεργασμένα φρούτα. Πρώτον, χαρακτηρίζονται συνήθως από μικρή ελαστικότητα και επιπλέον, λόγω της υψηλής υδροφιλικότητάς του, οι ιδιότητες φραγμού μειώνονται με την αύξηση της σχετικής υγρασίας (Rodrigues & Fernandes, 2012).

4.3.3. Εδώδιμες μεμβράνες από λιπίδια

Τα λιπίδια που χρησιμοποιούνται ως προστατευτικές επιστρώσεις είναι ακετυλιωμένα μονογλυκερίδια, φυσικοί κηροί και επιφανειοδραστικές ουσίες. Η κύρια λειτουργία των μεμβρανών από λιπίδια είναι η παρεμπόδιση της μεταφοράς υγρασίας, εξαιτίας της σχετικά χαμηλής πολικότητάς τους, ενώ η υδρόφοβη συμπεριφορά τους καθιστά τις μεμβράνες παχύτερες και πιο εύθραυστες. Κατά συνέπεια, τα συγκεκριμένα επικαλυπτικά πρέπει να συνδυάζονται με εκείνα από πρωτεΐνες ή από παράγωγα κυτταρίνης (Bourtoom, 2008). Επιπλέον, δεν είναι βιοπολυμερή, με αποτέλεσμα να μην έχουν τη δυνατότητα να σχηματίσουν συνεκτικές ανεξάρτητες μεμβράνες. Για το λόγο αυτό, συχνά υποστηρίζονται από μία δομή πολυμερούς, συνήθως έναν πολυσακχαρίτη, ο οποίος τους παρέχει μηχανική αντοχή (Rodrigues & Fernandes, 2012, Bourtoom, 2008).

4.3.3.1. Κηροί

Οι κηροί είναι πιο ανθεκτικοί στη διάχυση του νερού από άλλα υλικά που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών, εξαιτίας της πολύ χαμηλής περιεκτικότητάς τους σε πολικές ομάδες και της υψηλής σύστασής τους σε μακράς αλυσίδας λιπαρές αλκοόλες και αλκάνια. Υπάρχει μια ποικιλία φυσικών κηρών που προέρχονται από λαχανικά (π.χ. ζαχαροκάλαμο), ορυκτά (π.χ. παραφίνη) και ζώα (π.χ. κεριά μέλισσας), ενώ παράγονται και συνθετικοί κηροί (π.χ. από πολυαιθυλένιο) (Rodrigues & Fernandes, 2012). Οι κηροί χρησιμοποιούνται για να βελτιώσουν την εμφάνιση της επιφάνειας διαφόρων τροφίμων, όπως φρούτα, λαχανικά, τυριά, γλυκά, αλλά και ως παρεμποδιστές των αερίων και της υγρασίας. Αναφέρεται πως όταν εφαρμόζονται σε λεπτά στρώματα θεωρούνται βρώσιμα, ενώ αν ενσωματώνονται ως παχιά στρώματα, τότε πρέπει να αφαιρούνται πριν την κατανάλωση του τροφίμου (Bourtoom, 2008).

4.3.3.2. Γλυκερίδια

Μονογλυκερίδια και τριγλυκερίδια μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως επικαλυπτικά υλικά. Οι λειτουργικές τους ιδιότητες και ειδικά η διαπερατότητα των υδρατμών εξαρτώνται από τη χημική δομή τους. Τριγλυκερίδια μακράς αλυσίδας είναι αδιάλυτα στο νερό, ενώ μικρής αλυσίδας μόρια είναι μερικώς διαλυτά στο νερό. Ακόρεστα λιπαρά οξέα έχουν σημαντικά αυξημένα ποσοστά μεταφοράς υγρασίας σε σύγκριση με τα αντίστοιχα για τα κορεσμένα. Επίσης, η διακλάδωση της ακυλικής αλυσίδας οδηγεί σε αυξημένη διαπερατότητα των υδρατμών. Εστέρες οξικού οξέος των μονογλυκεριδίων, που ονομάζονται ακετυλιωμένα μονογλυκερίδια, βρίσκουν επίσης εφαρμογή ως υλικά για επικάλυψη τροφίμων. Με την αύξηση του βαθμού της ακετυλίωσης, βελτιώνεται η ικανότητά τους να λειτουργούν ως φράγμα της υγρασίας (Rodrigues & Fernandes, 2012). Ακετυλιωμένο μονογλυκερίδιο έχει χρησιμοποιηθεί για επίστρωση κρέατος για να καθυστερήσει την απώλεια υγρασίας κατά την αποθήκευσή του (Bourtoom, 2008). Επίσης, έχει αποδειχθεί από τους Stuchell & Krochta (1995) η αποτελεσματικότητα χαμηλού σημείου τήξεως ακετυλιωμένου μονογλυκεριδίου έναντι της απώλειας υγρασίας και της οξειδωσης λιπιδίων κατεψυγμένου σολομού. Ωστόσο, έχουν αναφερθεί ορισμένα προβλήματα σχετικά με τη χρήση τους, όπως η ανεπιθύμητη επίγευση και η τάση των υψηλά κορεσμένων ακετυλιωμένων μονογλυκεριδίων να ραγίζουν κατά την αποθήκευση (Rodrigues & Fernandes, 2012).

4.3.4. Σύνθετες επιστρώσεις

Με τη χρήση των σύνθετων επιστρώσεων επιτρέπεται η εκμετάλλευση του πλεονεκτήματος του κάθε συστατικού και η ελαχιστοποίηση των μειονεκτημάτων του. Αυτές οι ετερογενείς μεμβράνες παρασκευάζονται σε μορφή γαλακτώματος, εναιωρήματος, σε διαδοχικά στρώματα ή σε μορφή ενός διαλύματος σε κοινό διαλύτη. Η μέθοδος που εφαρμόζεται επηρεάζει τις ιδιότητες φραγμού των τελικών μεμβρανών (Bourtoom, 2008).

Πολλές μελέτες έχουν διεξαχθεί για τη χρήση των σύνθετων επιστρώσεων. Στις περισσότερες σύνθετες επιστρώσεις συνδυάζεται ένα υδρόφοβο συστατικό (συνήθως λιπίδιο) με μία υδρόφιλη μονάδα. Δεδομένου ότι οι πολυσακχαρίτες και οι πρωτεΐνες είναι λιγότερο διαπερατά στα αέρια σε σύγκριση με τα λιπίδια, η παρουσία τους σε μεμβράνες των τελευταίων είναι χρήσιμες, ώστε να επιβραδυνθεί η γήρανση των τροφίμων, ενώ τα λιπίδια μειώνουν τη ξήρανσή τους. Οι συνθετικές επιστρώσεις παράγονται είτε ως διπλές στιβάδες είτε ως σταθερά γαλακτώματα. Στην πρώτη περίπτωση, η μεμβράνη του λιπιδίου ενσωματώνεται πάνω από ένα άλλο στρώμα πολυσακχαρίτη ή πρωτεΐνης, ενώ στη περίπτωση του γαλακτώματος το λιπίδιο διασπείρεται και παγιδύεται στην υποστηρικτική μονάδα του βιοπολυμερούς. Σύμφωνα με μελέτη, στρώμα λιπιδίου που προστέθηκε σε μεμβράνη αμύλου μείωσε την κρυσταλλική δομή του. Έχει αναφερθεί ακόμη, πως η προσθήκη λιπιδίου, μειώνει την αναλογία υδροφιλίας-υδροφοβίας των μεμβρανών, με αποτέλεσμα να περιορίζεται σε μεγαλύτερο βαθμό η διαπερατότητα των υδρατμών. Πολύ υψηλά επίπεδα συγκέντρωσης ορισμένων λιπιδίων μπορεί να σχηματίζουν μία εύθραυστη επικάλυψη και γι' αυτό πρέπει να εκτιμάται η βέλτιστη συγκέντρωσή τους (Rodrigues & Fernandes, 2012). Η συνδυαστική χρήση του CMC με εδώδιμες μεμβράνες αμύλου έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει τις μηχανικές ιδιότητες του τελικού φιλμ και σχηματίζεται καλύτερο φράγμα προστατεύοντας αποτελεσματικά προϊόντα αρακά (Tongdeesoontorn & others, 2011). Συνδυασμός ζελατίνης, κόμμου ακακίας και χλωριούχου ασβεστίου φάνηκε αποτελεσματικός κατά της αμαύρωσης chips μετά το τηγάνισμά τους, σύμφωνα με τη μελέτη των Mazza & Qi (1991).

4.4 Ενσωμάτωση αντιοξειδωτικών κλασμάτων από αρωματικά φυτά σε εδώδιμες μεμβράνες

Η προσθήκη δραστικών ενώσεων, όπως τα αντιοξειδωτικά, στις εδώδιμες μεμβράνες ενισχύει τις λειτουργικές τους ιδιότητες. Τα αντιοξειδωτικά πριν την προσθήκη τους στα επικαλυπτικά πρέπει να αξιολογηθούν όχι μόνο για την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, αλλά και επιπλέον ως προς την επίδρασή τους (Eca & others, 2014):

- i. στις ιδιότητες των υλικών στα οποία ενσωματώνονται, όπως στη δύναμη συγκράτησής τους, και
- ii. στα χαρακτηριστικά του τροφίμου, π.χ. τη γεύση, το χρώμα και τις χημικές τροποποιήσεις του

Η αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα των εδώδιμων μεμβρανών μπορεί να δοκιμαστεί με διάφορες προσεγγίσεις. Σε ορισμένες μελέτες, η μεμβράνη αποσυντίθεται και ποικίλες δοκιμές εκτελούνται στην προκύπτουσα σύνθεση. Η διαδικασία διάλυσης της μεμβράνης εξαρτάται από το υλικό και τις ιδιότητες διαλυτότητάς του. Για παράδειγμα, μία μεμβράνη χιτοζάνης μπορεί να διαλυθεί σε απεσταγμένο νερό, ενώ πιο σύνθετες διαδικασίες (κατάψυξη, άλεση και εκχύλιση με μεθανόλη) είναι απαραίτητες για αλγινικές μεμβράνες. Ο έλεγχος της δραστικότητας ενός αντιοξειδωτικού με περισσότερες από μία μεθόδους είναι επιθυμητός για

καλύτερη προσέγγιση της δράσης του. Συχνά, έχουν εφαρμοστεί μέθοδοι παγίδευσης ριζών (DPPH, DPD, ABTS, FRAP). Επιπλέον, μπορεί να εκτελεστεί ο ποσοτικός προσδιορισμός συγκεκριμένων χημικών συστατικών, που είναι αναγνωρισμένα ως αντιοξειδωτικά, όπως οι φαινολικές ενώσεις (Bonilla & others, 2012). Στη συνέχεια, παρουσιάζονται μερικές έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί για τη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης εμπλουτισμένων εδώδιμων μεμβρανών με κλάσματα από αρωματικά φυτά της οικογένειας *Lamiaceae*, οι οποίες είναι πιθανόν ικανές να προστατεύσουν διάφορα τρόφιμα από την οξείδωση.

Κατά την έρευνα των Martucci & others (2015), αιθέριο έλαιο ρίγανης και λεβάντας ενσωματώθηκαν σε μεμβράνη από ζελατίνη βοδινού σε συγκεντρώσεις 2000-6000 ppm, το καθένα. Αφού πραγματοποιήθηκε πρώτα διάλυση των μεμβρανών, μετρήθηκε η αντιοξειδωτική τους ικανότητα έναντι της ρίζας DPPH. Η διαδικασία διάλυσης περιλάμβανε: εμβάπτιση των μεμβρανών σε υγρό άζωτο, σύνθλιψη, ανάμειξη συγκεκριμένης ποσότητας θρυμματισμένης μεμβράνης με κατάλληλη ποσότητα μεθανόλης και φυγοκέντριση. Τα αποτελέσματα της έρευνας υπέδειξαν την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση της ρίγανης, με το φιλμ με την προσθήκη των 6000 ppm να είναι περισσότερο δραστικό έναντι της ρίζας DPPH. Ίδια αποτελέσματα προέκυψαν και μέσω της μεθόδου FRAP. Η αντιοξειδωτική δράση του αιθέριου ελαίου της ρίγανης έχει διαπιστωθεί και σε άλλα είδη μεμβρανών. Σύμφωνα με τους Jouki & others (2014), η προσθήκη του σε μεμβράνες κολλώδους ουσίας από σπόρους κυδωνιού, αύξησε την αντιοξειδωτική δράση του επικαλυπτικού. Η αντιοξειδωτική ικανότητα του επικαλυπτικού παρατηρήθηκε μέσω της μεθόδου DPPH, αφού πρώτα πραγματοποιήθηκε διαλυτοποίησή του σε απεσταγμένο νερό. Επιπλέον, πραγματοποιώντας ενσωμάτωση του αιθέριου ελαίου σε διάφορες περιεκτικότητες (1, 1.5 και 2% v/v), κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο βαθμός αντιοξειδωτικής ικανότητας του φιλμ, όπως και το περιεχόμενό του σε φαινολικά συστατικά, είναι ανάλογος της ποσότητας της προστιθέμενης αντιοξειδωτικής ουσίας. Εκχυλίσματα ρίγανης μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν στην εφαρμογή των εδώδιμων μεμβρανών. Υδατικά εκχυλίσματα ρίγανης και δεντρολίβανου προστέθηκαν σε μεμβράνη ζελατίνης, τόσο από βοδινό όσο και από τόνο, σε παρόμοιες συγκεντρώσεις φαινολικών συστατικών, κατά τη μελέτη των Gómez-Estaca & others (2009). Πριν τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής τους δράσης, ήταν απαραίτητη η διάλυση των μεμβρανών σε οξικό οξύ στους 40 °C. Τα εκχυλίσματα φαίνεται να αύξησαν σημαντικά την αντιοξειδωτική δράση των μεμβρανών, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μεθόδου FRAP και της ABTS, με το εκχύλισμα της ρίγανης να παρέχει καλύτερη αποτελεσματικότητα από εκείνο του δεντρολίβανου. Όπως είναι λογικό, οι μεμβράνες με το εκχύλισμα της ρίγανης εμφάνισαν και υψηλότερο περιεχόμενο σε φαινολικά συστατικά.

Το θυμάρι φαίνεται να μειώνει την οξείδωση των εδώδιμων μεμβρανών. Οι Bonilla & others (2013) αναφέρουν την αντιοξειδωτική ικανότητα του αιθέριου ελαίου του φυτού σε σύνθετη μεμβράνη αμύλου-χιτοζάνης (4:1). Το επίπεδο προσθήκης ήταν 0.1 g/g αμύλου, ενώ διέκριναν και την αποτελεσματική δράση της α-

τοκοφερόλης, η οποία προστέθηκε υπό τις ίδιες συνθήκες. Τα συμπεράσματα προέκυψαν μέσω φασματοφωτομετρικής μεθόδου, που βασίζεται στη σύγκριση της αντιοξειδωτικής δράσης του δείγματος με εκείνη του πρότυπου αντιοξειδωτικού Trolox, ενώ πρώτα πραγματοποιήθηκε διάλυση των μεμβρανών (θραύση, εκχύλιση σε υδρο-αλκοολικό μίγμα). Οι Jouki & others (2014), σε αντίστοιχο πείραμα με εκείνο που πραγματοποιήθηκε για τη ρίγανη, ενσωμάτωσαν αιθέριο έλαιο θυμαριού σε συγκεντρώσεις 1, 1.5 και 2% σε εδώδιμες μεμβράνες βασισμένες σε κολλώδη ουσία από σπόρους κυδωνιού. Προσδιορίζοντας την ικανότητα δέσμευσης της ρίζας DPPH, φάνηκε πως οι εμπλουτισμένες μεμβράνες είχαν υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση από τη μη εμπλουτισμένη, με την αποτελεσματικότητά τους να βελτιώνεται με την αύξηση της περιεκτικότητας του αιθέριου ελαίου. Τα συμπεράσματα έρχονται σε πλήρη συμφωνία με τα αντίστοιχα για τη ρίγανη, ωστόσο, η αντιοξειδωτική ικανότητα του θυμαριού βρέθηκε να είναι χαμηλότερη σε σύγκριση με εκείνη της ρίγανης. Η χρήση του θυμαριού σε εδώδιμες μεμβράνες επιβεβαιώθηκε και από τους Pires & others (2011), οι οποίοι παρασκεύασαν εμπλουτισμένες μεμβράνες από πρωτεΐνη μπακαλιάρου με αιθέριο έλαιο θυμαριού σε διάφορες συγκεντρώσεις (0.025, 0.05, 0.1 και 0.25 mL αιθέριου ελαίου/g πρωτεΐνης). Πραγματοποιώντας πρώτα εμβάπτιση των μεμβρανών σε υγρό άζωτο, άλεση και προσθήκη σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl, ώστε να διαλυτοποιηθούν, προσδιόρισαν την ικανότητα των επικαλυπτικών για παγίδευση της ρίζας DPPH. Φάνηκε ότι η προσθήκη του αιθέριου ελαίου του θυμαριού αύξησε την αντιοξειδωτική δράση των μεμβρανών, με την προσθήκη των 0.25 mL να παρέχει πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα.

Οι Shojaee-Aliabadi & others (2013) εξέτασαν τη δράση αρωματικού φυτού του γένους *Satureja* της οικογένειας *Lamiaceae* σε εδώδιμη μεμβράνη κ-καραγεννάνης. Συγκεκριμένα, μελέτησαν το αιθέριο έλαιο του φυτού *Satureja hortensis*, τα κύρια φαινολικά συστατικά του οποίου (καρβακρόλη, γ-τερπινένιο, π-κυμένιο) είναι όμοια με εκείνα που εντοπίστηκαν και στα αιθέρια έλαια της *Satureja thymbra*, που εξετάστηκε στην Παράγραφο 2.2.3. Πραγματοποιήθηκε προσθήκη του αντιοξειδωτικού σε συγκεντρώσεις 1, 2 και 3% σε μεμβράνες κ-καραγεννάνης που περιείχαν ως πλαστικοποιητή γλυκερόλη και Tween 80 ως γαλακτωματοποιητή. Οι εμπλουτισμένες μεμβράνες έδειξαν καλές αντιοξειδωτικές ιδιότητες μέσω της μεθόδου DPPH, αφού πρώτα διαλύθηκαν σε απεσταγμένο νερό, με το βέλτιστο αποτέλεσμα να εμφανίζεται σε επίπεδο προσθήκης του αιθέριου ελαίου 3%.

4.5 Εφαρμογή εδώδιμων μεμβρανών με φυσικά αντιοξειδωτικά σε τρόφιμα

Τα τελευταία χρόνια, αρκετές εδώδιμες μεμβράνες έχουν ελεγχθεί ως παράγοντες προστασίας τροφίμων τόσο υψηλής περιεχόμενης υγρασίας (κρέας, ιχθύες, φρούτα και λαχανικά) όσο και χαμηλής (ξηροί καρποί) (Bonilla & others, 2012). Η ενσωμάτωση φυσικών αντιοξειδωτικών σε εδώδιμες μεμβράνες για την προστασία των τροφίμων από την οξείδωση είναι μία τεχνική που έχει αρχίσει να αναπτύσσεται πρόσφατα. Κατά την ενσωμάτωσή τους στα επικαλυπτικά, τα αντιοξειδωτικά

συγκρατούνται στην επιφάνεια του τροφίμου και το προστατεύουν αποτελεσματικά από την οξείδωση, καθώς αποτελεί ένα επιφανειακό φαινόμενο (Embuscado & Huber, 2009). Έχει αναφερθεί πως η προσθήκη αιθέριων ελαίων αρωματικών φυτών σε εδώδιμες μεμβράνες, αντί της εφαρμογής τους απευθείας στο τρόφιμο, μπορεί να συμβάλει στη μείωση της απαιτούμενης δόσης του αντιοξειδωτικού, διατηρώντας τη δραστηριότητά του (Shojaee-Aliabadi & others, 2013). Εδώδιμες μεμβράνες που περιέχουν αντιοξειδωτικές ουσίες από αρωματικά φυτά αποτελούν μία φυσική και βιοδιασπώμενη εναλλακτική λύση έναντι των χημικών συντηρητικών, καθώς επίσης ενεργούν ως προστατευτικοί παράγοντες έναντι της οξείδωσης των τροφίμων, παρατείνοντας τη διάρκεια ζωής τους (Eca & others, 2014).

4.5.1. Επικάλυψη ιχθύων με αντιοξειδωτικές εδώδιμες μεμβράνες

Όσον αφορά στους ιχθύες, οι εδώδιμες επικαλύψεις μπορούν να βελτιώσουν την ποιότητα των φρέσκων, κατεψυγμένων και επεξεργασμένων προϊόντων με τους εξής τρόπους (Gennadios & others, 1997):

- καθυστερώντας την απώλεια της υγρασίας
- μειώνοντας την οξείδωση των λιπιδίων
- ενισχύοντας την εμφάνιση του προϊόντος
- λειτουργώντας ως φορείς προσθέτων, όπως αντιοξειδωτικών και αντιμικροβιακών ουσιών
- μειώνοντας την πρόσληψη ελαίου κατά τη διαδικασία του τηγανίσματος

Εδώδιμες μεμβράνες εμπλουτισμένες με αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών μειώνουν την οξείδωση των λιπιδίων σε προϊόντα ιχθύων, χωρίς να διακυβεύεται σημαντικά η οργανοληπτική ποιότητα του επικαλυπτόμενου προϊόντος (Sanchez-Gonzalez & others, 2011). Οι Jouki & others (2014) μελέτησαν την επίδραση εδώδιμων μεμβρανών από κολλώδη ουσία σπόρων κυδωνιού, που περιείχαν αιθέρια έλαια ρίγανης και θυμαριού, στην επέκταση της διάρκειας ζωής φιλέτων πέστροφας, κατά την αποθήκευσή τους στους 4 °C. Το κάθε αιθέριο έλαιο ενσωματώθηκε σε τρεις διαφορετικές περιεκτικότητες 1, 1.5 και 2%. Με τη μέθοδο TBARS, φάνηκε πως όλες οι εμπλουτισμένες μεμβράνες προστάτευσαν τους ιχθύες από την οξείδωση, με το επικαλυπτικό στο οποίο προστέθηκε το αιθέριο έλαιο της ρίγανης σε περιεκτικότητα 2% να παρουσιάζει την καλύτερη αποτελεσματικότητα. Σε ίδια συμπεράσματα κατέληξαν και με τη μέτρηση του αριθμού υπεροξειδίων (Jouki & others, 2014). Αιθέριο έλαιο κανέλας εξετάστηκε από τους Ojagh & others (2010) ως προς την αντιοξειδωτική του δράση σε επικαλυπτικό χιτοζάνης, για την προστασία πέστροφας, κατά την αποθήκευσή της στους 4 °C για 16 d. Η εδώδιμη μεμβράνη που περιείχε 2% χιτοζάνη και 1.5% v/v αιθέριο έλαιο, φάνηκε να παρατείνει τη διάρκεια ζωής του ιχθύος. Ωστόσο, μέσω προσδιορισμού του αριθμού υπεροξειδίου και των δεικτών TBARS, αποδείχθηκε πως και η ίδια η χιτοζάνη, χωρίς αιθέριο έλαιο, εμποδίζει την οξείδωση του ιχθύος, και μάλιστα προς το τέλος του χρόνου αποθήκευσης, παρουσίασε χαμηλότερες τιμές TBARS από την εμπλουτισμένη

μεμβράνη, γεγονός όμως που δεν επιβεβαιώθηκε και από τον αριθμό PV, όπου η μεμβράνη με το αιθέριο έλαιο έδειξε καλύτερη συμπεριφορά.

Η χρήση εδώδιμων μεμβρανών από ζελατίνη, εμπλουτισμένες με υδατικά εκχυλίσματα αρωματικών φυτών, φαίνεται να είναι μία πολλά υποσχόμενη τεχνολογία για τα υλικά συσκευασίας τροφίμων. Μπορούν να ενισχύσουν το φράγμα οξυγόνου, καθώς και να μειώσουν την επιφάνεια των μικροβιακών πληθυσμών (Martucci & others, 2015). Εκχυλίσματα της ρίγανης έχουν ενσωματωθεί σε επικαλυπτικά για αύξηση της διατηρησιμότητας ιχθύων. Εδώδιμες μεμβράνες ζελατίνης εμπλουτίστηκαν από τους Gómez-Estaca & others (2007) με υδατικό εκχύλισμα ρίγανης σε περιεκτικότητα 1.25%, για τη χρήση τους ως επικαλυπτικό σε καπνιστά φιλέτα σαρδέλας. Αποθηκεύοντας τα δείγματα στους 5 °C και προσδιορίζοντας τον αριθμό υπεροξειδίων και τους δείκτες των TBARS, κατέληξαν στο συμπέρασμα πως το εκχύλισμα της ρίγανης είναι ικανό να περιορίσει αποτελεσματικά την οξείδωση του επικαλυπτόμενου ιχθύος. Από την ίδια μελέτη προέκυψαν αντίστοιχα αποτελέσματα κατά την ενσωμάτωση υδατικού εκχυλίσματος δεντρολίβανου σε επίπεδο προσθήκης 20%. Οι Ahmad & others (2012) πρόσθεσαν αιθέριο έλαιο λουίζας (lemongrass) σε περιεκτικότητα 25% w/w σε μεμβράνη ζελατίνης, ώστε να ελέγξουν την αντιοξειδωτική της δράση σε λαβράκι, το οποίο αποθηκεύτηκε στους 4 °C. Μέσω των τιμών του δείκτη TBARS, απέδειξαν πως η ενσωμάτωση του αιθέριου ελαίου της λουίζας μπορεί να ενισχύσει τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες της ζελατίνης και να παρατείνει τη διάρκεια ζωής των φετών από λαβράκι.

Οι Song & others (2011) πρόσθεσαν βιταμίνη C σε περιεκτικότητα 5% και πολυφαινόλες τσαγιού σε ποσοστό 0.3% σε μεμβράνες αλγινικού νατρίου. Οι εμπλουτισμένες αυτές μεμβράνες επέκτειναν τη διάρκεια ζωής τσιπούρας, η οποία αποθηκεύτηκε στους 4 °C, με τη βιταμίνη C να παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα, κατά τη μέτρηση των δεικτών TBARS. Επικαλυπτικά διαλύματα χιτοζάνης 3%, που περιείχαν και 10% ιχθυέλαιο, εμπλουτίστηκαν με βιταμίνη E, σε περιεκτικότητα 0.8%, από τους Duan & others (2010). Φρέσκα φιλέτα ενός είδους μπακαλιάρου (lingcod, *Ophiodon elongates*) επικαλύφθηκαν με τις εμπλουτισμένες μεμβράνες και αποθηκεύτηκαν στους 2 °C και στους -20 °C, για 3 εβδομάδες και 3 μήνες, αντίστοιχα. Μέσω της μεθόδου TBARS, διέκριναν την επιβράδυνση της οξείδωσης τόσο στο νωπό όσο και στο κατεψυγμένο δείγμα. Σκόνη πράσινου τσαγιού προστέθηκε σε ποσότητα 1 και 20% w/w σε εδώδιμη μεμβράνη ζελατίνης από πέστροφα και ελέγχθηκε ως προς την αντιοξειδωτική της δράση μέσω της μεθόδου DPPH, από τους Tamminen & others (2012). Αφού επιβεβαιώθηκε η αποτελεσματικότητα της μεμβράνης, χρησιμοποιήθηκε ως επικαλυπτικό σε μουρουνέλαιο, το οποίο αποθηκεύτηκε στους 40 °C για 20 ημέρες. Με τον προσδιορισμό του αριθμού υπεροξειδίων και των δεικτών TBARS, αποδείχθηκε η διατήρηση της αντιοξειδωτικής δράσης του τσαγιού και ως επικαλυπτικό σε συστήματα τροφίμων. Πρωτεϊνική μεμβράνη που περιέχει φοινικέλαιο και χιτοζάνη αναφέρεται από τους Artharn & others (2009) πως αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο

επικαλυπτικό για την πρόληψη της οξειδωσης λιπαρών τροφίμων. Συγκεκριμένα, μεμβράνη που περιείχε 25% φοινικέλαιο και 40% χιτοζάνη, έδειξε αντιοξειδωτική δράση, μειώνοντας τους δείκτες TBARS, σε αποξηραμένη σκόνη ψαριού, κατά την παρατεταμένη αποθήκευση του για πάνω από 21 ημέρες.

4.5.2. Επικάλυψη σνακς με αντιοξειδωτικές εδώδιμες μεμβράνες

Οι ξηροί καρποί, και γενικά τα σνακς, αποτελούν τρόφιμα πλούσια σε ακόρεστα λιπαρά οξέα, με αποτέλεσμα να είναι επιρρεπή στην οξείδωση των λιπιδίων. Όντας προϊόντα χαμηλής υγρασίας, θα πρέπει να αποθηκεύονται υπό ξηρές συνθήκες ώστε να διατηρήσουν την τραγανότητά τους. Μερικές μελέτες έχουν αποδείξει την αποτελεσματικότητα επικαλύψεων εμπλουτισμένων με αντιοξειδωτικά στην παράταση της διάρκειας ζωής αυτού του τύπου προϊόντων. Οι Lee & others (2002) χρησιμοποίησαν πρωτεϊνικές μεμβράνες ορού γάλακτος, οι οποίες περιείχαν βιταμίνη E (0.5% w/w) για να επικαλύψουν φιστίκια. Τα επικαλυπτόμενα φιστίκια αποθηκεύτηκαν στους 40, 50 και 60 °C σε ένα εύρος σχετικής υγρασίας 45-50%, για κάθε θερμοκρασιακή συνθήκη, και η οξείδωσή τους αξιολογήθηκε με μέτρηση της περιεκτικότητάς τους σε εξανάλη, μέσω αέριας χρωματογραφίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα επικαλυπτόμενα δείγματα ήταν πιο ανθεκτικά στην οξείδωση σε σύγκριση με τα μη επικαλυπτόμενα. Στην έρευνα των Baldwin & Wood (2006), μελετήθηκε η χρήση εδώδιμης μεμβράνης HPC εμπλουτισμένης με α -τοκοφερόλη σε ποσοστό 0.5%, για τη διατήρηση καρυδιών σε θερμοκρασία δωματίου. Προσδιορίζοντας τη σύσταση των σνακς σε εξανάλη, αποδείχθηκε η αποτελεσματική προστασία του επικαλυπτικού έναντι της οξείδωσης, τόσο σε διάστημα 5 όσο και 9 μηνών.

4.5.3. Εφαρμογή αντιοξειδωτικών εδώδιμων μεμβρανών σε προϊόντα κρέατος, φρούτα και λαχανικά

Στον Πίνακα 4.1 παρουσιάζονται εφαρμογές φυσικών αντιοξειδωτικών σε επικαλυπτικά διαφόρων άλλων τροφίμων. Δίνονται πληροφορίες σχετικά με το βασικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή της μεμβράνης, τα αντιοξειδωτικά συστατικά που εξετάστηκαν, καθώς και οι μέθοδοι προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής τους ικανότητας, που περιλαμβάνουν τόσο συνήθεις αναλύσεις (π.χ. TBARS, PV), όσο και άλλες, όπως η ποσοτικοποίηση της βιταμίνης C, που είναι μία γενικά αποδεκτή μέθοδος για την αξιολόγηση της οξείδωσης των φρούτων και των λαχανικών.

Σύμφωνα με τους Oussalah & others (2004), η προσθήκη αιθέριου ελαίου ρίγανης, πιπεριάς, καθώς και ο συνδυασμός τους, σε εδώδιμη μεμβράνη πρωτεϊνικής φύσεως σταθεροποίησε την οξείδωση των λιπιδίων βοδινού κρέατος, το οποίο είχε αποθηκευτεί στους 4 °C, όπως διαπιστώθηκε από τη μέθοδο TBARS. Επίσης, το αιθέριο έλαιο φάνηκε να έχει και αντιμικροβιακή δράση. Η χιτοζάνη και οι συνδυασμοί της με α -τοκοφερόλη και κυρίως με εκχύλισμα δεντρολίβανου, έδειξαν έντονη αντιοξειδωτική δράση, κατά την επικάλυψη χοιρινών λουκάνικων που

αποθηκεύτηκαν στους 4 °C, σύμφωνα με τα αποτελέσματα των μεθόδων TBARS και PV, στη μελέτη των Georgantelis & others (2007). Για την προστασία των χοιρινών λουκάνικων, οι Siripatrawan & Noirha (2012) εξέτασαν τη δράση εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού σε μεμβράνη χιτοζάνης. Με παρόμοιες συνθήκες αποθήκευσης στους 4 °C, διαπίστωσαν πως τα επικαλυπτόμενα λουκάνικα παρουσίασαν χαμηλότερες τιμές του δείκτη TBARS. Επίσης, η προσθήκη ασκορβικού νατρίου και κιτρικού οξέος σε εδώδιμη μεμβράνη, μείωσε την τιμή του δείκτη TBARS, δειγμάτων βοδινού κρέατος, σύμφωνα με την έρευνα των Chidanandaiah & others (2009).

Οι Ayrançi & Tunc (2003, 2004) χρησιμοποίησαν εμπλουτισμένες μεμβράνες MC με ασκορβικό και κιτρικό οξύ για την επικάλυψη μανιταριών και κουνουπιδιών. Διαπίστωσαν ότι οι επικαλύψεις που περιείχαν τα αντιοξειδωτικά, επιβράδυναν τις αντιδράσεις αμαύρωσης και την απώλεια της βιταμίνης C και στα δύο τρόφιμα. Τα δύο αντιοξειδωτικά παρουσίασαν παρόμοια συμπεριφορά κατά την εισαγωγή τους σε επικαλυπτικά βερίκοκων και πράσινων πιπεριών, τα οποία αποθηκεύτηκαν στους 25 °C, σε συνθήκες 84% σχετικής υγρασίας. Εδώδιμες μεμβράνες χιτοζάνης εμπλουτίστηκαν από τους Ponce & others (2008) με ελαιορητίνες δεντρολίβανου, κρεμμυδιού, σκόρδου, μούρων και πιπεριάς, ώστε να ελεγχθεί η δράση τους ως επικαλυπτικά σε κολοκύθια. Παρόλο που διαπιστώθηκε ότι δεν έχουν σημαντική αντιμικροβιακή δράση, οι αντιοξειδωτικές τους ικανότητες ήταν φανερές, ασκώντας αναστολή στην υπεροξειδάση και σημαντική αντιοξειδωτική δραστηριότητα στην πολυφαινολοξειδάση. Οι Xing & others (2011) ανέφεραν την αποτελεσματική δράση αιθέριου ελαίου κανέλας έναντι της υπεροξειδικής δισμουτάσης, της υπεροξειδάσης και της καταλάσης, έπειτα από ενσωμάτωσή της σε επικαλυπτικό (χιτοζάνης) γλυκιάς πιπεριάς. Επίσης, παρατήρησαν τις χαμηλότερες τιμές του δείκτη TBARS και το υψηλότερο περιεχόμενο σε βιταμίνη C στα επικαλυπτόμενα τρόφιμα, κατά την αποθήκευσή τους στους 8 °C, σε όλο το διάστημα της αποθήκευσής τους (35 ημέρες).

Φαίνεται λοιπόν πως η ενσωμάτωση φυσικών αντιοξειδωτικών σε διάφορα επικαλυπτικά αποτελεί σημαντικό πεδίο ενασχόλησης των ερευνητών. Επίσης, έχει ελεγχθεί σε μεγάλο βαθμό και η μικροβιολογική δράση διαφόρων αρωματικών φυτών κατά την προσθήκη τους σε εδώδιμες μεμβράνες για την επικάλυψη προϊόντων, επιδεικνύοντας εξίσου ικανοποιητικά αποτελέσματα. Για παράδειγμα, στη μελέτη της Χανιώτη (2011) αποδείχθηκε πως μεμβράνες χιτοζάνης, καθώς και HPMC εμπλουτισμένες με δεντρολίβανο και κορίανδρο προστάτευσαν προϊόντα κρέατος από μικροβιολογικές αλλοιώσεις, κυρίως κατά την αποθήκευσή τους στους 0 °C. Η χρήση φυσικών πηγών στην τεχνολογία τροφίμων αποτελεί πλέον έναν ευρύ κλάδο έρευνας, με ήδη πολλά θετικά ευρήματα και συνιστά ακόμη μία πολλά υποσχόμενη μέθοδο.

Πίνακας 4.1: Εφαρμογές εμπλουτισμένων μεμβρανών με φυσικά αντιοξειδωτικά σε προϊόντα κρέατος, φρούτα και λαχανικά

Εδώδιμη μεμβράνη	Αντιοξειδωτική ουσία	Εφαρμογή	Ανάλυση	Πηγή
Πρωτεϊνική (καζεϊνικό ασβέστιο και υπερσυμπυκνώματα ορού γάλακτος)	Αιθέριο έλαιο ρίγανης και πιπεριάς	Βοδινό κρέας	TBARS	Oussalah & others (2004)
Αλγινική μεμβράνη και γλυκερίνη	Ασκορβικό νάτριο, κιτρικό οξύ	Μπιφτέκια βοδινού κρέατος	TBARS	Chidanandaiah & others (2009)
Χιτοζάνη	Εκχύλισμα δεντρολίβανου, α-τοκοφερόλη	Χοιρινά λουκάνικα	PV, TBARS	Georgantelis & others (2007)
Χιτοζάνη	Εκχύλισμα πράσινου τσαγιού	Χοιρινά λουκάνικα	TBARS	Siripatrawan & Noipha (2012)
Πρωτεΐνη σόγιας	Φερουλικό οξύ	Χοιρινό λίπος	PV	Bonilla & others (2012)
Χιτοζάνη	Ελαιορητίνες δεντρολίβανου, κρεμμυδιού, σκόρδου, μούρων και πιπεριάς	Κολοκύθια	Δράση υπεροξειδάσης, πολυφαινολοξειδάσης	Ponce & others (2008)
MC	Ασκορβικό και κιτρικό οξύ	Μανιτάρια, κουνουπίδια	Δράση πολυφαινολοξειδάσης, ολικές φαινόλες, βιταμίνη C	Ayranci & Tunc (2003)
MC	Ασκορβικό και κιτρικό οξύ	Βερίκοκα, πράσινες πιπεριές	Βιταμίνη C	Ayranci & Tunc (2004)
Χιτοζάνη	Αιθέριο έλαιο κανέλας	Γλυκιά πιπεριά	Βιταμίνη C, TBARS, Δράση υπεροξειδικής δισμουτάσης, υπεροξειδάσης και καταλάσης	Xing & others (2011)

5. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

5.1. Σχεδιασμός πειραμάτων

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν να εξετασθεί η αντιοξειδωτική ικανότητα των κλασμάτων ορισμένων αρωματικών φυτών κατά την προσθήκη τους σε εδώδιμα έλαια αλλά και σε τρόφιμα. Επίσης, η δράση τους κατά την ενσωμάτωσή τους στο υλικό συσκευασίας των τροφίμων, καθώς και κατά την προσθήκη τους σε εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες. Για το σκοπό αυτό, πραγματοποιήθηκαν τρεις σειρές πειραμάτων.

Στην πρώτη σειρά πειραμάτων, παρασκευάστηκαν εκχυλίσματα διαφόρων αρωματικών φυτών της οικογένειας *Lamiaceae* και ενσωματώθηκαν σε έλαια, ώστε να ερευνηθεί η ικανότητά τους ως προς την παρεμπόδιση της οξειδωσης. Χρησιμοποιήθηκαν φυτά της οικογένειας *Lamiaceae* που είναι πολύ διαδεδομένα στην Ελλάδα και συγκεκριμένα θυμάρι, ρίγανη και θρούμπι. Ιδιαίτερα για τη ρίγανη, χρησιμοποιήθηκαν δύο χημειότυποι, ένας πλούσιος σε καρβακρόλη και ένας μικτός με καρβακρόλη και θυμόλη, ώστε να εντοπιστούν τυχόν διαφορές. Πριν την παραλαβή των αντιοξειδωτικών κλασμάτων τα φυτά είχαν υποβληθεί σε υδροατμοαπόσταξη, ώστε να απομακρυνθεί το αιθέριο έλαιο που θα προσέδιδε έντονο άρωμα στα τρόφιμα. Για να παραληφθούν και να εξετασθούν χωριστά κλάσματα των αντιοξειδωτικών συστατικών πλούσια σε άπολα φαινολικά συστατικά (φλαβονόλες, φλαβόνες) και πλούσια σε πολικότερα συστατικά (φαινολικά οξέα, γλυκοζίτες των φλαβονοειδών) έγιναν δύο διαδοχικές εκχυλίσεις με οξικό αιθυλεστέρα και αιθανόλη. Επίσης, εξετάστηκε εναλλακτικά και η παραλαβή όλων των συστατικών μαζί, με μία εκχύλιση με αιθανόλη στη ρίγανη μικτού χημειότυπου. Τα έλαια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αραβοσιτέλαιο και φοινικέλαιο. Πιο συγκεκριμένα, για το αραβοσιτέλαιο εξετάστηκαν όλα τα εκχυλίσματα του μικτού χημειότυπου της ρίγανης (οξικού αιθυλεστέρα, αιθανολικό και ολικό αιθανολικό εκχύλισμα) ώστε να συγκριθούν μεταξύ τους. Επιπλέον, μελετήθηκαν τα εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα από θυμάρι και από ρίγανη πλούσια σε καρβακρόλη, με σκοπό να κριθεί η αποτελεσματικότητα διαφόρων φυτών έναντι της οξειδωσης του ελαίου. Ακετονικό εκχύλισμα δεντρολίβανου χρησιμοποιήθηκε ακόμη για σύγκριση. Όσον αφορά στο φοινικέλαιο, εξετάστηκε η δράση των εκχυλισμάτων οξικού αιθυλεστέρα των ίδιων φυτών (θυμαριού και των δύο χημειότυπων της ρίγανης) για να παρατηρηθούν τυχόν διαφορές ή ομοιότητες στην αντιοξειδωτική τους δράση σε μία άλλη λιπαρή ύλη, αλλά και της *Satureja thymbra*. Τα εμπλουτισμένα έλαια (αραβοσιτέλαιο και φοινικέλαιο), καθώς και δείγματα των δύο ελαίων χωρίς αντιοξειδωτικό υπέστησαν δοκιμές οξειδωσης στους 70 °C. Ως αναλυτικός προσδιορισμός των πρωτογενών προϊόντων οξειδωσης χρησιμοποιήθηκε ο αριθμός υπεροξειδίων και συζυγών διενίων και τριενίων.

Στη συνέχεια, επιλέγοντας το έλαιο στο οποίο εμφανίστηκε η καλύτερη αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων και διακρίνοντας ένα αρωματικό φυτό που προσέφερε θετικά αποτελέσματα στις προηγούμενες δοκιμές οξειδωσης, μελετήθηκε

η επίδραση των εκχυλισμάτων του στην οξείδωση chips πατάτας. Αυτό αποτέλεσε αντικείμενο της δεύτερης σειράς πειραμάτων. Για το σκοπό αυτό, τηγανίστηκαν πατάτες σε φοινικέλαιο στους 180 °C και παρασκευάστηκαν 5 σειρές δειγμάτων chips. Η πρώτη σειρά αφορούσε πατάτες, οι οποίες τηγανίστηκαν σε εμπλουτισμένο φοινικέλαιο με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα από το φυτό θρούμπι. Χρησιμοποιήθηκε μόνο εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα επειδή περιέχει άπολα συστατικά και επομένως είναι λιποδιαλυτό. Το ίδιο εκχύλισμα, καθώς και το αιθανολικό εκχύλισμα (που περιέχει πιο πολικά συστατικά) ενσωματώθηκαν στην επιφάνεια των chips που τηγανίστηκαν σε καθαρό φοινικέλαιο (2^η, 3^η σειρά δειγμάτων), ενώ στην 4^η και 5^η σειρά δειγμάτων προστεθήκανε στο υλικό συσκευασίας των chips. Όλα τα δείγματα, όπως και δείγματα chips χωρίς καμία επεξεργασία με αντιοξειδωτικό, συσκευάστηκαν σε ατμοσφαιρικό αέρα και υπέστησαν αντίστοιχα πειράματα επιταχυνόμενης οξείδωσης σε κλίβανο στους 70 °C για 40 ημέρες. Λήφθηκαν δείγματα ανά τακτά χρονικά διαστήματα και για τον προσδιορισμό των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης των chips μετρήθηκε ο αριθμός υπεροξειδίων και συζυγών διενίων, ενώ για τον υπολογισμό των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης μετρήθηκε ο αριθμός π-ανισιδίνης. Επίσης, σε κάθε δειγματοληψία μετριόταν η περιεκτικότητα του O₂ εντός της κάθε συσκευασίας, για να αξιολογηθεί η συσχέτισή της με το στάδιο της οξείδωσης.

Τέλος, στην τρίτη σειρά πειραμάτων, η μελέτη της εργασίας στράφηκε στη δράση των φυσικών αντιοξειδωτικών κατά την προσθήκη τους σε εδώδιμες μεμβράνες για την επικάλυψη ιχθύων. Ως πηγές φυσικών αντιοξειδωτικών χρησιμοποιήθηκαν και πάλι τα εκχυλίσματα του φυτού *Satureja thymbra* (αιθανολικό και οξικού αιθυλεστέρα), ώστε να κριθεί η αποτελεσματικότητά τους κατά πρώτον, στην τεχνολογία των επικαλυπτικών και κατά δεύτερον, στην αλληλεπίδρασή τους με ένα πιο σύνθετο τρόφιμο. Επιπροσθέτως, διερευνήθηκε η καταλληλότητα και του αιθέριου ελαίου της *Satureja thymbra*, καθώς τα κλάσματα αυτά των αρωματικών φυτών διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην παρεμπόδιση της μικροβιακής ανάπτυξης και είναι ενδιαφέρον να διερευνηθεί η πιθανή παρεμπόδιση της οξείδωσης. Οι δραστικές ουσίες ενσωματώθηκαν σε επικαλυπτικές εδώδιμες μεμβράνες CMC. Συγκεκριμένα, παρασκευάστηκαν 3 σειρές δειγμάτων, στις οποίες η επικαλυπτική μεμβράνη περιείχε ένα από τα παραπάνω κλάσματα. Επίσης, παρασκευάστηκαν άλλες 2 σειρές δειγμάτων εκ των οποίων η μία περιείχε συνδυασμό του αιθέριου ελαίου με το αιθανολικό εκχύλισμα και η άλλη συνδυασμό αιθέριου ελαίου με το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα. Ως control δείγματα χρησιμοποιήθηκαν ιχθύες με εδώδιμη μεμβράνη χωρίς κάποιο αντιοξειδωτικό, αλλά και ιχθύες χωρίς καμία επικάλυψη. Και οι 7 σειρές δειγμάτων αποθηκεύτηκαν στους 0 °C και λαμβάνοντας δείγματα ανά τακτά χρονικά διαστήματα μετρήθηκε ο αριθμός υπεροξειδίων και της π-ανισιδίνης.

5.2. Πρώτες Ύλες – Αντιδραστήρια

Τα έλαια που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διπλωματική εργασία ήταν αραβοσιτέλαιο ραφινέ και φοινικέλαιο. Η προμηθευτική εταιρεία για το πρώτο ήταν η «MINEPBA A.E.», ενώ για το δεύτερο η «ΑΓΡΟΤΙΚΗ Α.Ε.».

Πατάτες παραλήφθηκαν από την εταιρεία Τσακίρης ABEE για τη μελέτη της δράσης εκχυλισμάτων στην οξείδωση chips πατάτας.

Για την έρευνα των εδώδιμων μεμβρανών χρησιμοποιήθηκαν ιχθύες από την εταιρεία Νηρέυς ιχθυοκαλλιέργειες.

Τα αρωματικά φυτά που μελετήθηκαν ήταν το θυμάρι, η ρίγανη μικτού χημειότυπου καρβακρόλης και θυμόλης, καθώς και η ρίγανη του απλού χημειότυπου καρβακρόλης και το θρούμπι. Παραλήφθηκαν από το Κέντρο Γεωργικής Έρευνας Βόρειας Ελλάδας (μέλος του οργανισμού ελληνικών αγροτών-Δήμητρα).

Οι εκχυλίσεις των αρωματικών φυτών πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση των διαλυτών οξικού αιθυλεστέρα (analytical reagent grade, Fisher Chemical, Loughborough, United Kingdom) και αιθανόλης (95°).

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για τις αναλύσεις των δειγμάτων ήταν τα εξής: οξικό οξύ (for analysis, Carlo Erba Reagents, Val de Reuil Cedex, France), χλωροφόρμιο (analytical reagent grade, Fisher Chemical, Loughborough, United Kingdom), ιωδιούχο κάλιο (Carlo Erba Reagents, Val de Reuil Cedex, France), διαλυτό άμυλο (Panreac, Barcelona, Spain), θειοθειικό νάτριο (0.1 N, for analysis, Carlo Erba Reagents, Val de Reuil Cedex, France), ισοοκτάνιο (for analysis, Carlo Erba Reagents, Val de Reuil Cedex, France), π-ανισιδίνη (Panreac, Barcelona, Spain), εξάνιο (for analysis, Carlo Erba Reagents, Val de Reuil Cedex, France).

5.3. Συσκευές

Για τις εκχυλίσεις των αρωματικών φυτών χρησιμοποιήθηκε συστοιχία συσκευών Soxhlet.

Οι αποστάξεις των ελαιοδιαλυμάτων έγιναν με τη βοήθεια του περιστροφικού εξατμιστή κενού Büchi RE 111 με ενσωματωμένο υδρόλουτρο Büchi 461 (Büchi Laboratories Technik AG, Flawil, Switzerland). Για την απομάκρυνση πιθανών ιχνών διαλύτη που παρέμειναν στα εμπλουτισμένα με εκχύλισμα έλαια, χρησιμοποιήθηκε φούρνος κενού Heraeus vacutherm VT6025 (Hanau, Germany).

Τα πειράματα επιταχυνόμενης οξείδωσης τόσο των ελαίων όσο και των chips πραγματοποιήθηκαν σε φούρνο κυκλοφορίας αέρα Thermawatt. Η ίδια συσκευή χρησιμοποιήθηκε για την απομάκρυνση των διαλυτών των εκχυλισμάτων κατά τον προσδιορισμό του στερεού υπολείμματος τους.

Οι μετρήσεις των απορροφήσεων όλων των δειγμάτων για τον υπολογισμό των συζυγών διενίων, τριενίων αλλά και για τον αριθμό της π-ανισιδίνης έγιναν με χρήση του φασματοφωτόμετρου HITACHI U29000.

Για τη μέτρηση της ποσότητας του O₂ που περιεχόταν εντός της συσκευασίας των δειγμάτων των chips χρησιμοποιήθηκε η συσκευή Gas-analyser CheckMate 9900 O₂/CO₂ PBI Dansensor (Ringsted, Denmark).

Το πάχος των τεμαχισμένων πατατών μετρήθηκε με ψηφιακό παχύμετρο από ανοξείδωτο χάλυβα D-74167 με οθόνη LCD (Neckarsulm, Germany).

Η παρασκευή των διαλυμάτων εδώδιμης μεμβράνης έγινε με χρήση του ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας CAT Unidrive 1000.

Κατά την ανάκτηση ελαίου από τους ιχθύες χρησιμοποιήθηκε φυγόκεντρος Thermo Scientific, Heraeus Megafuge 16R Centrifuge.

5.4. Πειραματικές Τεχνικές

5.4.1. Εκχύλιση αρωματικών φυτών

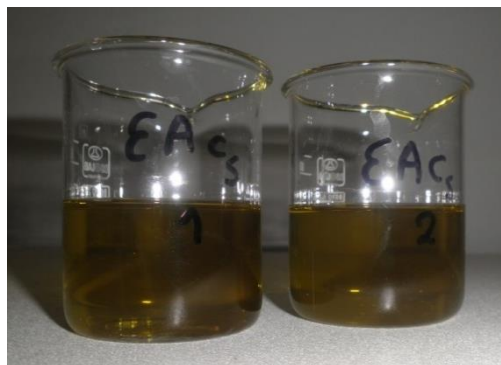
Οι εκχυλίσεις των αρωματικών φυτών πραγματοποιήθηκαν σε συσκευή Soxhlet με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσεις σε δυο διαδοχικά στάδια, πρώτα με διαλύτη οξικού αιθυλεστέρα και έπειτα με αιθανόλη. Για το σκοπό αυτό ποσότητα του κάθε ξηραμένου-κονιοποιημένου αρωματικού φυτού ζυγίστηκε σε προζυγισμένη φύσιγγα πεπιεσμένου χαρτιού και τοποθετήθηκε στον εκχυλιστήρα της συσκευής. Κατάλληλη ποσότητα διαλύτη προστέθηκε στη σφαιρική φιάλη της διάταξης, καθώς και στον εκχυλιστήρα. Η κάθε εκχύλιση που πραγματοποιήθηκε ήταν εξαντλητική, δηλαδή έως ότου παρατηρηθεί απουσία χρώματος του διαλύματος εντός του εκχυλιστήρα. Μετά το πέρας της εκχύλισης, η ποσότητα του κάθε εκχυλίσματος που παραλήφθηκε, μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 500 mL υπό διήθηση. Ακολούθησαν πλύσεις των ιζημάτων που είχαν σχηματιστεί στη σφαιρική φιάλη με διαλύτη, ώστε να παραληφθούν και οι απομείνους στο στερεό διαλυτές ουσίες. Η διαδικασία πλήσεων-μεταγγίσεων επαναλήφθηκε μέχρις ότου συμπληρωθεί η ογκομετρική φιάλη έως τη χαραγή. Στη συνέχεια τοποθετήθηκε στη σφαιρική φιάλη και στον εκχυλιστήρα της συσκευής ο δεύτερος διαλύτης και επαναλήφθηκε η ίδια διαδικασία. Όσον αφορά στο ολικό αιθανολικό εκχύλισμα της ρίγανης χημειότυπου θυμόλης-καρβακρόλης παρασκευάστηκε με την ίδια διεργασία σε ένα όμως στάδιο, δηλαδή πραγματοποιήθηκε εκχύλιση μόνο με διαλύτη αιθανόλης. Σημειώνεται ότι το ακετονικό εκχύλισμα του δεντρολίβανου που χρησιμοποιήθηκε στη συγκεκριμένη μελέτη παραλήφθηκε παρασκευασμένο από το Εργαστήριο Χημείας & Τεχνολογίας Τροφίμων σύμφωνα με τις προδιαγραφές της Ε.Ε., με βάση τον κανονισμό 0231/2012.

5.4.2. Προσδιορισμός στερεού υπολείμματος

Μεταφέρθηκαν 5 mL εκχυλίσματος σε προζυγισμένο φιαλίδιο ζύγισης. Για το κάθε εκχύλισμα η διαδικασία πραγματοποιήθηκε εις διπλούν. Τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν σε κλίβανο στους 70 °C, μέχρι να εξατμιστεί ο εκάστοτε διαλύτης. Στη συνέχεια, εισήχθησαν σε ξηραντήρα ώστε να ψυχθούν και ακολούθησε ζύγισή τους. Από τη διαφορά των ζυγίσεων του κάθε φιαλιδίου υπολογίστηκε η περιεκτικότητα κάθε εκχυλίσματος σε στερεά συστατικά (g/L), καθώς και η % κατά βάρος σύσταση κάθε φυτού σε εκχυλισθέντα κλάσματα.

5.4.3. Ενσωμάτωση εκχυλισμάτων σε έλαια

Ως λιπαρή ύλη χρησιμοποιήθηκαν το αραβοσιτέλαιο και το φοινικέλαιο. Και στους δύο τύπους ελαίου ενσωματώθηκαν τα εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα από τα αρωματικά φυτά θυμάρι, ρίγανη χημειότυπου καρβακρόλης, καθώς και ρίγανη χημειότυπου καρβακρόλης-θυμόλης. Ένα ακόμα εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα που χρησιμοποιήθηκε ήταν από το φυτό θρούμπι, το οποίο και ενσωματώθηκε σε φοινικέλαιο. Επιπλέον, μελετήθηκε το αιθανολικό και το ολικό αιθανολικό εκχύλισμα του μικτού χημειότυπου της ρίγανης, καθώς και το ακετονικό εκχύλισμα του δεντρολίβανου στο αραβοσιτέλαιο. Το κάθε εκχύλισμα ενσωματώθηκε στη λιπαρή ύλη σε επίπεδο προσθήκης 500 ppm ξηρού βάρους του. Έτσι, για την κάθε σειρά πειραμάτων, ζυγίστηκε συγκεκριμένη ποσότητα ελαίου σε σφαιρική φιάλη των 250 mL και έπειτα προστέθηκε υπό ανάδευση η απαιτούμενη ποσότητα εκχυλίσματος. Ακολούθησε απόσταξη σε περιστροφικό εξατμιστή κενού, ώστε να απομακρυνθεί ο εκάστοτε διαλύτης. Για την απομάκρυνση πιθανών ιχνών διαλύτη που παρέμειναν στο έλαιο, χρησιμοποιήθηκε φούρνος κενού, όπου τα δείγματα παρέμειναν για 3 h. Τέλος, ζυγίστηκαν 50 g κάθε ελαίου (εμπλουτισμένου ή μη) σε δυο ποτήρια ζέσεως των 100 mL, ώστε να πραγματοποιηθούν διπλές μετρήσεις, και ακολούθησε πείραμα επιταχυνόμενης οξείδωσης. Συγκεκριμένα, όλα τα έλαια τοποθετήθηκαν σε φούρνο κυκλοφορίας αέρα στους 70 °C και λαμβάνοντας δείγμα ανά τακτά χρονικά διαστήματα μετρήθηκε ο αριθμός υπεροξειδίων και συζυγών διενίων-τριενίων.



Σχήμα 5.1: Τελικό εμπλουτισμένο φοινικέλαιο με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα από το αρωματικό φυτό *Satureja thymbra* (EACs), κατανεμημένο σε δύο ίσες ποσότητες για έναρξη του πειράματος οξείδωσης του

5.4.4. Δοκιμές εκχυλισμάτων για την προστασία chips πατάτας από την οξείδωση

5.4.4.1. Επεξεργασία πατάτας

Αρχικά, οι πατάτες που παραλήφθηκαν καθαρίστηκαν, πλύθηκαν με νερό και κόπηκαν με οικιακή συσκευή σε λεπτές φέτες πάχους 1.1–1.3 cm. Για τη μέτρηση του πάχους χρησιμοποιήθηκε ψηφιακό παχύμετρο. Οι τεμαχισμένες πατάτες τοποθετήθηκαν σε λεκάνη με νερό μέχρι να τηγανιστούν για αποφυγή αμαύρωσης. Στη συνέχεια, απλώνονταν ανά ποσότητες σε διηθητικό χαρτί ώστε να στραγγίσουν και τηγανίζονταν. Ακολούθησε η διαδικασία αυτή μέχρι να τηγανιστούν όλες οι πατάτες.

5.4.4.2. Τηγάνισμα

Οι τεμαχισμένες πατάτες τηγανίστηκαν σε οικιακή φριτέζα. Για κάθε τηγανιά χρησιμοποιήθηκαν 167 g νωπής πατάτας. Το κάθε τηγάνισμα διήρκησε περίπου 1 min στους 180 °C, ενώ ο χρόνος μεταξύ δύο διαδοχικών τηγανισμάτων ήταν επίσης 1 min. Αρχικά, πραγματοποιήθηκαν διαδοχικά τηγανίσματα σε 5 kg καθαρού φοινικέλαιου, ώστε να παραχθούν τα chips που χρησιμοποιήθηκαν για την ενσωμάτωση εκχυλισμάτων στην επιφάνειά τους και στο υλικό συσκευασίας τους, καθώς και τα chips που χρησίμευσαν ως control δείγματα. Μετά το τηγάνισμα, όλα τα chips τοποθετήθηκαν σε διηθητικό χαρτί, ώστε να στραγγίσουν από το έλαιο. Ακολούθως, τοποθετήθηκαν σε μια συσκευασία, αναμείχθηκαν ώστε να ομογενοποιηθούν και παρέμειναν σε αυτή μέχρι να ολοκληρωθεί η περαιτέρω επεξεργασία τους.

Στη συνέχεια, ακολούθησε το δεύτερο στάδιο τηγανίσματος, στο οποίο οι πατάτες τηγανίστηκαν σε έλαιο, το οποίο ήταν εμπλουτισμένο με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα της *Satureja thymbra*. Πιο αναλυτικά, αφού ολοκληρώθηκε το πρώτο στάδιο τηγανίσματος, το φοινικέλαιο ανανεώθηκε, δηλαδή αφαιρέθηκε ποσότητά του ώστε να παραμείνει το μισό της αρχικής ποσότητας που είχε εισαχθεί στη φριτέζα (συνυπολογίζοντας την ποσότητα ελαίου που απορρόφησαν τα chips κατά το τηγάνισμά τους στην πρώτη φάση) και εν συνεχεία συμπληρώθηκε με φοινικέλαιο που περιείχε το αντιοξειδωτικό σε ποσότητα 500 ppm (500 mg ξηρού εκχυλίσματος/kg ελαίου), με σκοπό να προκύψει ποσότητα ελαίου ίση και πάλι με 5 kg. Στο εμπλουτισμένο έλαιο είχε πρώτα πραγματοποιηθεί απομάκρυνση του διαλύτη με χρήση περιστροφικού εξατμιστή κενού. Κατά τη διάρκεια των δύο φάσεων τηγανισμάτων λήφθηκαν 3 δείγματα ελαίου: στην έναρξη, στη μέση της χρονικής διάρκειας του κάθε τηγανίσματος και στη λήξη του. Τα chips που προέκυψαν από τη δεύτερη φάση τηγανίσματος με εμπλουτισμένο έλαιο, αναμείχθηκαν και συσκευάστηκαν (1^η σειρά δειγμάτων).

5.4.4.3. Ενσωμάτωση εκχυλισμάτων στην επιφάνεια των chips

Ένα μέρος των chips από την πρώτη φάση τηγανίσματος (με καθαρό φοινικέλαιο) χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή της 2^{ης} και 3^{ης} σειράς δειγμάτων. Σε αυτές τις δυο σειρές ενσωματώθηκε εκχύλισμα του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra* στην επιφάνεια των chips με ψεκασμό. Στη μία χρησιμοποιήθηκε το αιθανολικό εκχύλισμα του φυτού, ενώ στην άλλη το εκχύλισμα από οξικό αιθυλεστέρα.

Πιο αναλυτικά, απλώθηκε η απαιτούμενη ποσότητα των chips και αφού ψεκάστηκε από τη μία μεριά με το κατάλληλο εκχύλισμα, έπειτα, όλα τα chips γυρίστηκαν ώστε να πραγματοποιηθεί ομοιόμορφος ψεκασμός. Το επίπεδο προσθήκης του κάθε αντιοξειδωτικού υπολογίστηκε με βάση την απορρόφηση ελαίου από τα chips, ώστε να ανέρχεται σε 500 ppm επί λιπαρής βάσης (500 mg ξηρού εκχυλίσματος/kg ελαίου των chips). Αφού ολοκληρώθηκε η διαδικασία του ψεκασμού και στέγνωσαν όλα τα πατατάκια, ακολούθησε η συσκευασία των ψεκασμένων chips σε σακουλάκια διαστάσεων 38 cm x 13 cm.

5.4.4.4. Επίστρωση εκχυλισμάτων σε υλικό συσκευασίας (ενεργός συσκευασία)

Ένα μέρος των chips από την πρώτη φάση τηγανίσματος συσκευάστηκε με υλικό, το οποίο είχε πρώτα επιστρωθεί με εκχύλισμα της *Satureja thymbra*. Παρασκευάστηκαν δυο σειρές επιστρώσεων, μία με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα και μία με αιθανολικό εκχύλισμα (4^η, 5^η σειρά).

Για το σκοπό αυτό, η συνολική επιφάνεια του υλικού συσκευασίας που απαιτήθηκε για την κάθε σειρά δειγμάτων απλώθηκε και επικαλύφθηκε κατά τμήματα με το αντίστοιχο εκχύλισμα, με χρήση roll-on. Επιτεύχθηκε επίστρωση στην κάθε επιφάνεια υλικού 1.5 g ξηρού εκχυλίσματος/m². Αφού οι δύο ενεργές συσκευασίες στέγνωσαν, έπειτα η κάθε μία κόπηκε σε τμήματα των διαστάσεων 38 cm x 13 cm και έτσι παρασκευάστηκαν οι συσκευασίες αποθήκευσης των δειγμάτων της 4^{ης} και 5^{ης} σειράς.

5.4.4.5. Κλείσιμο συσκευασίας - Αποθήκευση

Το πολυστρωματικό υλικό συσκευασίας που χρησιμοποιήθηκε ήταν OPP 20 μm/ink/adhesive/PET MET 12 μm/adhesive//PE 75 μm STC. Η κάθε συσκευασία είχε διαστάσεις 38 cm x 13 cm. Για την κάθε σειρά δειγμάτων, ζυγίστηκαν 13 g chips σε κάθε συσκευασία και έπειτα κλείστηκαν υπό ατμοσφαιρικό αέρα με θερμοκόλληση. Συσκευάστηκε και μια σειρά δειγμάτων chips χωρίς αντιοξειδωτικό (control δείγματα). Όλα τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε φούρνο κυκλοφορίας αέρα στους 70 °C ώστε να πραγματοποιηθεί πείραμα επιταχυνόμενης οξείδωσης. Πραγματοποιώντας διπλές δειγματοληψίες ανά τακτά χρονικά διαστήματα μετρήθηκε ο αριθμός υπεροξειδίων και των συζυγών διενίων, καθώς και ο αριθμός της π-

ανισιδίνης στο έλαιο που εκχυλίστηκε από τα chips. Επίσης, σε κάθε δειγματοληψία προσδιοριζόταν η περιεκτικότητα του O₂ εντός της κάθε συσκευασίας.

5.4.5. Δοκιμές κλασμάτων αρωματικού φυτού σε εδώδιμες μεμβράνες για την προστασία ιχθύων από την οξείδωση

5.4.5.1. Παρασκευή επικαλυπτικών διαλυμάτων

Ζυγίστηκε κατάλληλη ποσότητα καρβοξυμεθυλοκυτταρίνης (CMC) σε ποτήρι ζέσεως και προστέθηκε ορισμένη ποσότητα απιονισμένου νερού. Ακολούθησε ανάδευση υπό θέρμανση στους 80 °C για 1 h. Εν συνεχεία, προστέθηκε γαλακτωματοποιητής Tween 20, καθώς και η υπόλοιπη ποσότητα απιονισμένου νερού ώστε να παραχθεί διάλυμα περιεκτικότητας 2% v/v ως προς το Tween και 1.5% w/v ως προς το CMC. Πραγματοποιήθηκε και πάλι ανάδευση στις ίδιες συνθήκες για μερικά λεπτά. Το τελικό διάλυμα χωρίστηκε σε 6 ίσα μέρη. Τα 5 διαλύματα από αυτά εμπλουτίστηκαν με αντιοξειδωτικό, ενώ ένα χρησίμευσε ως control διάλυμα.

5.4.5.2. Ενσωμάτωση αντιοξειδωτικών κλασμάτων στα επικαλυπτικά διαλύματα

Ως φυσικά αντιοξειδωτικά χρησιμοποιήθηκαν κλάσματα από το αρωματικό φυτό θρούμπι και συγκεκριμένα το εκχύλισμά του με αιθανόλη και με οξικό αιθυλεστέρα, καθώς και το αιθέριο έλαιό του. Το αιθέριο έλαιο παραλήφθηκε από άλλη εργασία του Εργαστηρίου Χημείας & Τεχνολογίας Τροφίμων με υδροατμοαπόσταξη του αρωματικού φυτού. Το κάθε κλάσμα ενσωματώθηκε σε ένα από τα διαλύματα εδώδιμης μεμβράνης που παρασκευάστηκαν. Επίσης, παρασκευάστηκαν και δύο σειρές εμπλουτισμένων διαλυμάτων με συνδυασμό των κλασμάτων του φυτού. Στη μια σειρά προστέθηκε το αιθέριο έλαιο και το αιθανολικό εκχύλισμα, ενώ στην άλλη ενσωματώθηκε το αιθέριο έλαιο σε συνδυασμό με το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα.

Για την ενσωμάτωση του αιθανολικού εκχυλίσματος, παραλήφθηκε ορισμένη ποσότητά του σε σφαιρική φιάλη, και προστέθηκε το αντίστοιχο διάλυμα της επικαλυπτικής μεμβράνης. Το επίπεδο προσθήκης του εκχυλίσματος ήταν 500 rpm ως προς τις ολικές φαινόλες του. Ακολούθησε απόσταξη σε περιστροφικό εξατμιστή κενού για να απομακρυνθεί ο διαλύτης. Το τελικό διάλυμα τοποθετήθηκε σε φούρνο κενού για 4 h, έτσι ώστε να απομακρυνθούν πιθανά ίχνη του διαλύτη. Η ίδια διαδικασία πραγματοποιήθηκε και για την ενσωμάτωση του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα στο αντίστοιχο επικαλυπτικό διάλυμα.



Σχήμα 5.2: Επικάλυψη ιχθύων με εδώδιμες μεμβράνες CMC εμπλουτισμένες με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα και αιθανόλης από θρούμπι

Όσον αφορά στην προσθήκη του αιθέριου ελαίου, το αντίστοιχο διάλυμα της επικαλυπτικής μεμβράνης εμπλουτίστηκε με αυτό, ώστε η περιεκτικότητά του να είναι 2% v/v.

Στη συνέχεια, παρασκευάστηκαν τα δυο διαλύματα συνδυασμού αιθέριου ελαίου με εκχύλισμα. Τόσο για το συνδυασμό με αιθανολικό εκχύλισμα όσο και με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα πραγματοποιήθηκαν αντίστοιχες διεργασίες. Στο διάλυμα εδώδιμης μεμβράνης προστέθηκε η κατάλληλη ποσότητα εκχυλίσματος ώστε να προκύψει διάλυμα με συγκέντρωση 500 ppm εκχυλίσματος σε ολικές φαινόλες. Ακολούθησε απόσταξη σε περιστροφικό εξατμιστή κενού για την απομάκρυνση του διαλύτη. Έπειτα, προστέθηκε ποσότητα αιθέριου ελαίου με σκοπό η περιεκτικότητά του τελικού διαλύματος να είναι 2% v/v σε αυτό.

Τέλος, όλα τα εμπλουτισμένα διαλύματα αλλά και ένα διάλυμα εδώδιμης μεμβράνης χωρίς κάποιο αντιοξειδωτικό, οδηγήθηκαν σε ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας σε 8000 rpm για 5 min σε θερμοκρασία δωματίου. Το κάθε επικαλυπτικό

διάλυμα μετά την παρασκευή του φυλάχθηκε σε ψυγείο στους 4 °C για λιγότερο από 24 h μέχρι τη χρησιμοποίησή του.

5.4.5.3. Επικάλυψη – αποθήκευση ιχθύων

Παραλήφθηκαν νωπά φιλέτα τσιπούρας υδατοκαλλιέργειας (*Sparus aurata*) σε διάστημα 2-3 h μετά τη φιλετοποίηση τους. Τα φιλέτα μεταφέρθηκαν σε συσκευασίες από πολυστυρένιο, εντός των οποίων περιεχόταν επαρκής ποσότητα πάγου για τη σωστή διατήρηση των ιχθύων. Το κάθε τεμάχιο είχε μάζα 90-120 g. Τα φιλέτα μετά την παραλαβή τους φυλάχθηκαν σε κατάψυξη στους -5 °C για χρονικό διάστημα που δε ξεπέρασε τις 14 h μέχρι την επεξεργασία τους.

Για την παρασκευή όλων των σειρών δειγμάτων αρχικά τεμαχίζονταν τα φιλέτα, ώστε το κάθε δείγμα να έχει μάζα 50±5 g. Τα τεμαχισμένα φιλέτα εμβαπτιζόνταν στο κατάλληλο επικαλυπτικό διάλυμα για 5 min και στη συνέχεια τοποθετούνταν σε σχάρες μέχρι να στεγνώσουν. Οι 6 σειρές δειγμάτων που παρασκευάστηκαν, καθώς και μια σειρά με ιχθύες χωρίς επικαλυπτικό διάλυμα τοποθετήθηκαν σε τρυβλία Petri και αποθηκεύτηκαν σε ψυγείο στους 0 °C. Πραγματοποιήθηκε παρακολούθηση της πορείας της οξειδωσης των σειρών ιχθύων μετρώντας τον αριθμό των υπεροξειδίων και της π-ανισιδίνης του ελαίου που εκχυλίστηκε ανά μερικές ημέρες.

5.4.6. Αναλυτικές μέθοδοι

5.4.6.1. Προσδιορισμός σύστασης αέρα της συσκευασίας των chips πατάτας

Η περιεκτικότητα του O₂ εντός της κάθε συσκευασίας chips προσδιοριζόταν με τη συσκευή Gas Analyser CheckMate 9900 O₂/CO₂ PBI Dansensor (Ringsted, Denmark).

5.4.6.2. Διαδικασία ανάκτησης ελαίου από chips πατάτας

Η ανάκτηση του ελαίου από τα chips πατάτας πραγματοποιούταν με 4 διαδοχικές εκχυλίσεις με εξάνιο. Για τον σκοπό αυτό, τα chips της κάθε συσκευασίας αλέθονταν σε οικιακό μίξερ για μερικά δευτερόλεπτα. Το περιεχόμενο του μίξερ εισαγόταν σε ποτήρι ζέσεως των 200 mL, προστίθενταν 50 mL εξανίου και ακολουθούσε ανάδευση για 5 min. Το εκχύλισμα ελαίου που προέκυπτε αποχυνόταν με διήθηση σε σφαιρική φιάλη των 250 mL. Η διαδικασία της εκχύλισης επαναλαμβανόταν άλλες 3 φορές υπό τις ίδιες συνθήκες. Το τελικό ελαιοδιάλυμα υφίστατο απόσταξη σε περιστροφικό εξατμιστή κενού για 30 min με θερμοκρασία του υδρόλουτρου στους 40 °C. Στο έλαιο από το κάθε δείγμα που παραλαμβάνονταν με αυτή τη διαδικασία, πραγματοποιούνταν μετρήσεις του αριθμού των υπεροξειδίων, των συζυγών διενίων, καθώς και του αριθμού της π-ανισιδίνης.

5.4.6.3. Διαδικασία ανάκτησης ελαίου από τους ιχθύες

Το κάθε δείγμα, αφού αφηνόταν να αποκτήσει θερμοκρασία δωματίου, τοποθετούταν σε οικιακό μίξερ για μερικά δευτερόλεπτα, ώστε να τεμαχιστεί σε μικρά κομμάτια. Ακολουθούσαν 3 διαδοχικές εκχύλισεις, με 50 mL εξανίου και για 1 min η κάθε μία. Το εκχύλισμα ελαίου που προέκυπτε μετά από κάθε εκχύλιση αποχυνόταν υπό διήθηση σε ποτήρι ζέσεως. Έπειτα, πραγματοποιούταν φυγοκέντριση, ώστε να μην παραμείνει καθόλου ποσότητα ιχθύος στο ελαιοδιάλυμα. Μετά τη φυγοκέντριση το διάλυμα ελαίου αποχυνόταν υπό διήθηση σε σφαιρική φιάλη των 250 mL και οδηγούταν προς απόσταξη σε περιστροφικό εξατμιστή κενού για 20 min με θερμοκρασία του υδατόλουτρου στους 40 °C. Αφού απομακρυνόταν το εξάνιο με αυτή τη διαδικασία, παραλαμβάνονταν το έλαιο στο οποίο πραγματοποιούταν οι αναλυτικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό της οξείδωσης των ιχθύων.

5.4.6.4. Μέθοδος μέτρησης αριθμού υπεροξειδίων

Ο προσδιορισμός του αριθμού των υπεροξειδίων έγινε σύμφωνα με την πρότυπη μέθοδο της AOCS, Cd 8-53. Κατάλληλη ποσότητα λιπαρής ύλης ζυγιζόταν σε κωνική φιάλη των 100 mL και καταγραφόταν η ακριβής της μάζα. Κατά τις πρώτες δειγματοληψίες απαιτείται ποσότητα ελαίου ίση με 4 g, ενώ καθώς προχωράει η οξείδωση μειώνεται η ποσότητα του στο 1 g. Έπειτα, προστίθονταν 20 mL διαλύματος οξικού οξέος-χλωροφορμίου σε αναλογία 3:2 v/v και στη συνέχεια 500 μL κορεσμένου διαλύματος ιωδιούχου καλίου. Αφού πραγματοποιούταν ανάδευση για 1 min, γινόταν προσθήκη 20 mL απιονισμένου νερού και 500 μL διαλύματος αμύλου (1% w/v). Ακολουθούσε τιτλοδότηση με πρότυπο διάλυμα θειοθειικού νατρίου 0.01 N και καταγραφόταν ο όγκος του διαλύματος που χρειαζόταν. Πραγματοποιούταν τιτλοδότηση και σε ένα τυφλό δείγμα, έτσι ώστε να ελεγχθεί τυχόν ανάπτυξη αριθμών υπεροξειδίων στο διάλυμα του ιωδιούχου καλίου και στο μίγμα διαλυτών. Έπειτα από αυτή τη διαδικασία υπολογίζεται ο αριθμός των υπεροξειδίων (Peroxide Value, PV) σύμφωνα με τον τύπο :

$$PV = \frac{(S - B) \cdot N \cdot 1000}{m}$$

όπου :

S - ο όγκος του Na₂S₂O₃ που καταναλώθηκε κατά την τιτλοδότηση του δείγματος ελαίου (mL)

B - ο όγκος του Na₂S₂O₃ που καταναλώθηκε κατά την τιτλοδότηση του τυφλού δείγματος (mL)

N - η κανονικότητα του διαλύματος Na₂S₂O₃

m - η μάζα του δείγματος (g)

5.4.6.5. Μέθοδος μέτρησης αριθμού συζυγών διενίων- τριενίων

Ο αριθμός των συζυγών διενίων και τριενίων μετρήθηκε σύμφωνα με την πρότυπη μέθοδο της IUPAC 2.205-2.206. Ποσότητα 0.05 g ελαίου ζυγίζοταν σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL και καταγραφόταν η ακριβής της μάζα. Η ογκομετρική φιάλη συμπληρωνόταν μέχρι τη χαραγή με ισοοκτάνιο. Ακολουθούσε ανάδευση των δειγμάτων για την ομογενοποίηση τους και μέτρηση της απορρόφησής τους σε δυο μήκη κύματος, στα 232 nm και στα 268 nm, ώστε να προκύψει ο αριθμός συζυγών διενίων (K_{232}) και τριενίων (K_{268}), αντίστοιχα. Ως τυφλό δείγμα χρησιμοποιούταν καθαρό ισοοκτάνιο. Σε περίπτωση που οι τιμές των απορροφήσεων προέκυπταν μεγαλύτερες της μονάδας πραγματοποιούταν κατάλληλη αραιώση των δειγμάτων και έπειτα εκ νέου φωτομέτρηση. Ο αριθμός συζυγών διενίων και τριενίων υπολογίζεται σύμφωνα με τις σχέσεις:

$$K_{232} = \frac{A_{232}}{C \cdot d}$$

$$K_{268} = \frac{A_{268}}{C \cdot d}$$

όπου:

A_{232} – η απορρόφηση του δείγματος στα 232 nm

A_{268} – η απορρόφηση του δείγματος στα 268 nm

C- η συγκέντρωση του δείγματος (g/100 mL)

d- το μήκος της κυψελίδας (d= 1 cm)

5.4.6.6. Μέθοδος μέτρησης αριθμού π-ανισιδίνης

Για τη μέτρηση του αριθμού της π-ανισιδίνης χρησιμοποιήθηκε η πρότυπη μέθοδος της AOCS, Cd 18-90. Σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL ζυγίζοταν ποσότητα ελαιοδιαλύματος ίση με 0.5 g, σημειώνοντας κάθε φορά την ακριβή μάζα της. Το κάθε δείγμα αραιωνόταν μέχρι την χαραγή με ισοοκτάνιο, αναδευόταν για πλήρη ομογενοποίησή του και προσδιοριζόταν η απορρόφησή του στα 350 nm (A_b). Ως τυφλό δείγμα χρησιμοποιούνταν διαλύτης ισοοκτανίου. Στη συνέχεια, παραλαμβάνονταν 5 mL από το κάθε αραιωμένο ελαιοδιάλυμα και εισάγονταν σε δοκιμαστικούς σωλήνες, όπου και ακολουθούσε προσθήκη 1 mL αντιδραστήριου π-ανισιδίνης. Όμοια παρασκευαζόταν το τυφλό δείγμα, προσθέτοντας 1 mL διαλύματος π-ανισιδίνης σε 5 mL καθαρού ισοοκτανίου. Ακολουθούσε ανακίνηση όλων των δειγμάτων και αφού παρέμεναν στην ηρεμία για 10 min, μετριόταν η απορρόφησή τους στα 350 nm (A_s). Ο υπολογισμός του αριθμού της π-ανισιδίνης (p-anisidine value, p-AV) γίνεται σύμφωνα με τον τύπο:

$$p - AV = \frac{25 \cdot (1,2A_s - A_b)}{m}$$

όπου :

A_s – η απορρόφηση του αραιωμένου ελαιοδιαλύματος μετά την αντίδρασή του με την π-ανισιδίνη

A_b – η αρχική απορρόφηση του αραιωμένου ελαιοδιαλύματος

m – η μάζα του ελαιοδιαλύματος (g)

6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

6.1. Ανάλυση και απόδοση των αντιοξειδωτικών κλασμάτων των αρωματικών φυτών

Τα εκχυλίσματα των αρωματικών φυτών αναλύθηκαν ως προς το στερεό τους υπόλειμμα, ώστε να προσδιορισθεί η απόδοση της εκχύλισης με κάθε διαλύτη από κάθε αρωματικό φυτό. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.1 για τα εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα (EAc) και αιθανόλης (E) από τα αρωματικά φυτά: ρίγανη με υψηλή περιεκτικότητα σε καρβακρόλη (*O. hirtum* Carvacrol) αλλά και με χημειότυπο πλούσιο σε θυμόλη και καρβακρόλη (*O. hirtum* Thymol-carvacrol), θυμάρι (*Thymus capitatus*) και θρούμπι (*Satureja thymbra*).

Πίνακας 6.1: Αποδόσεις των αρωματικών φυτών σε εκχυλισθέντα συστατικά με οξικό αιθυλεστέρα (EAc) και αιθανόλη (E)

	<i>O. hirtum</i> Carvacrol		<i>O. hirtum</i> Thymol- carvacrol		<i>Thymus</i> <i>capitatus</i>		<i>Satureja</i> <i>Thymbra</i>	
	%w/w απόδοση	sd	%w/w απόδοση	sd	%w/w απόδοση	sd	%w/w απόδοση	sd
EAc	8.88	0.01	8.31	0.04	4.00	0.30	4.65	0.07
E	13.40	0.20	8.90	0.20	6.00	0.10	11.60	0.10

Διαπιστώνεται ότι το αιθανολικό εκχύλισμα του κάθε αρωματικού φυτού εμφανίζει υψηλότερες αποδόσεις σε σχέση με το εκχύλισμά του από οξικό αιθυλεστέρα. Είναι γεγονός πως τα κλάσματα που λαμβάνονται με διαλύτη πολύ μεγαλύτερης πολικότητας τείνουν να έχουν καλύτερες αποδόσεις επί ξηρής βάσης (Τσιμογιάννης, 2008). Τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε εκχυλισθέντα συστατικά κατέχει το αιθανολικό εκχύλισμα του φυτού *Origanum hirtum* Carvacrol (13.40 ± 0.20 %w/w), ακολουθούμενο από το αντίστοιχο εκχύλισμα της *Satureja thymbra* (11.60 ± 0.10 %w/w). Το αιθανολικό εκχύλισμα της *Origanum hirtum* Thymol-carvacrol εμφάνισε επίσης σημαντική απόδοση (8.90 ± 0.20 %w/w). Στα εκχυλίσματα από οξικό αιθυλεστέρα και πάλι η ρίγανη με το χημειότυπο πλούσιο σε καρβακρόλη κατέχει την υψηλότερη τιμή απόδοσης, ενώ στη δεύτερη θέση, χωρίς μεγάλη απόκλιση από την πρώτη, εμφανίζεται ο μικτός χημειότυπος της ρίγανης. Ακολουθεί το αρωματικό φυτό θρούμπι, με απόδοση σε εκχυλίσματα ενώσεις ίση με 4.65 ± 0.07 %w/w. Το θυμάρι φαίνεται να παρουσιάζει τις χαμηλότερες τιμές απόδοσης, τόσο συγκρίνοντας το

εκχύλισμα αιθανόλης (6.00 ± 0.10 %w/w) όσο και οξικού αιθυλεστέρα του (4.00 ± 0.30 %w/w) με τα αντίστοιχα των υπολοίπων φυτών.

Η απόδοση σε ολικό αιθανολικό εκχύλισμα του αρωματικού φυτού *Origanum hirtum* Thymol-carvacrol βρέθηκε ίση με 16.20 ± 0.60 %w/w. Ενώ η τιμή αυτή αναμένεται να είναι ίση με το άθροισμα των αποδόσεων των εκχυλισμάτων οξικού αιθυλεστέρα και αιθανόλης του φυτού, δηλαδή περίπου 17.21 %w/w, φαίνεται να είναι ελαφρώς μειωμένη. Η διαφορά αυτή από την αναμενόμενη τιμή απόδοσης είναι πολύ μικρή και πιθανώς οφείλεται στο γεγονός ότι η εκχύλιση είναι μία καθαρά εμπειρική διαδικασία, καθώς διακόπτεται κατά την παρατήρηση του αποχρωματισμού του παραληφθέντος διαλύματος. Για παράδειγμα, η πιθανή πολύωρη εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα που προηγήθηκε εκείνης με αιθανόλη αιτιολογεί την υψηλότερη τιμή του αθροίσματος των αποδόσεών τους, συγκριτικά με την απόδοση της απευθείας εκχύλισης με αιθανόλη.

Η απόδοση του αιθέριου ελαίου του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra* που μελετήθηκε, το οποίο επίσης περιέχει ενώσεις χαμηλής πολικότητας, ήταν μικρότερη των εκχυλισμάτων και συγκεκριμένα ίση με 3.90 mL αιθέριου ελαίου/100 g φυτού.

Η σύσταση των εκχυλισμάτων και του αιθέριου ελαίου σε ολικές φαινολικές ουσίες, στις οποίες οφείλεται κυρίως η αντιοξειδωτική τους δράση, προσδιορίστηκε μέσω της μεθόδου Folin-Ciocalteu. Οι μετρήσεις για όλα τα αντιοξειδωτικά κλάσματα έγιναν από άλλο συνάδελφο στο Εργαστήριο Χημείας & Τεχνολογίας Τροφίμων και καταγράφονται στον Πίνακα 6.2. Το θρούμπι φαίνεται να αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο φυσικό αντιοξειδωτικό, καθώς τα κλάσματά του έχουν υψηλές περιεκτικότητες σε ολικές φαινόλες, με το αιθανολικό εκχύλισμά του να διαφέρει από τα υπόλοιπα εκχυλίσματα φθάνοντας στην τιμή 289.28 ± 6.16 mg/g ξηρού εκχυλίσματος, και το αιθέριο έλαιό του στην εξίσου υψηλή τιμή 250.28 ± 3.34 mg/g ξηρού εκχυλίσματος. Πλούσια σε ολικά φαινολικά συστατικά φαίνονται να είναι τα υπόλοιπα αιθανολικά εκχυλίσματα, με πρώτα της ρίγανης μικτού χημειότυπου και του θυμαριού. Τα εκχυλίσματα από οξικό αιθυλεστέρα εμφανίζουν ελαφρώς χαμηλότερη αποδοτικότητα σε φαινολικά συστατικά. Συγκριτικά, φαίνεται ότι το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα του φυτού *Thymus capitatus* έχει την υψηλότερη σύσταση (198.02 ± 1.07 mg/g ξηρού εκχυλίσματος), ενώ το αντίστοιχο εκχύλισμα του *Origanum hirtum* Thymol-carvacrol τη χαμηλότερη (129.06 ± 3.64 mg/g ξηρού εκχυλίσματος).

Πίνακας 6.2: Περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες, εκφρασμένες σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος, του αιθέριου ελαίου (OIL), καθώς και των αιθανολικών (E), ολικών αιθανολικών (ET) και οξικού αιθυλεστέρα (EAc) εκχυλισμάτων των αρωματικών φυτών που εξετάστηκαν

Εκχύλισμα	Ολικές φαινόλες (mg/g ξηρού εκχυλίσματος)	sd
EAc		
<i>O. hirtum</i> Carvacrol	161.84	0.83
<i>O. hirtum</i> Thymol-carvacrol	129.06	3.64
<i>Thymus capitatus</i>	198.02	1.07
<i>Satureja thymbra</i>	154.02	11.86
E		
<i>O. hirtum</i> Carvacrol	274.13	4.84
<i>O. hirtum</i> Thymol-carvacrol	231.69	3.64
<i>Thymus capitatus</i>	277.98	2.15
<i>Satureja thymbra</i>	289.28	6.16
ET		
<i>O. hirtum</i> Thymol-carvacrol	211.17	6.02
OIL		
<i>Satureja thymbra</i>	250.28	3.34

Φυσικά η δραστηριότητα των κλασμάτων δε σχετίζεται μόνο με την περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες, αλλά και με το είδος των αντιοξειδωτικών ουσιών που περιέχουν. Στη συνέχεια, ακολουθεί η παρουσίαση των κύριων συστατικών του αιθέριου ελαίου και των εκχυλισμάτων όλων των αρωματικών φυτών που μελετήθηκαν, όπως προέκυψαν μέσω της GC-MS και της μεθόδου HPLC-DAD-ESI-MS/MS, αντίστοιχα, από εργασίες συναδέλφων στο Εργαστήριο Χημείας & Τεχνολογίας Τροφίμων. Στον Πίνακα 6.3 παρατίθεται η ταυτοποίηση και η

ποσοτικοποίηση των ουσιών του αιθέριου ελαίου της *Satureja thymbra* που εξετάστηκε.

Πίνακας 6.3: Περιεκτικότητα του αιθέριου ελαίου της Satureja thymbra στα κύρια συστατικά του, όπως προέκυψε μέσω της GC-MS

Ένωση	RI	% Total area	sd
α-θουγένιο	928	1.79	0.03
α-πινένιο	937	0.88	0.01
καμφένιο	952	0.23	0.01
2-β-πινένιο	980	0.35	0.01
β-μυρσένιο	991	1.34	0.05
I-φελλανδρένιο	1008	0.32	0.01
α-τερπινένιο	1021	3.62	0.07
ρ-κυμένιο	1029	9.28	0.50
γ-τερπινένιο	1063	40.90	0.00
λιναλοόλη-L	1101	0.28	0.09
I-βορνεόλη	1175	0.14	0.00
4-τερπινεόλη	1185	0.16	0.09
ανισόλη	1248	1.21	0.01
ρ-θυμόλη	1296	0.05	0.00
καρβακρόλη	1307	30.79	0.47
trans-καρνοφυλλένιο	1483	7.56	0.09
α-χουμουλένιο	1473	0.34	0.06
Οξείδιο του καρνοφυλλενίου	1607	0.14	0.00

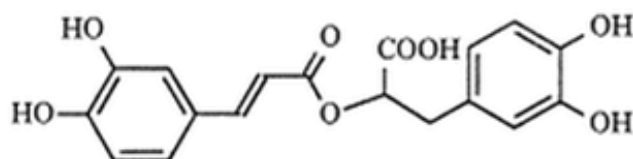
Το αιθέριο έλαιο της *Satureja thymbra* παρουσιάζει αντίστοιχη σύσταση με εκείνη που αναφέρεται στην βιβλιογραφία (Lagouri & others, 1992, Economou & others, 2011) και παρουσιάστηκε στην Παράγραφο 2.2.3. Παρατηρείται εξαιρετικά υψηλή σύσταση σε γ-τερπινένιο (40.90±0.00%) και καρβακρόλη (30.79±0.47%), και αυξημένη σύσταση σε π-κυμένιο (9.28±0.50%), trans-καρνοφυλλένιο (7.56±0.09%) και α-τερπινένιο (3.62±0.07%). Η θυμόλη δε φαίνεται να κατέχει σημαντικά ποσοστά στο συγκεκριμένο κλάσμα του φυτού.

Στον Πίνακα 6.4 παρουσιάζονται τα συστατικά των εκχυλισμάτων (οξικού αιθυλεστέρα και αιθανολικά) όλων των αρωματικών φυτών.

Πίνακας 6.4: Ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των συστατικών των εκχυλισμάτων (οξικού αιθυλεστέρα: EAc και αιθανόλης: E) των αρωματικών φυτών που εξετάστηκαν

	<i>O. hirtum</i> Carvacrol	<i>O. hirtum</i> Thymol- carvacrol	<i>Thymus</i> <i>capitatus</i>	<i>Satureja</i> <i>Thymbra</i>
Ένωση	mg/g ξηρού εκχυλίσματος			
EAc				
Ροσμαρινικό οξύ	35.30	13.60	12.98	24.60
Σαλβιανολικό οξύ A	-	-	-	20.78
Καρβακρόλη	94.62	25.45	176.34	16.99
Θυμόλη	-	26.27	-	7.72
Ταξιφολίνη	0.57	0.59	4.28	-
Διυδροκαμπε- ρόλη	1.03	0.59	-	-
Εριοδικτυόλη	3.30	3.42	2.36	6.72
Ναρινγκενίνη	4.22	3.13	-	4.54
E				
Ροσμαρινικό οξύ	116.17	58.62	28.59	129.11
Λιθοσπερμικό οξύ B	-	10.50	16.08	9.02
Σαλβιανολικό οξύ A	-	-	-	66.90

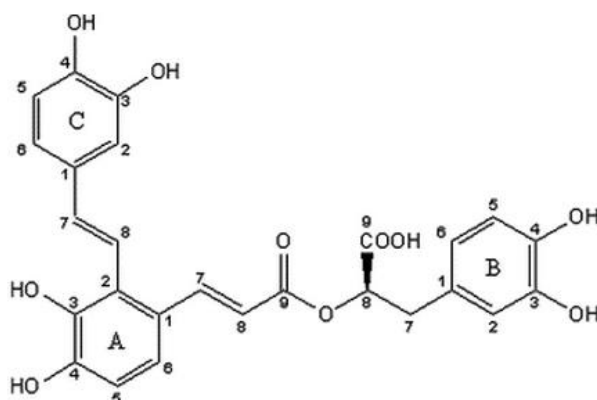
Το ροσμαρινικό οξύ ανιχνεύθηκε σε όλα τα εκχυλίσματα που εξετάστηκαν. Πρόκειται για ένα από τα πιο σημαντικά φαινολικά οξέα που είναι κοινό σε πολλά φυτά και αποτελεί ισχυρό παρεμποδιστή των ριζών που αναπτύσσονται κατά την οξειδωση των λιπιδίων (Lu & Foo, 2001).



Σχήμα 6.1: Δομή ροσμαρινικού οξέος

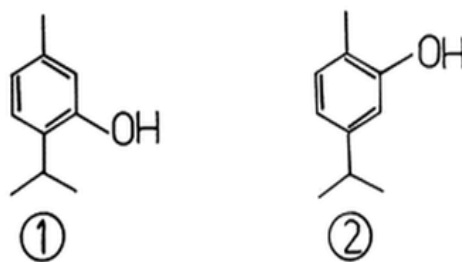
Η περιεκτικότητά του, ωστόσο, διαφοροποιείται σημαντικά, με το θρούμπι να εμφανίζει τη μέγιστη σύσταση στο αιθανολικό του εκχύλισμα (129.11 mg/g ξηρού εκχυλίσματος), ακολουθούμενο από το αιθανολικό και πάλι εκχύλισμα της ρίγανης πλούσιας σε καρβακρόλη (116.17 mg/g ξηρού εκχυλίσματος). Τα υπόλοιπα εκχυλίσματα βρέθηκε να έχουν χαμηλότερες τιμές ροσμαρινικού οξέος, με τη μικρότερη να εντοπίζεται στο εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα από το θυμάρι (12.98 mg/g ξηρού εκχυλίσματος). Γενικά, παρατηρείται για το κάθε αρωματικό φυτό πως τα αιθανολικά του εκχυλίσματα είναι πιο πλούσια σε ροσμαρινικό οξύ από τα αντίστοιχα του οξικού αιθυλεστέρα. Η σύσταση σε ροσμαρινικό οξύ του ολικού αιθανολικού εκχυλίσματος της ρίγανης του μικτού χημειότυπου θυμόλης-καρβακρόλης ανήλθε στην τιμή 45.8 mg/g ξηρού εκχυλίσματος.

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως το σαλβιανολικό οξύ A αποτελεί συστατικό μόνο του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra*. Ανήκει στην κατηγορία των φαινολικών οξέων και συνεπώς πρόκειται για ισχυρό αντιοξειδωτικό. Αναφέρεται ότι είναι ικανό να παρεμποδίζει ρίζες, όπως $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 και OH^{\cdot} (Sun & others, 2009).



Σχήμα 6.2: Χημική δομή Σαλβιανολικού οξέος A

Ένα άλλο συστατικό που απαντάται ευρέως στα φυτά είναι η καρβακρόλη, καθώς και το ισομερές της, η θυμόλη. Συγκεκριμένα, η πρώτη ανιχνεύθηκε στα εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα, με το θυμάρι να διαθέτει τη μεγαλύτερη σύσταση (176.34 mg/g ξηρού εκχυλίσματος) και το θρούμπι τη μικρότερη (16.99 mg/g ξηρού εκχυλίσματος). Το ολικό αιθανολικό εκχύλισμα της ρίγανης του μικτού χημειότυπου παρουσίασε επίσης χαμηλή τιμή (16.1 mg/g ξηρού εκχυλίσματος). Από την άλλη μεριά, η *Origanum hirtum* Thymol-carvacrol, όπως αποδεικνύει και το όνομά της, περιείχε και θυμόλη. Στο ολικό αιθανολικό της εκχύλισμα και σε εκείνο του οξικού αιθυλεστέρα εντοπίστηκαν παρόμοιες περιεκτικότητες θυμόλης ίσες με 21.9 και 26.27 mg/g ξηρού εκχυλίσματος, αντίστοιχα. Θυμόλη επίσης ανιχνεύθηκε στο θρούμπι και συγκεκριμένα στο εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα του (7.72 mg/g ξηρού εκχυλίσματος).



Σχήμα 6.3: Δομή θυμόλης (1) και καρβακρόλης (2)

Μερικά ακόμα φλαβονοειδή, όπως ταξιφολίνη, διυδροκαμπερόλη, εριοδικτυόλη και ναρινγκενίνη, ανιχνεύθηκαν σε μικρές ποσότητες στα εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα των αρωματικών φυτών. Σημειώνεται πως το θρούμπι εμφάνισε αθροιστικά τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα ως προς αυτήν την κατηγορία των ενώσεων, ενώ το θυμάρι τη χαμηλότερη.

6.2. Αντιοξειδωτική δράση εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών κατά την προσθήκη τους σε φυτικά έλαια

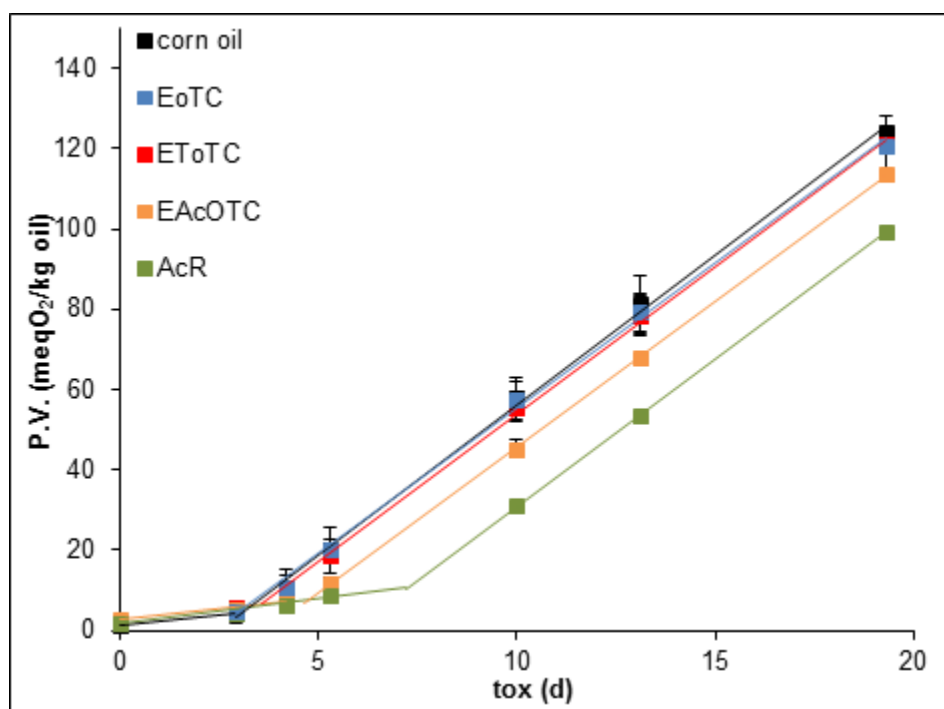
Στο παρόν κεφάλαιο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη χρήση φυσικών αντιοξειδωτικών, και συγκεκριμένα εκχυλισμάτων των αρωματικών φυτών *Origanum hirtum* Carvacrol, *Origanum hirtum* Thymol-carvacrol, *Thymus capitatus* και *Satureja thymbra* της οικογένειας *Lamiaceae*, για την παρεμπόδιση της οξείδωσης ελαίων.

6.2.1. Επίδραση εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών στην οξείδωση αραβοσιτελαίου

Αρχικά, το αραβοσιτέλαιο επιλέχθηκε ως λιπαρή ύλη, καθώς είναι ευρέως χρησιμοποιούμενο. Η σύστασή του ως προς τα κύρια λιπαρά οξέα, όπως αποδόθηκε από την προμηθευτική εταιρεία, ήταν: μυριστικό (0.04%), παλμιτικό (11.70%), παλμιτελαϊκό (0.15%), στεατικό (2.00%), ελαϊκό (30.54%), λιγνελαιϊκό (53.68%), λινολενικό (0.86%) και αραχιδικό (0.42%). Οι τιμές αυτές συμφωνούν με τα στοιχεία που δόθηκαν για το αραβοσιτέλαιο στην Παράγραφο 1.5.

Στην πρώτη δοκιμή οξείδωσής του, στους 70 °C, εξετάστηκαν εκχυλίσματα του μικτού χημειότυπου της ρίγανης, δηλαδή υψηλής σύστασης τόσο σε καρβακρόλη όσο και θυμόλη, και συγκεκριμένα το αιθανολικό (E_{OTC}) το ολικό αιθανολικό (ET_{OTC}), καθώς και το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα (EAc_{OTC}). Ακετονικό εκχύλισμα δεντρολίβανου (Ac_R), χρησιμοποιήθηκε επίσης ως αντιοξειδωτικό για συγκριτικούς λόγους. Η πορεία της οξείδωσης του καθαρού αραβοσιτελαίου (corn oil) και των εμπλουτισμένων ελαίων παρακολούθηθηκε με τον προσδιορισμό του αριθμού υπεροξειδίων και των συζυγών διενίων και τριενίων.

Από τα αποτελέσματα της μεθόδου του αριθμού υπεροξειδίων προέκυψε το Διάγραμμα 6.1 που δείχνει την αύξηση των πρωτογενών αυτών προϊόντων οξείδωσης όλων των δειγμάτων ελαίου, για χρονικό διάστημα περίπου 20 ημερών.



Διάγραμμα 6.1: Επίδραση των εκχυλισμάτων του φυτού *Origanum hirtum* thymol-carvacrol (αιθανολικό: EoTC, ολικό αιθανολικό: EToTC, οξικού αιθυλεστέρα: EAcoTC) και του Rosemary (AcR) στην ανάπτυξη του αριθμού υπεροξειδίων αραβοσιτελαίου (corn oil), αποθηκευμένου στους 70 °C

Σε όλες τις περιπτώσεις, παρατηρείται μία αρχική περίοδος χαμηλού ρυθμού οξείδωσης (περίοδος επώασης) και, στη συνέχεια, μία περίοδος επιταχυνόμενης οξείδωσης, επιβεβαιώνοντας τα στοιχεία της βιβλιογραφίας που παρουσιάστηκαν στην Παράγραφο 1.2 για την οξείδωση των ελαίων. Τα αιθανολικά εκχυλίσματα δεν φαίνεται να ήταν αποτελεσματικά, καθώς η πορεία οξείδωσης των εμπλουτισμένων με αυτά δειγμάτων, με βάση τη μέτρηση του αριθμού υπεροξειδίων, όπως διαπιστώνεται και από το Διάγραμμα 6.1, σχεδόν συμπίπτει με εκείνη του καθαρού αραβοσιτελαίου. Η συμπεριφορά τους αυτή πιθανώς οφείλεται στην αδυναμία των αιθανολικών εκχυλισμάτων για καλή ενσωμάτωσή τους στο έλαιο. Συγκεκριμένα, τα πολικά συστατικά που περιέχουν δε διαλύονται εύκολα σε έλαια, και γενικά σε υψηλής λιπαρότητας τρόφιμα, σε τόσο ικανοποιητικό βαθμό όσο οι μη πολικές ενώσεις. Η θεωρία αυτή αναφέρεται συχνά στη βιβλιογραφία (Gómez-Estaca & others, 2014), αλλά διαπιστώθηκε και κατά την πειραματική διαδικασία, όπου τα τελικά ελαιοδιαλύματα των αιθανολικών εκχυλισμάτων εμφάνισαν κάποια θολώματα. Από την άλλη μεριά, το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα της ρίγανης (πλούσιο σε άπολες ουσίες) παρατηρείται πως παρείχε καλύτερη αντιοξειδωτική δράση. Κατάφερε να επιμηκύνει το χρόνο επώασης του καθαρού ελαίου κατά 1.5 περίπου ημέρες. Συγκριτικά αναφέρεται πως το ακετονικό εκχύλισμα δεντρολίβανου παρέτεινε το χρόνο επώασης κατά περίπου 4 ημέρες. Όσον αφορά στην περίοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης, ο αριθμός υπεροξειδίων των δειγμάτων ελαίου αυξάνεται σχεδόν γραμμικά με το χρόνο, ικανοποιώντας το κινητικό μοντέλο:

$$C = k \cdot t + C_0$$

όπου C- η τιμή του δείκτη οξείδωσης μετά από χρόνο t επιταχυνόμενης οξείδωσης

C₀-η αρχική τιμή του δείκτη οξείδωσης στην περίοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης

k- η σταθερά του ρυθμού επιταχυνόμενης οξείδωσης

t- ο χρόνος της επιταχυνόμενης οξείδωσης

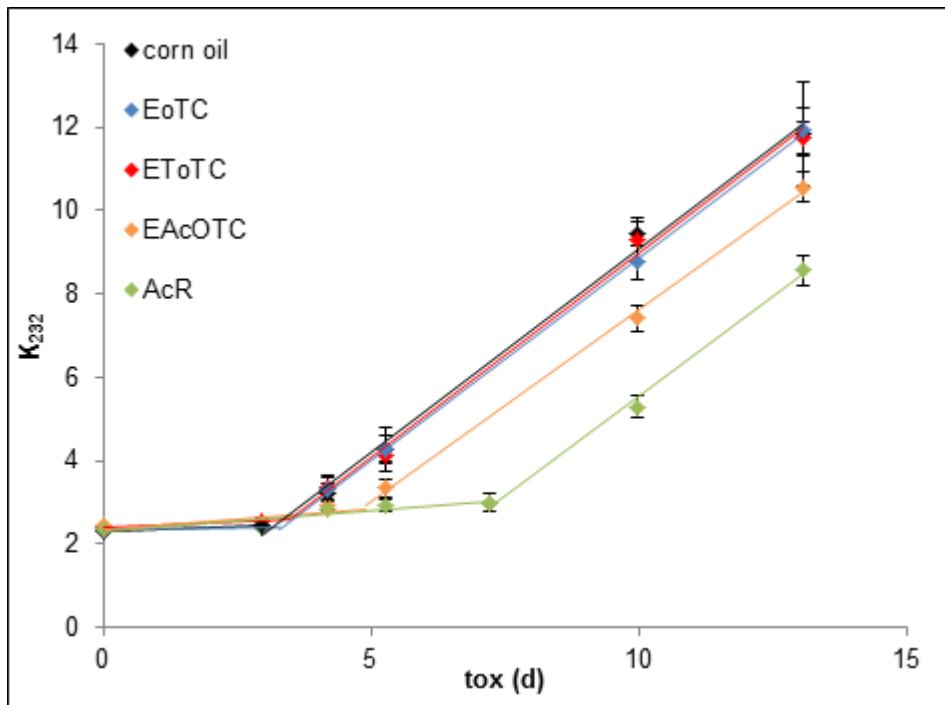
Για το λόγο αυτό, βρέθηκε η εξίσωση ευθείας που προσεγγίζει πιο ικανοποιητικά τη συμπεριφορά του κάθε ελαιοδιαλύματος. Η σταθερά του ρυθμού επιταχυνόμενης οξείδωσης (k) και ο συντελεστής συσχέτισης (R²) της γραμμικής ευθείας για το καθαρό και τα εμπλουτισμένα έλαια παρουσιάζεται στον Πίνακα 6.5.

Πίνακας 6.5: Σταθερά επιταχυνόμενης αύξησης και συντελεστής συσχέτισης του αριθμού υπεροξειδίων του καθαρού αραβοσιτελαίου (corn oil) και των εμπλουτισμένων με εκχυλίσματα του φυτού *Origanum hirtum thymol-carvacrol* (αιθανολικό: E_{OTC}, ολικό αιθανολικό: ET_{OTC}, οξικού αιθυλεστέρα: EAc_{OTC}) και του *Rosemary* (Ac_R)

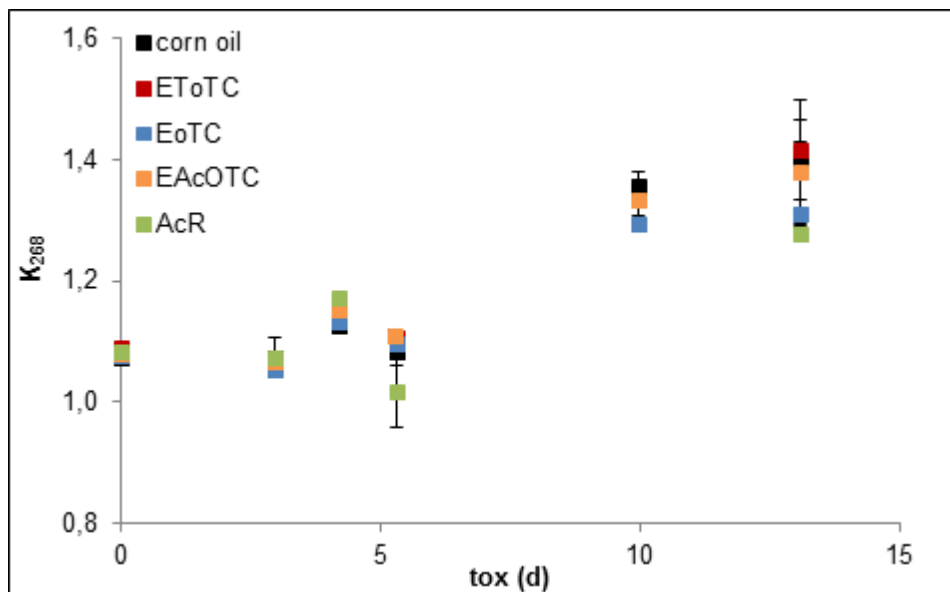
Εκχύλισμα	k (meqO ₂ /kg _{ελαίου} ·d)	R ²
Corn oil	7.50±0.16	0.9982
EAc _{OTC}	7.27±0.04	0.9999
E _{OTC}	7.26±0.16	0.9981
ET _{OTC}	7.36±0.13	0.9991
Ac _R	7.35±0.05	0.9999

Φαίνεται πως οι τιμές k των εμπλουτισμένων ελαιοδιαλυμάτων δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές από την αντίστοιχη τιμή του καθαρού ελαίου, γεγονός που αποδεικνύει ότι τα εκχυλίσματα δεν ήταν ικανά να εμποδίσουν σε μεγάλο βαθμό την αύξηση των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης. Συγκεκριμένα, το μη εμπλουτισμένο αραβοσιτέλαιο εμφανίζει ρυθμό οξείδωσης ίσο με 7.50±0.16 meq O₂/kg_{ελαίου}·d, ενώ το έλαιο που περιέχει το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα, το οποίο έδειξε έναν από τους μικρότερους ρυθμούς οξείδωσης, παρουσιάζει αντίστοιχη τιμή ίση με 7.27±0.04 meq O₂/kg_{ελαίου}·d.

Στα Διαγράμματα 6.2 και 6.3 παρατίθενται τα αποτελέσματα της μέτρησης των συζυγών διενίων και τριενίων, αντίστοιχα, τόσο για το καθαρό όσο και για τα εμπλουτισμένα έλαια.



Διάγραμμα 6.2: Επίδραση των εκχυλισμάτων του φυτού *Origanum hirtum* thymol-carvacrol (αιθανολικό: E_{oTC}, ολικό αιθανολικό: E_{T_{oTC}}, οξικό αιθυλεστέρα: E_{A_{coTC}}) και του Rosemary (A_{cR}) στην ανάπτυξη του αριθμού συζυγών διενίων αραβοσιτελαίου, αποθηκευμένου στους 70 °C



Διάγραμμα 6.3: Αύξηση του αριθμού συζυγών τριενίων καθαρού αραβοσιτελαίου και εμπλουτισμένου με εκχυλίσματα του φυτού *Origanum hirtum* thymol-carvacrol (αιθανολικό: E_{oTC}, ολικό αιθανολικό: E_{T_{oTC}}, οξικό αιθυλεστέρα: E_{A_{coTC}}) και του Rosemary (A_{cR}), κατά την αποθήκευσή τους στους 70 °C

Η ανάπτυξη των συζυγών διενίων φαίνεται να είναι παρόμοια με εκείνη του αριθμού υπεροξειδίων, επιβεβαιώνοντας τα συμπεράσματα που προαναφέρθηκαν. Αρχικά αυξάνονται με έναν αργό ρυθμό και στη συνέχεια παρατηρείται η επιταχυνόμενη συσσώρευσή τους, η οποία ακολουθεί το γραμμικό κινητικό μοντέλο.

Φαίνεται και πάλι η μη αποτελεσματικότητα των αιθανολικών εκχυλισμάτων της ρίγανης, αφού και κατά τον προσδιορισμό των συζυγών διενίων, τα έλαια που περιέχουν τα συγκεκριμένα αντιοξειδωτικά ακολουθούν τη συμπεριφορά του μη εμπλουτισμένου ελαίου, σε όλο το χρονικό διάστημα της οξείδωσης. Επιπλέον, τα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν για τη δράση του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα της ρίγανης του μικτού χημειότυπου και του κλάσματος του δεντρολίβανου, σύμφωνα με την ανάπτυξη του αριθμού υπεροξειδίου, ενισχύονται και από τη μέτρηση των συζυγών διενίων, αποδεικνύοντας την ικανότητά τους να παρέχουν αντιοξειδωτική δράση μόνο κατά την περίοδο επώασης. Οι σταθερές του ρυθμού επιταχυνόμενης οξείδωσης και οι συντελεστές συσχέτισης των συζυγών διενίων φαίνονται στον Πίνακα 6.6.

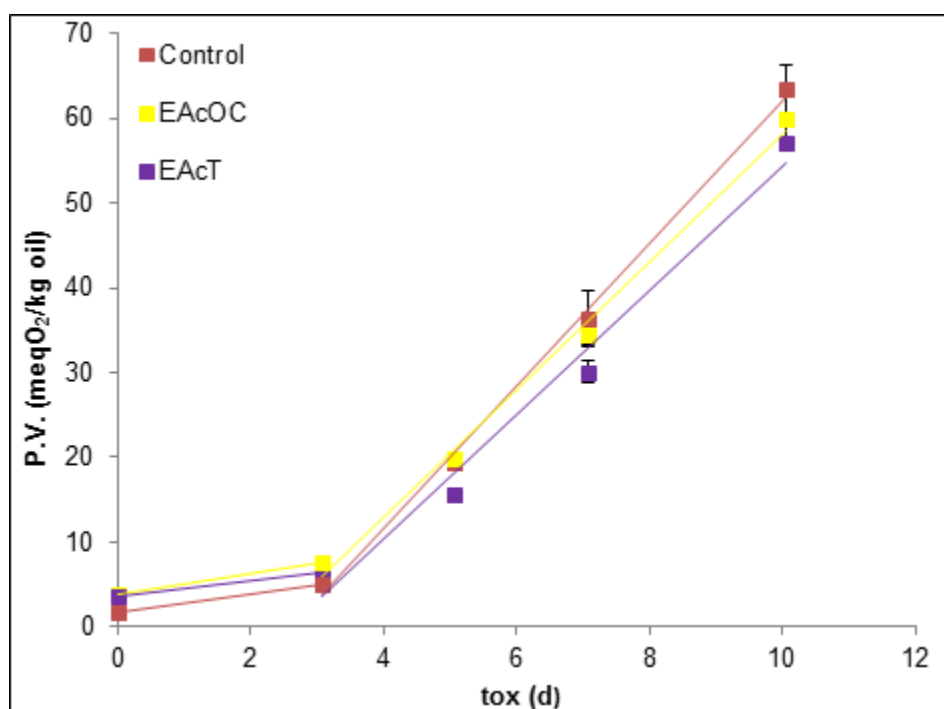
Πίνακας 6.6: Ρυθμός επιταχυνόμενης οξείδωσης του καθαρού αραβοσιτελαίου και των εμπλουτισμένων ελαίων με εκχυλίσματα της *Origanum hirtum thymol-carvacrol* (αιθανολικό: E_{OTC} , ολικό αιθανολικό: ET_{OTC} , οξικού αιθυλεστέρα: EA_{OTC}) και του *Rosemary* (AC_R) με βάση την ανάπτυξη των συζυγών διενίων, καθώς και ο συντελεστής συσχέτισής τους

Εκχύλισμα	k (d ⁻¹)	R ²
Corn oil	0.97±0.04	0.9949
EA_{OTC}	0.92±0.04	0.9984
E_{OTC}	0.97±0.01	0.9998
ET_{OTC}	0.98±0.05	0.9945
AC_R	0.95±0.06	0.9958

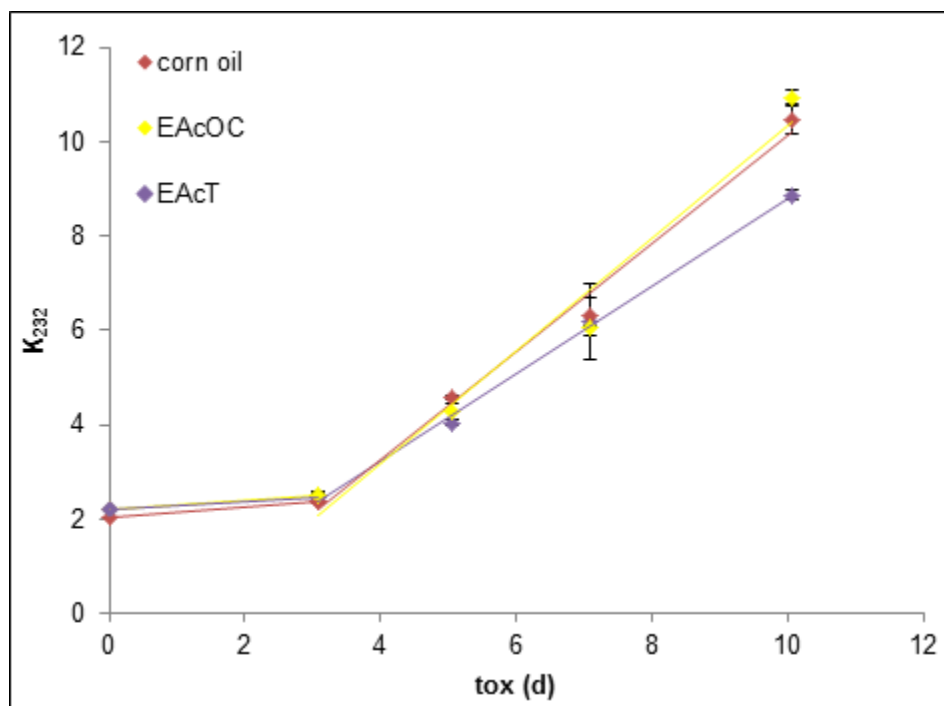
Η πορεία της συσσώρευσης των συζυγών τριενίων παρουσιάζει διαφορετική εικόνα. Σε όλα τα ελαιοδιαλύματα, παρατηρήθηκε ελάχιστη αύξησή τους από την τιμή 1.0 μέχρι την 1.4. Το γεγονός αυτό εξηγείται λόγω της χαμηλής περιεκτικότητας του αραβοσιτελαίου σε τριακόρεστα λιπαρά οξέα. Συγκεκριμένα, από την ανάλυση του ελαίου, όπως παρουσιάστηκε, η σύστασή του σε λινολενικό οξύ ήταν 0.86%, κατά την παραλαβή του. Καθώς φάνηκε ότι η μέθοδος των συζυγών τριενίων δεν ήταν ένας αντιπροσωπευτικός δείκτης της οξείδωσης των δειγμάτων του αραβοσιτελαίου, δεν χρησιμοποιήθηκε στις περαιτέρω δοκιμές οξείδωσής του.

Στο δεύτερο πείραμα οξείδωσης του αραβοσιτελαίου, ακολουθήθηκαν οι ίδιες συνθήκες και μελετήθηκε η δράση του χημειότυπου της ρίγανης πλούσιου σε καρβακρόλη, ώστε να παρατηρηθούν τυχόν διαφορές και ομοιότητες στην αποτελεσματικότητά του σε σχέση με του μικτού χημειότυπου του φυτού, που προαναφέρθηκε. Επιπλέον, εξετάστηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα ενός άλλου διαδεδομένου στην Ελλάδα φυτού, του θυμαριού. Επιλέχθηκαν εκχυλίσματα από οξικό αιθυλεστέρα, καθώς εκείνα της αιθανόλης απορρίφθηκαν λόγω των δυσκολιών αναμειξιμότητάς τους με τη λιπαρή ύλη, που παρατηρήθηκαν. Από τη μελέτη της οξείδωσης των εμπλουτισμένων ελαίων και μη, προέκυψαν τα Διαγράμματα 6.4 και

6.5, τα οποία αναπαριστούν τη συσσώρευση του αριθμού υπεροξειδίων και συζυγών διενίων των δειγμάτων ελαίου, αντίστοιχα, σε συνάρτηση με το χρόνο οξείδωσης (10 ημέρες). Συγκρίνοντας το χρόνο επώασης των ελαιοδιαλυμάτων, σύμφωνα και με τους δύο δείκτες οξείδωσης, παρατηρείται πως τα εκχυλίσματα δεν είχαν κάποια αντιοξειδωτική δράση σε αυτό το χρονικό διάστημα. Πιο αναλυτικά, η περίοδος χαμηλής αύξησης των πρωτογενών προϊόντων και για τις δύο περιπτώσεις εμπλουτισμένων ελαίων διήρκησε περίπου μέχρι 3 ημέρες, όσο δηλαδή και του καθαρού αραβοσιτελαίου. Υπενθυμίζεται ότι στο πρώτο πείραμα οξείδωσης του ελαίου ο χημειότυπος της ρίγανης πλούσιος σε καρβακρόλη και θυμόλη είχε παρατείνει το χρόνο επώασης του, παρέχοντας καλύτερη αποτελεσματικότητα από το χημειότυπό της με υψηλή περιεκτικότητα μόνο σε καρβακρόλη. Φαίνεται ότι η διαφορετική περιεκτικότητα των εκχυλισμάτων σε διάφορες φαινολικές ουσίες παίζει σημαντικό ρόλο στην αντιοξειδωτική ικανότητά τους. Η πρόταση αυτή θα σχολιαστεί πιο διεξοδικά στη συνέχεια.



Διάγραμμα 6.4: Αύξηση του αριθμού υπεροξειδίων καθαρού αραβοσιτελαίου (corn oil) και εμπλουτισμένων με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα του φυτού *Origanum hirtum* carvacrol (EAc_{OC}) και του *Thymus capitatus* (EAc_T), συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσής τους στους 70 °C



Διάγραμμα 6.5: Αύξηση του αριθμού συζυγών διενίων καθαρού αραβοσιτελαίου (corn oil) και εμπλουτισμένων με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα του φυτού *Origanum hirtum carvacrol* (EAc_{OC}) και του *Thymus capitatus* (EAc_T), συναρτήσεως του χρόνου αποθήκευσής τους στους 70 °C

Όσον αφορά στην περίοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης, οι ρυθμοί και οι συντελεστές συσχέτισης των βέλτιστων ευθειών του καθαρού αραβοσιτελαίου και των εμπλουτισμένων φαίνονται στον Πίνακα 6.7, με βάση τη μέθοδο του αριθμού υπεροξειδίου, και στον Πίνακα 6.8, σύμφωνα με τις τιμές που καταγράφηκαν για τα συζυγή διένια.

Πίνακας 6.7: Ρυθμοί ανάπτυξης του αριθμού υπεροξειδίων καθαρού αραβοσιτελαίου (corn oil) και εμπλουτισμένου με εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα του φυτού *Origanum hirtum carvacrol* (EAc_{OC}) και του *Thymus capitatus* (EAc_T), καθώς και οι συντελεστές συσχέτισης που χαρακτηρίζουν την περίοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης

Εκχύλισμα	k (meqO ₂ /kg _{ελαίου} ·d)	R ²
Corn oil	8.42±0.28	0.9977
EAc _{OC}	7.56±0.39	0.9946
EAc _T	7.35±0.73	0.9809

Πίνακας 6.8: Ρυθμοί ανάπτυξης του αριθμού συζυγών διενίων καθαρού αραβοσιτελαίου (corn oil) και εμπλουτισμένον με εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα του φυτού *Origanum hirtum carvacrol* (EAc_{OC}) και του *Thymus capitatus* (EAc_T), καθώς και οι συντελεστές συσχέτισης που χαρακτηρίζουν την περίοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης

Εκχύλισμα	k (d ⁻¹)	R ²
Corn oil	1.15±0.08	0.9895
EAc _{OC}	1.20±0.14	0.9716
EAc _T	0.93±0.03	0.9984

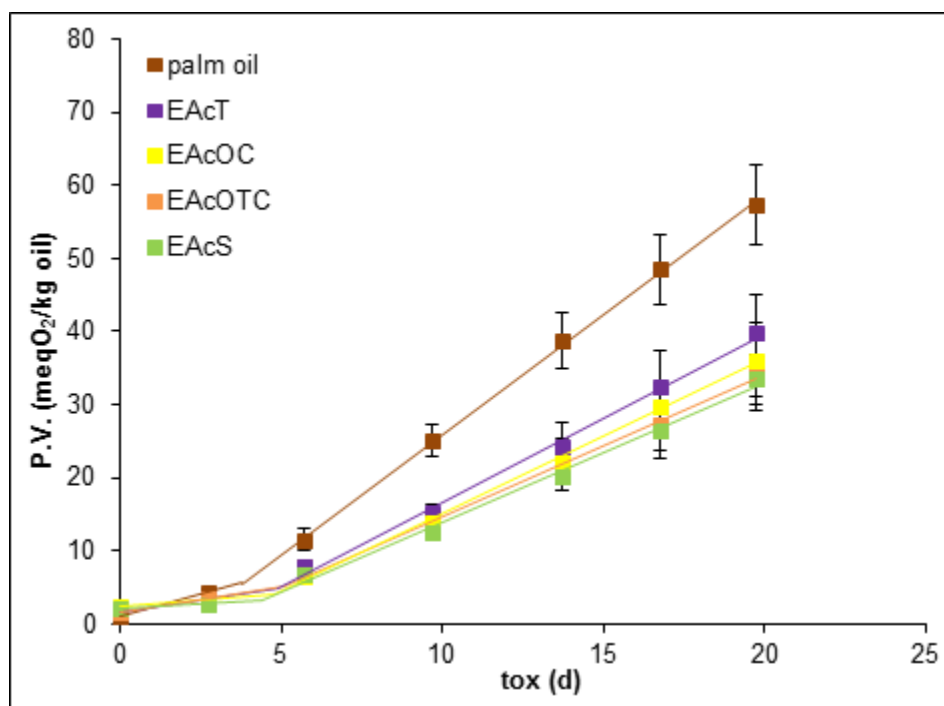
Όπως παρατηρείται από τα Διαγράμματα 6.4 και 6.5, αλλά και από τις σταθερές ρυθμού επιταχυνόμενης οξείδωσης, τα δύο εκχυλίσματα δεν προστάτευσαν σε μεγάλο βαθμό το έλαιο. Συγκρίνοντας, για παράδειγμα, τη σταθερά αύξησης των υπεροξειδίων του εμπλουτισμένου ελαίου με εκχύλισμα της ρίγανης (7.56 meq O₂/kg_{ελαίου}·d) και της αντίστοιχης τιμής του θυμαριού (7.35 meq O₂/kg_{ελαίου}·d) με εκείνη του καθαρού ελαίου (8.42 meq O₂/kg_{ελαίου}·d) δεν παρατηρούνται ιδιαίτερα μεγάλες διαφορές.

Συμπερασματικά, από τις δύο δοκιμές οξείδωσης του αραβοσιτελαίου διαπιστώθηκε χαμηλή αποτελεσματικότητα των αντιοξειδωτικών που χρησιμοποιήθηκαν. Αυτό οφείλεται στη φύση του συγκεκριμένου ελαίου. Το αραβοσιτέλαιο έχει αναφερθεί πως διαθέτει αρκετά υψηλή σύσταση σε φυσικά αντιοξειδωτικά, όπως για παράδειγμα τοκοφερόλες, οι οποίες ανέρχονται στην τιμή 295-1167 ppm. Πιο αναλυτικά, έχει ανιχνευθεί ποσότητα 47-236 ppm σε α-τοκοφερόλη και 158±1100 ppm σε γ- και δ-τοκοφερόλη (Βαγενά, 2013). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μη μπορεί να αναδειχθεί η αντιοξειδωτική δράση των αρωματικών φυτών. Επιπροσθέτως, όπως επισημάνθηκε και στην Παράγραφο 2.1.4., η α-τοκοφερόλη και το ροσμαρινικό οξύ, που αποτελεί το ισχυρό αντιοξειδωτικό των εκχυλισμάτων, δρουν ανταγωνιστικά. Έτσι, κατά την προσθήκη των εκχυλισμάτων των αρωματικών φυτών στο αραβοσιτέλαιο, η οξειδωτική προστασία των συστατικών τους, όπως του ροσμαρινικού οξέος, εμφανίζεται να είναι μικρότερη παρουσία α-τοκοφερόλης, και ιδιαίτερα σε υψηλά ποσοστά της. Πιο αναλυτικά, η α-τοκοφερόλη προσπαθεί να αναγεννηθεί από ένα ισχυρότερο αντιοξειδωτικό, με αποτέλεσμα να χάνεται η δράση του ισχυρού και να παραμένει μόνο εκείνη του ασθενέστερου για την παρεμπόδιση της οξείδωσης του ελαίου.

6.2.2. Επίδραση εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών στην οξείδωση φοινικέλαιου

Παρατηρώντας την απουσία αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων των αρωματικών φυτών με οξικό αιθυλεστέρα κατά την προσθήκη τους στο αραβοσιτέλαιο, επιλέχθηκε μία άλλη λιπαρή ύλη, το φοινικέλαιο. Αποτελεί ένα εξίσου διαδεδομένο και σταθερό ως προς την οξείδωση έλαιο, όπως έχει ήδη

αναφερθεί. Επίσης χρησιμοποιείται στο τηγάνισμα, που καταπονεί ιδιαίτερα το έλαιο από άποψη οξείδωσης. Το περιεχόμενό του στα κύρια λιπαρά οξέα ήταν με βάση την εταιρεία από την οποία παραλήφθηκε το εξής: μυριστικό (1.03%), παλμιτικό (41.39%), παλμιτελαϊκό (0.20%), στεατικό (4.10%), ελαϊκό (42.99%), λινελαϊκό (10.38%), λινολενικό (0.18%) και αραχιδικό (0.34%). Παρατηρείται η ταύτιση των τιμών με τα όρια που παρουσιάστηκαν στην Παράγραφο 1.5. Επιπλέον, δε διαθέτει υψηλή περιεκτικότητα σε φυσικά αντιοξειδωτικά και, συνεπώς, αναμένεται πιο εμφανής αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων. Αναφέρεται χαρακτηριστικά ότι η σύστασή του σε τοκοφερόλες κυμαίνεται μεταξύ των τιμών 100 με 150 ppm (Choe & Min, 2009). Η δοκιμή οξείδωσης του φοινικέλαιου έλαβε χώρα υπό τις ίδιες συνθήκες με του αραβοσιτελαίου, μελετώντας και πάλι τα αρωματικά φυτά *Origanum hirtum* carvacrol, *Origanum hirtum* thymol-carvacrol, *Thymus capitatus*, καθώς και τη *Satureja thymbra*, ένα είδος της ίδιας οικογένειας, που έχει αρχίσει να προσελκύει το ενδιαφέρον των ερευνητών για την αντιοξειδωτική του δράση. Τα τελικά ελαιοδιαλύματα, μετά την απομάκρυνση του διαλύτη, ήταν απολύτως διαυγή. Ο αριθμός υπεροξειδίων όπως αναπτύχθηκε για τα εμπλουτισμένα και για το καθαρό φοινικέλαιο, κατά την αποθήκευσή τους στους 70 °C, σε χρονικό διάστημα 20 ημερών, καταγράφεται στο Διάγραμμα 6.6. Δεν μελετήθηκε η μέθοδος συζυγών διενίων, αφού αποδείχθηκε ότι προσφέρει αντίστοιχα αποτελέσματα με τον αριθμό υπεροξειδίων για τις οξειδώσεις ελαίων, ενώ και η μέτρηση των συζυγών τριενίων κρίθηκε μη απαραίτητη λόγω της ακόμη χαμηλότερης σύστασης του φοινικέλαιου συγκριτικά με το αραβοσιτέλαιο σε λινολενικό οξύ (0.18%) .



Διάγραμμα 6.6: Αριθμός υπεροξειδίων καθαρού φοινικέλαιου (palm oil) και εμπλουτισμένων δειγμάτων με εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα των φυτών *Origanum hirtum* carvacrol (EAc_{OC}), *Origanum hirtum* thymol-carvacrol (EAc_{OTC}), *Thymus capitatus* (EAc_T) και *Satureja thymbra* (EAc_S), σε συνάρτηση με το χρόνο οξείδωσης τους στους 70 °C

Από το Διάγραμμα 6.6 διαπιστώνεται πως όλα τα εκχυλίσματα παρεμπόδισαν την οξείδωση του φοινικέλαιου, πολύ πιο ικανοποιητικά από ότι του αραβοσιτελαίου, τόσο παρατείνοντας το χρόνο επώασης του όσο και μειώνοντας το ρυθμό αύξησης των υπεροξειδίων, κατά την περίοδο της επιταχυνόμενης οξείδωσής του. Συγκεκριμένα, δεν μπορεί να προσδιορισθεί η ακριβής επιμήκυνση του χρόνου επώασης επειδή δεν πραγματοποιήθηκαν πολλές μετρήσεις κατά τις πρώτες ημέρες, αλλά εκτιμάται περίπου 1.2 d. Για τη σύγκριση της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων κατά την περίοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης προσδιορίστηκε η παράμετρος Προστασία (P), η οποία εκφράζει την % μείωση της σταθεράς σχηματισμού υδροϋπεροξειδίων, ως προς τη σταθερά του καθαρού ελαίου, και δίνεται από τη σχέση:

$$P = \left(1 - \frac{k_i}{k_c}\right) \cdot 100\%$$

όπου k_i - η σταθερά ρυθμού οξείδωση του εμπλουτισμένου ελαίου

k_c - η σταθερά ρυθμού οξείδωσης του καθαρού ελαίου

Στον Πίνακα 6.9 καταγράφεται ο ρυθμός και ο συντελεστής συσχέτισης που χαρακτηρίζει την επιταχυνόμενη οξείδωση του κάθε δείγματος ελαίου, καθώς και οι τιμές Προστασίας των εμπλουτισμένων ελαίων.

Πίνακας 6.9: Ρυθμοί οξείδωσης των εμπλουτισμένων ελαίων με εκχυλίσματα των *Thymus capitatus* (EAC_T), *Origanum hirtum carvacrol* (EAC_{OC}), *Origanum hirtum thymol-carvacrol* (EAC_{OTC}), και *Satureja thymbra* (EAC_S), καθώς και οι τιμές προστασίας, κατά την περίοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης φοινικέλαιου (palm oil) στους 70 °C

Εκχύλισμα	k (meqO ₂ /kg _{ελαίου} ·d)	R ²	P (%)
palm oil	3.30±0.05 ^{c*}	0.9994	
EAC _T	2.31±0.09 ^b	0.9958	30
EAC _{OC}	2.13±0.06 ^{ab}	0.9975	35
EAC _{OTC}	1.93±0.13 ^a	0.9871	41
EAC _S	1.92±0.10 ^a	0.9922	42

*a<b<c

Συγκρίνοντας τις τιμές Προστασίας συμπεραίνεται πως τα εκχυλίσματα του φυτού *Satureja thymbra* και της ρίγανης μικτού χημειότυπου παρουσίασαν την καλύτερη προστασία έναντι της οξείδωσης, ενώ και τα άλλα εκχυλίσματα έδειξαν ικανοποιητική προστασία, μειώνοντας το ρυθμό οξείδωσης κατά $\geq 30\%$. Τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν και μέσω στατιστικής επεξεργασίας όσον αφορά στους ρυθμούς οξείδωσης (one-way Anova και test πολλαπλής κατεύθυνσης Dankan, με επίπεδο σημαντικότητας 0.95). Συγκεκριμένα προέκυψε η σημαντική μείωση της

επιταχυνόμενης οξειδωσης του φοινικέλαιου με τη χρήση των εκχυλισμάτων όλων των φυτών. Διαπιστώθηκε μάλιστα η στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση των εκχυλισμάτων των φυτών *Satureja thymbra* και *Origanum hirtum* Thymol-carvacrol από το εκχύλισμα του θυμαριού. Το εκχύλισμα της *Origanum hirtum* Carvacrol φαίνεται να παρέχει μία δράση, η οποία κυμαίνεται μεταξύ των ισχυρότερων εκχυλισμάτων και του ασθενέστερου.

Το εκχύλισμα από θρούμπι, που εμφάνισε μία από τις καλύτερες αντιοξειδωτικές δράσεις, βρέθηκε να έχει πλούσιο περιεχόμενο σε ολικές φαινόλες, αλλά όχι το υψηλότερο από τα κλάσματα που εξετάστηκαν (154.02 ± 11.86 mg/g ξηρού εκχυλίσματος). Η υπεροχή της αποτελεσματικότητάς του φαίνεται να οφείλεται στην υψηλή σύστασή του σε φαινολικά οξέα. Ανιχνεύθηκε σε αυτό μία από τις μεγαλύτερες τιμές ροσμαρινικού οξέος, καθώς και ήταν το μόνο εκχύλισμα που περιείχε σαλβιανολικό οξύ A. Οι Tsimogiannis & others (2006) επισημαίνουν τις σημαντικές αντιοξειδωτικές ικανότητες του ροσμαρινικού οξέος, καθώς, λόγω της δομής των δύο κατεχολικών ομάδων του, η αφαίρεση των υδρογόνων του υδροξυλίου από τις ελεύθερες ρίζες είναι ευνοϊκή, ενώ, όπως αναφέρθηκε, το σαλβιανολικό οξύ A μπορεί να παρεμποδίζει ρίζες, όπως $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 και OH^{\cdot} . Το άθροισμα των τιμών των φαινολικών οξέων που ανιχνεύθηκαν στο θρούμπι το διαφοροποιεί από τα υπόλοιπα εκχυλίσματα, δικαιολογώντας πιθανώς την καλή αποτελεσματικότητά του. Επιπλέον, αποτελεί το πιο πλούσιο εκχύλισμα στα διάφορα φλαβονοειδή.

Από την άλλη μεριά, το εκχύλισμα από θυμάρι φάνηκε να παρέχει μικρότερη προστασία έναντι της οξειδωσης του ελαίου, παρόλο που σημείωσε τη μεγαλύτερη τιμή ολικών φαινολών (198.02 ± 1.07 mg/g ξηρού εκχυλίσματος). Κατά την ανάλυσή του, όπως έχει ήδη αναφερθεί, εμφάνισε τη χαμηλότερη σύσταση τόσο σε φαινολικά οξέα όσο και σε φλαβονοειδή. Ωστόσο, συγκρίνοντας τα ποσοστά των ισομερών φαινολών, θυμόλης και καρβακρόλης, μεταξύ των εκχυλισμάτων, φάνηκε να περιείχε τα υψηλότερα και μάλιστα με μεγάλη διαφορά. Η συγκέντρωση της καρβακρόλης ανήλθε στην τιμή 176.34 mg/g ξηρού εκχυλίσματος, ενώ οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις για τα υπόλοιπα εκχυλίσματα ήταν 94.62 και 51.72 mg/g ξηρού εκχυλίσματος για τον απλό και μικτό χημειότυπο της ρίγανης, αντίστοιχα, και 24.71 mg/g ξηρού εκχυλίσματος για το θρούμπι. Η καρβακρόλη όπως και η θυμόλη βέβαια είναι ουσίες με χαμηλή αντιοξειδωτική δράση. Επιπλέον, μία πιθανή εξήγηση η οποία χρίζει περαιτέρω διερεύνησης, για τη χαμηλότερη αποδοτικότητα του εκχυλίσματος από θυμάρι αποτελεί η ανταγωνιστική δράση κάποιων φαινολικών συστατικών, όπως της καρβακρόλης, η οποία αποτέλεσε το κύριο συστατικό του συγκεκριμένου κλάσματος, με άλλες φαινολικές ενώσεις, όπως για παράδειγμα το ισχυρό αντιοξειδωτικό ροσμαρινικό οξύ, με αποτέλεσμα να μειώνεται η αντιοξειδωτική ικανότητα του εκχυλίσματος.

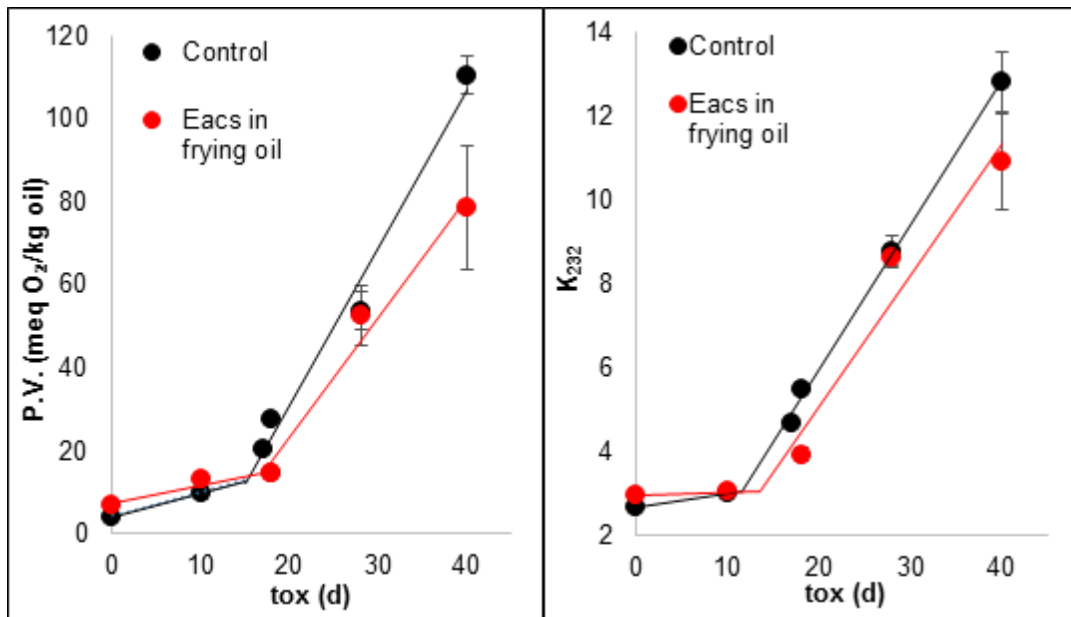
Τα εκχυλίσματα με οξικό αιθυλεστέρα των δύο χημειότυπων της ρίγανης παρουσίασαν ενδιάμεσες τιμές μεταξύ των αντίστοιχων εκχυλισμάτων από θρούμπι και από θυμάρι όσον αφορά στα φαινολικά οξέα και στα φλαβονοειδή, με τον απλό χημειότυπο να περιέχει μεγαλύτερα ποσοστά. Βέβαια, στο εκχύλισμα του απλού

χημειότυπου της ρίγανης ανιχνεύθηκε και υψηλότερη σύσταση στις ισομερείς μονοφαινόλες και κυρίως στην καρβακρόλη, γεγονός που επιβεβαιώνει την παραπάνω θεωρία, καθώς το συγκεκριμένο εκχύλισμα επέδρασε σε ελαφρώς μειωμένο βαθμό (αν και όχι στατιστικά σημαντικό) έναντι της οξείδωσης σε σχέση με το εκχύλισμα της ρίγανης του μικτού χημειότυπου. Αναφέρεται ότι η σύσταση σε καρβακρόλη ήταν 94.62 και 25.45 mg/g ξηρού εκχυλίσματος, για το κλάσμα του απλού και του μικτού χημειότυπου αντίστοιχα, ενώ στο τελευταίο ανιχνεύθηκε και θυμόλη (26.27 mg/g ξηρού εκχυλίσματος). Αξίζει να τονιστεί πως ορισμένες έρευνες καταγράφουν τη μικρή υπεροχή της θυμόλης ως προς την αντιοξειδωτική της δράση, συγκριτικά με την καρβακρόλη. Οι Yanishlieva & others (1999) διαπίστωσαν, μέσω της ενσωμάτωσης θυμόλης και καρβακρόλης σε ίδιες περιεκτικότητες σε ηλιέλαιο, την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση της πρώτης.

6.3. Μελέτη της δράσης των εκχυλισμάτων του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra* στην οξείδωση chips πατάτας

Αφού διαπιστώθηκε η υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra* στο φοινικέλαιο, επιλέχθηκε η χρήση του στα επόμενα πειράματα που αφορούν στην παρεμπόδιση της οξείδωσης λιπαρών τροφίμων. Στη συνέχεια, θα παρουσιαστεί η δράση των εκχυλισμάτων του αρωματικού φυτού με οξικό αιθυλεστέρα και με αιθανόλη στην οξείδωση chips πατάτας. Το φοινικέλαιο χρησιμοποιήθηκε ως μέσο τηγανίσματος λόγω των ιδιοτήτων του που προαναφέρθηκαν, καθώς και επειδή θεωρείται κατάλληλο έλαιο για διαδικασίες τηγανίσματος (Gunstone, 2002). Η οξειδωτική σταθερότητα των chips, τα οποία συσκευάστηκαν και αποθηκεύτηκαν στους 70 °C (ίδιες συνθήκες με τις δοκιμές των ελαίων), εκτιμήθηκε με βάση τον αριθμό υπεροξειδίων (P.V.), συζυγών διενίων (K₂₃₂) και της π-ανισιδίνης (p-A.V.) του ελαίου που είχαν απορροφήσει, έπειτα από εκχύλισή του με εξάνιο.

Η ανάπτυξη των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης των δειγμάτων chips, που τηγανίστηκαν σε εμπλουτισμένο έλαιο με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα από το φυτό θρούμπι (EAc_S in frying oil), σε σύγκριση με τα μη επεξεργασμένα chips (control), παρουσιάζεται στο Διαγράμματα 6.7, για χρονικό διάστημα 40 ημερών.



Διάγραμμα 6.7: Αύξηση του αριθμού υπεροξειδίων και συζυγών διενίων σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης στους 70 °C, για chips πατάτας τηγανισμένα στους 180 °C, μη επεξεργασμένα (Control) και τηγανισμένα σε εμπλουτισμένο φοινικέλαιο με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα του φυτού *Satureja thymbra* (EACs in frying oil)

Όπως ήταν αναμενόμενο, λόγω της υψηλής σύστασης των chips πατάτας σε λιπαρά, η ανάπτυξη των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσής τους ακολουθεί αντίστοιχη πορεία με εκείνη που παρατηρήθηκε στις δοκιμές των ελαίων, δηλαδή αρχικά παρατηρείται μία μικρή αύξηση τους (χρόνος επώασης) και έπειτα ακολουθεί μία επιταχυνόμενη συσσώρευσή τους, η οποία αναπτύσσεται σχεδόν γραμμικά με το χρόνο οξείδωσης. Το αποτέλεσμα της μέτρησης των συζυγών διενίων παρέχει και πάλι σε γενικές γραμμές αντίστοιχα αποτελέσματα με τη μέθοδο του αριθμού υπεροξειδίων. Συγκρίνοντας τις πορείες οξείδωσης των δύο σειρών δειγμάτων όπως καταγράφονται στο Διάγραμμα 6.7, φαίνεται πως η ενσωμάτωση του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα της *Satureja thymbra* στο έλαιο τηγανίσματος επιμήκυνε την περίοδο χαμηλής συσσώρευσης υπεροξειδίων των chips κατά περίπου 3 ημέρες. Επιπροσθέτως, η χρήση του εκχυλίσματος συνετέλεσε και στην παρεμπόδιση της επιταχυνόμενης οξείδωσης. Συγκεκριμένα, η σταθερά ρυθμού επιταχυνόμενης αύξησης των υπεροξειδίων μειώθηκε από 3.78 για τα control chips σε 2.89 meq O₂/kg_{ελαιού}·d για chips που τηγανίστηκαν σε εμπλουτισμένο έλαιο. Η διαφορά αυτή εκφράζεται ως μία ικανοποιητική τιμή Προστασίας (P%) και συγκεκριμένα ίση με 24%. Παρατηρείται λοιπόν πως τα δραστικά συστατικά της *Satureja thymbra* που υπάρχουν στο εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα διαλύονται στο έλαιο και απορροφούνται μαζί με αυτό από το προϊόν, παρέχοντας καλύτερη προστασία στο τελευταίο. Ωστόσο, το ποσοστό παρεμπόδισης της επιταχυνόμενης οξείδωσης δε συμβαδίζει με τις δοκιμές οξείδωσης του καθαρού φοινικέλαιου, στο οποίο υπενθυμίζεται ότι το ίδιο εκχύλισμα της *Satureja thymbra* προστάτευσε το έλαιο κατά 42%. Η χαμηλότερη αποτελεσματικότητα του κλάσματος του αρωματικού φυτού ενάντια στην οξείδωση των chips ενδεχομένως οφείλεται στην καταστροφή μέρους των δραστικών ουσιών του, κατά την παραμονή του στην υψηλή θερμοκρασία

τηγανίσματος. Οι ρυθμοί καθώς και οι συντελεστές συσχέτισης που χαρακτηρίζουν τη γραμμική ανάπτυξη των υπεροξειδίων και των συζυγών διενίων κατά την επιταχυνόμενη οξείδωση των μη επεξεργασμένων chips και των τηγανισμένων σε εμπλουτισμένο έλαιο καταγράφονται στον Πίνακα 6.10.

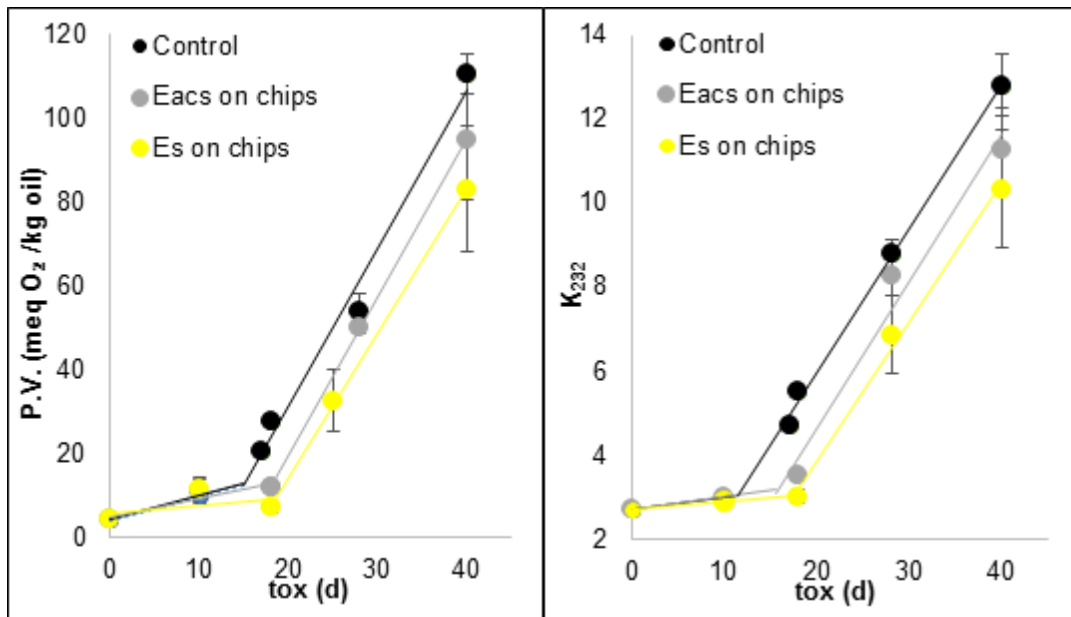
Πίνακας 6.10: Σταθερές ρυθμού και συντελεστές συσχέτισης της επιταχυνόμενης οξείδωσης των μη επεξεργασμένων chips (Control) και chips στα οποία ενσωματώθηκε εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα και αιθανόλης από θρούμπι στην επιφάνειά τους (EAc_S on chips, E_S on chips, αντίστοιχα) και στο υλικό συσκευασίας τους (EAc_S on packaging, E_S on packaging, αντίστοιχα) καθώς και chips που τηγανίστηκαν σε εμπλουτισμένο έλαιο (EAc_S in frying oil), κατά την αποθήκευσή τους στους 70 °C, με βάση τη μέθοδο του αριθμού υπεροξειδίου και των συζυγών διενίων

Μέθοδος αριθμού υπεροξειδίων		
Δείγμα chips πατάτας	k*	R ²
Control	3.78±0.36 ^{c**}	0.9821
EAc _S in frying oil	2.89±0.46 ^{bc}	0.9753
E _S on chips	3.44±0.06 ^c	0.9997
EAc _S on chips	3.78±0.02 ^c	0.9999
EAc _S on packaging	0.84±0.13 ^a	0.9354
E _S on packaging	2.10±0.07 ^b	0.9999
Μέθοδος αριθμού συζυγών διενίων		
Control	0.34±0.01 ^b	0.9973
EAc _S in frying oil	0.31±0.08 ^b	0.9395
E _S on chips	0.33±0.03 ^b	0.9932
EAc _S on chips	0.35±0.07 ^b	0.9663
EAc _S on packaging	0.10±0.02 ^a	0.9150
E _S on packaging	0.24±0.05 ^{ab}	0.9641

* η σταθερά k είναι εκφρασμένη σε meq O₂/kg_{ελαίου}·d για την ανάπτυξη των υπεροξειδίων και σε d⁻¹ για την αύξηση των συζυγών διενίων

**a<b<c

Η ενσωμάτωση των εκχυλισμάτων αιθανόλης και οξικού αιθυλεστέρα του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra* στην επιφάνεια των chips πατάτας με ψεκασμό (E_S on chips και EAc_S on chips, αντίστοιχα) επηρέασε τον αριθμό των υπεροξειδίων και των συζυγών διενίων κατά την αποθήκευσή τους, όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 6.8.

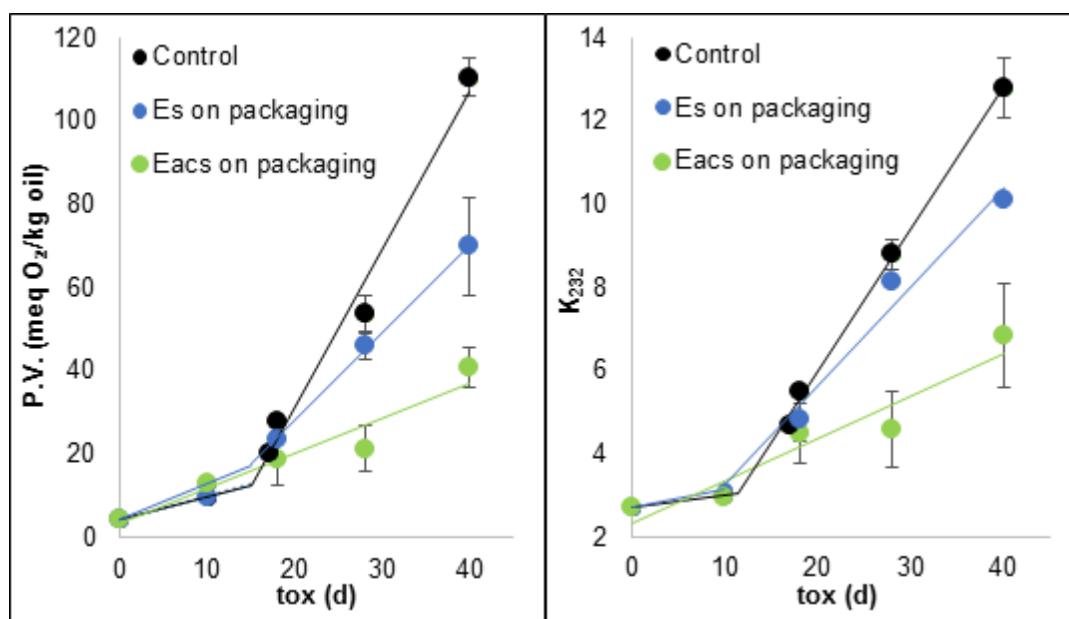


Διάγραμμα 6.8: Αύξηση του αριθμού υπεροξειδίων και συζυγών διενίων σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης στους 70 °C, για chips πατάτας τηγανισμένα στους 180 °C, μη επεξεργασμένα (Control) και ψεκασμένα με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα (EAc_s on chips) και αιθανόλης (E_s on chips) του φυτού *Satureja thymbra*

Οι τιμές του αριθμού υπεροξειδίων και συζυγών διενίων φαίνεται να αναπτύσσονται, και στην περίπτωση των ψεκασμένων με εκχύλισμα chips, αρχικά με έναν αργό και στη συνέχεια με έναν επιταχυνόμενο ρυθμό, ο οποίος αποτελεί γραμμική συνάρτηση του χρόνου οξείδωσης. Η πορεία αύξησης των υπεροξειδίων είναι αντίστοιχη με εκείνη των συζυγών διενίων, ενισχύοντας τα αποτελέσματα που προκύπτουν για την καταγραφή της συμπεριφοράς των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης των ψεκασμένων chips. Οι σταθερές του ρυθμού επιταχυνόμενης οξείδωσής τους και οι συντελεστές συσχέτισης που χαρακτηρίζουν τις γραμμικές εξισώσεις της περιόδου αυτής παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.10. Όπως συμπεραίνεται και από τη διαφορά των κλίσεων των ευθειών, η προσθήκη των εκχυλισμάτων στην επιφάνεια των chips δεν προστάτευσε σε μεγάλο βαθμό το τρόφιμο κατά την περίοδο της επιταχυνόμενης οξείδωσης. Σύμφωνα και με στατιστική μελέτη (one-way Anova και test πολλαπλής κατεύθυνσης Dankan, με επίπεδο σημαντικότητας 0.95) φάνηκε πως οι ρυθμοί οξείδωσης (k) των ψεκασμένων chips δε διέφεραν σημαντικά από το ρυθμό που προσδιορίστηκε για το control. Ωστόσο, τα εκχυλίσματα ήταν ικανά να παρατείνουν το χρόνο επώασης του τροφίμου, και μάλιστα στον ίδιο βαθμό (περίπου 3 ημέρες).

Η προσθήκη των δύο εκχυλισμάτων στο υλικό συσκευασίας των αποθηκευμένων chips πατάτας εμφάνισε μεγάλη αποτελεσματικότητα ως προς την παρεμπόδιση της οξείδωσης. Η μείωση στο ρυθμό ανάπτυξης υπεροξειδίων και συζυγών διενίων δίνεται στο Διάγραμμα 6.9. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε η ισχυρή αντιοξειδωτική δράση της ενεργού συσκευασίας που περιείχε το αιθανολικό εκχύλισμα του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra* (E_s on packaging), εμφανίζοντας προστασία της τάξεως του 44%. Το υλικό συσκευασίας που εμπλουτίστηκε με το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα από θρούμπι (EAc_s on packaging) παρουσίασε ακόμα υψηλότερη

αντιοξειδωτική ικανότητα, παρέχοντας ένα χαμηλό ρυθμό αύξησης πρωτογενών προϊόντων που αναπτυσσόταν γραμμικά με το χρόνο σε όλο το διάστημα της αποθήκευσης των chips. Η τιμή προστασίας από τον ταγγισμό με τη χρήση της ενεργού συσκευασίας με το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα ανήλθε στο ποσοστό 78%. Μέσω στατιστικής ανάλυσης και συγκεκριμένα με one-way Anova και Duncan test, με επίπεδο σημαντικότητας 0.95, επιβεβαιώθηκε η σημαντική διαφορά της πορείας της οξείδωσης των chips που συσκευάστηκαν με εμπλουτισμένο υλικό από τα μη επεξεργασμένα chips. Αποδείχθηκε επίσης η στατιστικά σημαντική διαφορά του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα. Οι σταθερές του ρυθμού αύξησης των υπεροξειδίων και των συζυγών διενίων καταγράφονται στον Πίνακα 6.10, μαζί με τους αντίστοιχους συντελεστές παλινδρόμησης. Η υπεροχή του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα ήταν αναμενόμενη καθώς στη βιβλιογραφία επισημαίνεται πως τα άπολα συστατικά είναι πιο αποτελεσματικά σε τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια (Gómez-Estaca & others, 2014). Μία ακόμα εξήγηση για τη μικρότερη απόδοση του αιθανολικού εκχυλίσματος κατά την προσθήκη του στο υλικό συσκευασίας αποτελεί η μη καλή συμβατότητα του αντιοξειδωτικού κλάσματος με το υλικό συσκευασίας. Συγκεκριμένα, κατά τη θερμοκόλληση της αντιοξειδωτικής συσκευασίας που περιείχε το αιθανολικό εκχύλισμα παρατηρήθηκε δυσκολία στο κλείσιμο της. Για το σκοπό αυτό, κρίθηκε σκόπιμη η απομάκρυνση του κλάσματος περιμετρικά του υλικού, ώστε να εξασφαλιστεί η στεγανότητα της συσκευασίας.



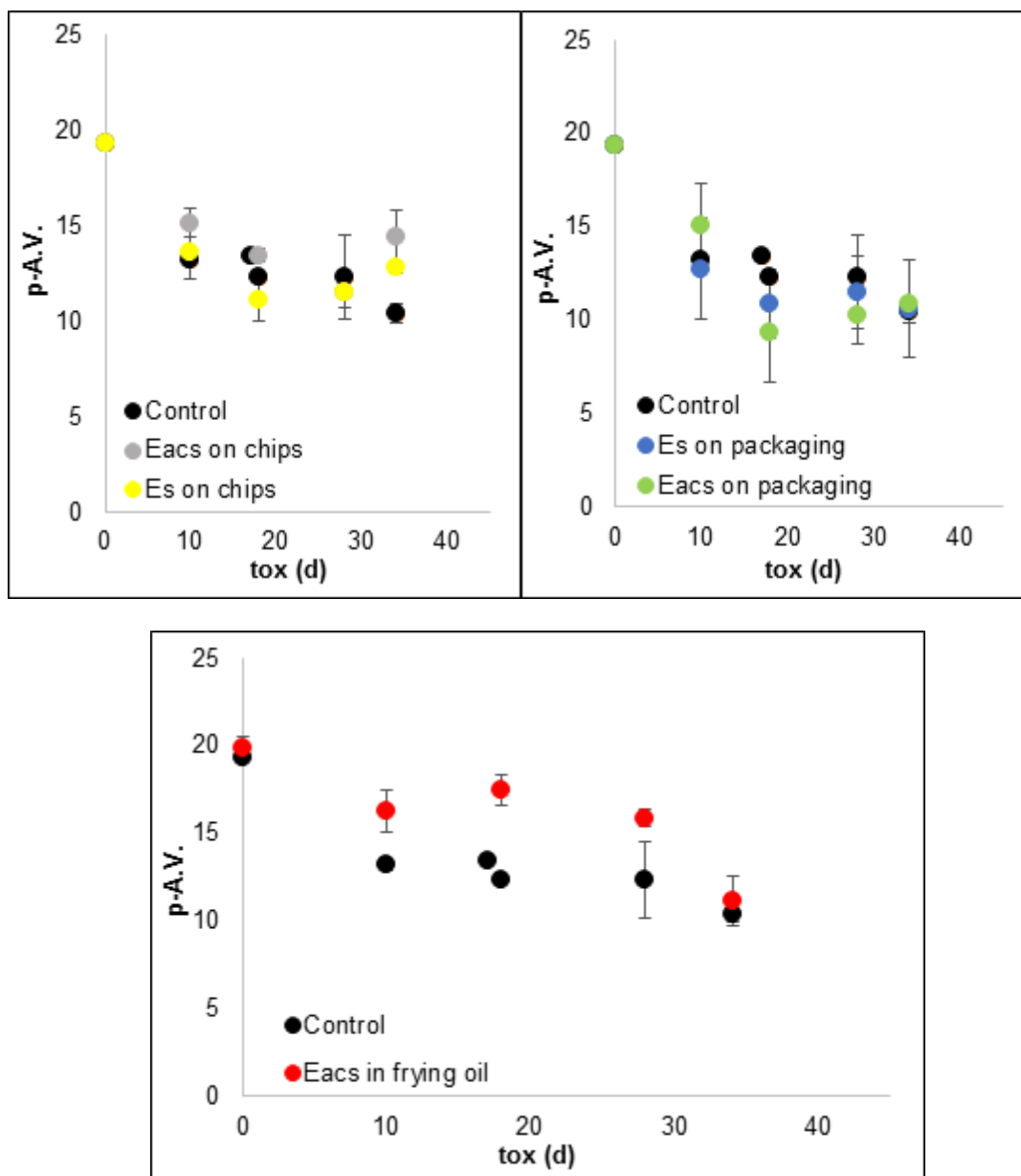
Διάγραμμα 6.9: Επίδραση της ενεργού συσκευασίας που περιέχει αιθανολικό (E_s on packaging) ή οξικού αιθυλεστέρα εκχύλισμα (EAc_s on packaging) του φυτού *Satureja thymbra* στον αριθμό υπεροξειδίων και συζυγών διενίων chips πατάτας που παρασκευάστηκαν στους 180 °C και αποθηκεύτηκαν στους 70 °C

Παρατηρείται λοιπόν πως κατά την ενσωμάτωση των εκχυλισμάτων στο υλικό συσκευασίας, παρόλο που τα αντιοξειδωτικά δεν έρχονται σε ευθεία επαφή με το τρόφιμο κατάφεραν να το προστατεύσουν σε μεγάλο βαθμό από την ανάπτυξη των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης. Το γεγονός ότι τα αντιοξειδωτικά δεν

καταπονήθηκαν κατά την επικάλυψη του υλικού, όπως για παράδειγμα στη διαδικασία τηγανίσματος με το εμπλουτισμένο έλαιο, είναι ένας παράγοντας που συντελεί στα πολύ θετικά αποτελέσματα της διεργασίας της ενεργού συσκευασίας. Από την άλλη μεριά, κατά την προσθήκη των εκχυλισμάτων στην επιφάνεια των chips, χωρίς και πάλι να έχει προηγηθεί κάποια έντονη θερμική επεξεργασία, παρουσιάστηκε πιο περιορισμένη δράση. Είναι πιθανό κατά τη διεργασία της επικάλυψης της επιφάνειας των chips οι δραστικές ουσίες των εκχυλισμάτων να εισχώρησαν περισσότερο στη δομή του τροφίμου και να μην ήταν ικανές να παρεμποδίσουν την οξείδωση στα επιφανειακά στρώματά του. Αντίθετα, η χρήση των εκχυλισμάτων στο υλικό συσκευασίας είχε ως αποτέλεσμα την καλύτερη εφαρμογή τους στα επιφανειακά στρώματα των chips, προσφέροντας πιο ικανοποιητικά αποτελέσματα ως προς τη μείωση της επαφής και αντίδρασης του οξυγόνου με τα chips. Σημαντικό ρόλο ωστόσο διαδραματίζει και το διαφορετικό επίπεδο προσθήκης των κλασμάτων του φυτού στην κάθε διεργασία.

Στο Διάγραμμα 6.10 παρουσιάζεται η ανάπτυξη των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης, όπως προσδιορίστηκαν μέσω της μεθόδου της π-ανισιδίνης, για όλα τα επεξεργασμένα chips συγκριτικά με τα μη επεξεργασμένα, κατά την αποθήκευσή τους. Σε όλες τις περιπτώσεις διαπιστώθηκε αρχικά μία μείωση των δευτερογενών προϊόντων και μετά το πέρας των πρώτων 10 ημερών οξείδωσης παρατηρήθηκε σταθεροποίηση του δείκτη της π-ανισιδίνης. Για τις διεργασίες κατά τις οποίες προστέθηκαν εκχυλίσματα στην επιφάνεια και στο υλικό συσκευασίας των chips φαίνεται ότι η περιεκτικότητα σε δευτερογενή προϊόντα είναι αντίστοιχη με εκείνη των control δειγμάτων. Μάλιστα, ο αριθμός της π-ανισιδίνης των εμπλουτισμένων αυτών σειρών και της μη εμπλουτισμένης, ξεκινώντας από την τιμή 19.3 σταθεροποιείται, μετά τη 10^η ημέρα αποθήκευσής τους, σε ένα εύρος τιμών 9.3-15.1. Συμπεραίνεται, λοιπόν, πως η δοκιμή της π-ανισιδίνης δεν είναι αξιόπιστη για την παρακολούθηση της συσσώρευσης των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης στα chips και χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση. Έχει αναφερθεί πως παρόλο που οι αλδεΐδες είναι δευτερογενή πτητικά προϊόντα οξείδωσης του ελαίου, ένα μέρος αυτών παραμένει στο μέσο τηγανίσματος (Houhoula & others, 2003). Επίσης, ο αριθμός δευτερογενών προϊόντων του φοινικέλαιου έχει παρατηρηθεί πως αυξάνεται σημαντικά κατά το τηγάνισμα, και κυρίως εμφανίζει μεγάλη άνοδο κατά τις πρώτες τηγανιές. Οι Che Man & others (1999) χρησιμοποιώντας παλμολεΐνη για τηγάνισμα πατατών στους 180 °C, παρατήρησαν αύξηση της π-ανισιδίνης από την αρχική τιμή 0.68 σε 12.04 έπειτα από 10 τηγανιές και σε 17.06 μετά το πέρας 20 τηγανιών. Η αύξηση λοιπόν της π-ανισιδίνης του καθαρού ελαίου που σημειώθηκε στην παρούσα μελέτη από 8.0±1.5 σε 19.8±0.3, για 17 τηγανιές, φαίνεται να είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των Che Man & others (1999). Διαπιστώνεται λοιπόν πως αναπτύσσοντας υψηλές τιμές π-ανισιδίνης στο έλαιο τηγανίσματος, είναι λογική η συσσώρευση μεγάλου αριθμού δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης και στα chips. Η καθοδική πορεία της τιμής της π-ανισιδίνης στις αρχικές δειγματοληψίες των chips οφείλεται στη διάσπαση των δευτερογενών προϊόντων που παρήχθησαν στο έλαιο εντός της φριτέζας, κατά τη διαδικασία του τηγανίσματος και διαχύθηκαν στα chips.

Οι Che Man & others (1999) βέβαια αναφέρουν πως η μέθοδος της π-ανισιδίνης πιθανόν να μην είναι μία αξιόπιστη μέτρηση της ποιότητας του μέσου τηγανίσματος υπό αυτές τις συνθήκες, καθώς οι αλλαγές των τιμών της δεν φαίνεται να είναι ανάλογες της υποβάθμισης της ποιότητας του ελαίου

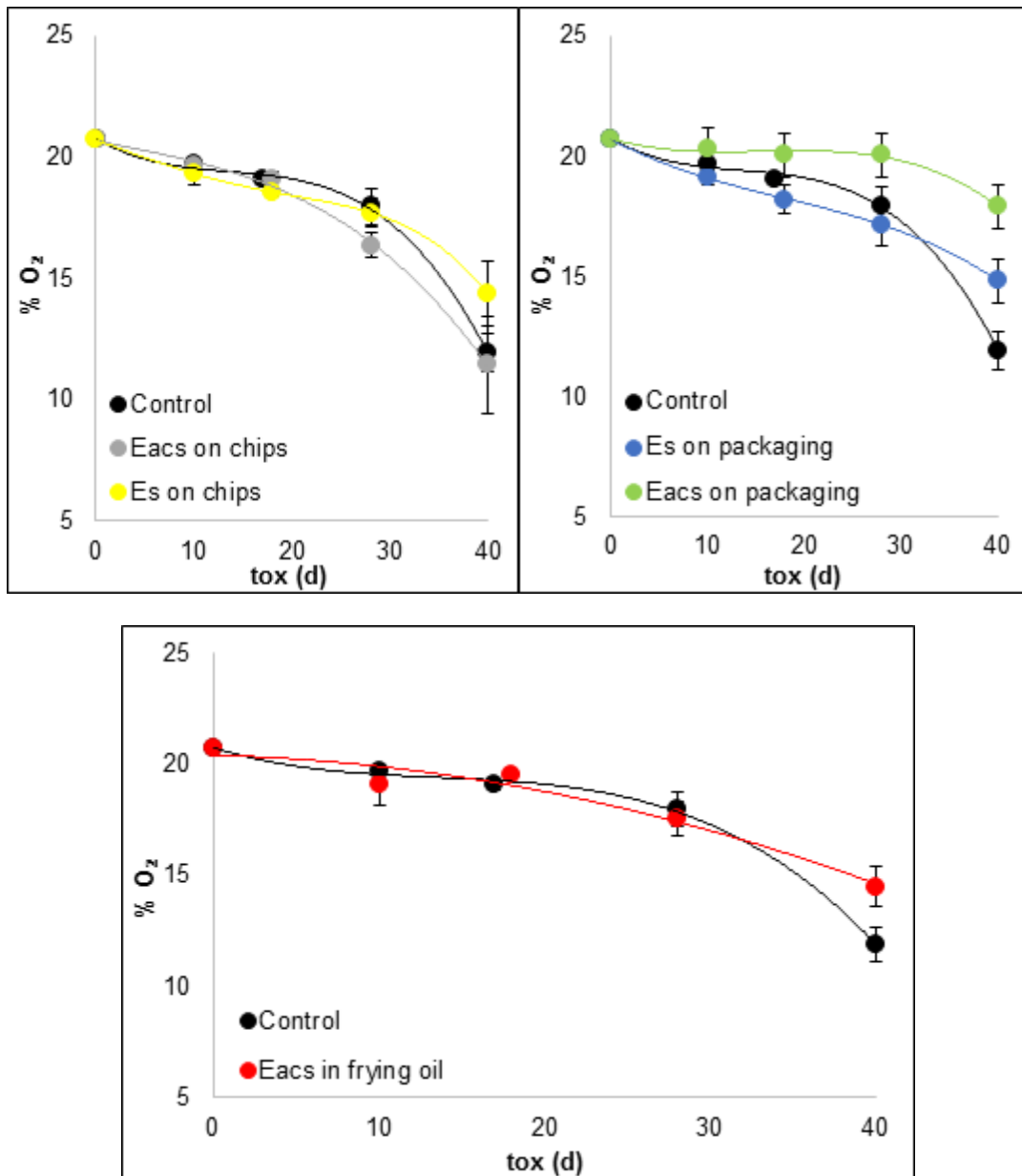


Διάγραμμα 6.10: Ανάπτυξη δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης σε chips πατάτας στα οποία ενσωματώθηκε εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα και αιθανόλης από θρούμπι στην επιφάνεια τους (EAc_s on chips, E_s on chips, αντίστοιχα) και στο υλικό συσκευασίας τους (EAc_s on packaging, E_s on packaging, αντίστοιχα) και σε chips που τηγανίστηκαν σε εμπλουτισμένο έλαιο (EAc_s in frying oil) συγκριτικά με μη επεξεργασμένα chips (Control), κατά την αποθήκευσή τους στους 70 °C

Παρόμοια ανάπτυξη δευτερογενών προϊόντων εμφανίζουν τα chips, τα οποία τηγανίστηκαν σε εμπλουτισμένο φοινικέλαιο με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα του φυτού. Ωστόσο, όπως φαίνεται και στο Διάγραμμα 6.10, οι τιμές της π-ανισιδίνης τους είναι ελαφρώς αυξημένες σε σχέση με του control και των υπολοίπων

δειγμάτων, με αρχική τιμή 19.9 και έπειτα μείωσή τους μεταξύ των τιμών 17.4 και 11.1. Το αποτέλεσμα αυτό οφείλεται στην καταπόνηση του ελαίου κατά το τηγάνισμα των chips, που προηγήθηκε της διαδικασίας τηγανίσματος με το εμπλουτισμένο φοινικέλαιο. Υπενθυμίζεται από την πειραματική διαδικασία ότι για την παρασκευή της σειράς δειγμάτων που τηγανίστηκαν σε έλαιο που περιείχε αντιοξειδωτικό πραγματοποιήθηκε ανάμειξη του εμπλουτισμένου ελαίου με τη μισή ποσότητα του καθαρού φοινικέλαιου, που είχε ήδη χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή των υπολοίπων σειρών δειγμάτων. Έτσι, το μέσο τηγανίσματος της σειράς αυτής εμφάνισε υψηλότερες τιμές π-ανισιδίνης, με αρχική 17.9 ± 0.1 και τελική 22.7 ± 0.1 , γεγονός που εξηγεί και τις μεγαλύτερες τιμές δευτερογενών προϊόντων στα chips που τηγανίστηκαν σε αυτό το έλαιο.

Στο Διάγραμμα 6.11 παρατίθενται τα αποτελέσματα των μετρήσεων του ποσοστού του οξυγόνου εντός των συσκευασιών όλων των δειγμάτων chips πατάτας. Είναι φανερό πως παρατηρείται μείωση της περιεκτικότητας του O_2 στον υπερκείμενο χώρο της συσκευασίας όλων των σειρών δειγμάτων, αποτέλεσμα που είναι λογικό, αφού τα λιπαρά σώματα κατά την οξείδωσή τους καταναλώνουν οξυγόνο. Μάλιστα σε διάφορες μελέτες αναφέρεται πως όσο μεγαλύτερος είναι ο ρυθμός μείωσης του οξυγόνου εντός της συσκευασίας, τόσο εντονότερη είναι η υποβάθμιση των τροφίμων (Serrano & others, 2005). Αυτό αποδεικνύεται και στην παρούσα εργασία, καθώς η προσθήκη του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα από το θρούμπι στο υλικό συσκευασίας των chips φαίνεται να δίνει τη μικρότερη μείωση της περιεκτικότητας του οξυγόνου, γεγονός που βρίσκεται σε πλήρη συμφωνία με το βραδύτερο ρυθμό οξείδωσής του, σε σχέση με τις υπόλοιπες σειρές δειγμάτων. Η % μείωση του οξυγόνου στις υπόλοιπες περιπτώσεις επεξεργασίας των chips δε φαίνεται να παρουσιάζει μεγάλη διαφορά από εκείνη των control δειγμάτων.



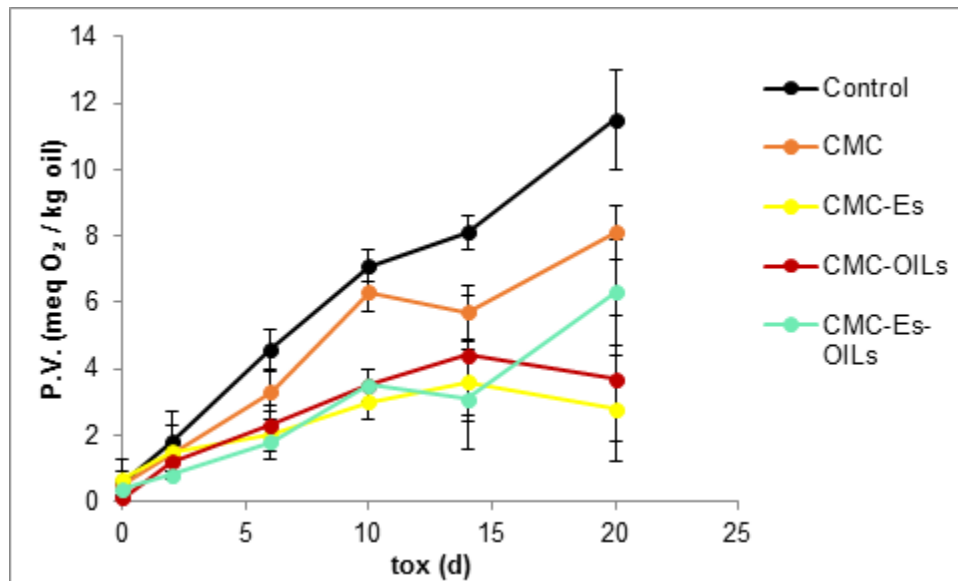
Διάγραμμα 6.11: Μείωση της % σύστασης σε O₂ του υπερκείμενου χώρου των συσκευασιών των chips, στα οποία ενσωματώθηκε εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα και αιθανόλης από θρούμπι στην επιφάνειά τους (EAc_S on chips, E_S on chips, αντίστοιχα) και στο υλικό συσκευασίας τους (EAc_S on packaging, E_S on packaging, αντίστοιχα) και των chips που τηγανίστηκαν σε εμπλουτισμένο έλαιο (EAc_S in frying oil) συγκριτικά με τον μη επεξεργασμένων chips (Control), κατά την αποθήκευσή τους στους 70 °C

6.4. Αντιοξειδωτική δράση κλασμάτων του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra* κατά την ενσωμάτωσή τους σε εδώδιμες μεμβράνες για την επικάλυψη ιχθύων

Στο παρόν κεφάλαιο, θα παρουσιαστούν και θα σχολιαστούν τα αποτελέσματα της χρήσης εδώδιμων μεμβρανών, εμπλουτισμένων ή όχι με αντιοξειδωτικά, έναντι της οξείδωσης ωμών ιχθύων. Αρχικά, αναφέρεται η ανάπτυξη του αριθμού υπεροξειδίων των μη επεξεργασμένων ιχθύων, ιχθύων που επικαλύφθηκαν με εδώδιμη μεμβράνη CMC αλλά και με εμπλουτισμένες μεμβράνες CMC με φυσικά αντιοξειδωτικά, κατά την αποθήκευσή τους στους 0 °C για 20 ημέρες. Εκτός από το αιθανολικό και οξικό αθυλεστέρα εκχύλισμα της *Satureja thymbra*, εξετάστηκε και το αιθέριο έλαιο του φυτού (OIL_S), καθώς και συνδυασμοί αυτών, για μία ευρύτερη εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των κλασμάτων της *Satureja thymbra*. Η πορεία ανάπτυξης των υπεροξειδίων των ιχθύων, όπως παρουσιάζεται στα Διαγράμματα 6.12-6.13 είναι αντίστοιχη με εκείνη που περιγράφεται στη βιβλιογραφία (Jouki & others, 2014, Ojagh & others, 2010, Gómez-Estaca & others, 2007).

Από το Διάγραμμα 6.12 συμπεραίνεται πως ακόμη και η απλή μεμβράνη CMC, χωρίς κάποιο αντιοξειδωτικό, προσφέρει μικρότερους αριθμούς υπεροξειδίων, σε σύγκριση με τη μη χρήση επικαλυπτικού (Control). Στη βιβλιογραφία έχουν εμφανιστεί αντίστοιχα αποτελέσματα κατά τη χρήση εδώδιμων μεμβρανών. Στη μελέτη των Ponce & others (2008), κολοκύθια που επικαλύφθηκαν με μεμβράνη CMC εμφάνισαν χαμηλότερες τιμές οξείδωσης από τα μη επικαλυπτόμενα προϊόντα. Οι Le Tien & others (2001) αναφέρουν πως η CMC είναι ικανή να παγιδεύει αποτελεσματικά ρίζες υπεροξειδίου και συγκεκριμένα να καθυστερεί τη συσσώρευση υδροϋπεροξειδίων που προέρχονται από το μεθύλιο του λινελαϊκού, ενώ διατυπώνουν επίσης την παρατήρηση πως κατά την προσθήκη της σε μεμβράνες καζεϊνικών αλάτων ασβεστίου και πρωτεϊνικών από ορό γάλακτος αύξησε την αντιοξειδωτική τους δράση κατά 43% και 20%, αντίστοιχα.

Ωστόσο, η ενσωμάτωση του αιθανολικού εκχυλίσματος και του αιθέριου ελαίου του αρωματικού φυτού, καθώς και η συνδυαστική προσθήκη των δύο κλασμάτων του στην εδώδιμη μεμβράνη CMC παρείχε πολύ πιο εντυπωσιακά αποτελέσματα έναντι της οξείδωσης των ιχθύων, όπως παρατηρείται στο Διάγραμμα 6.12.

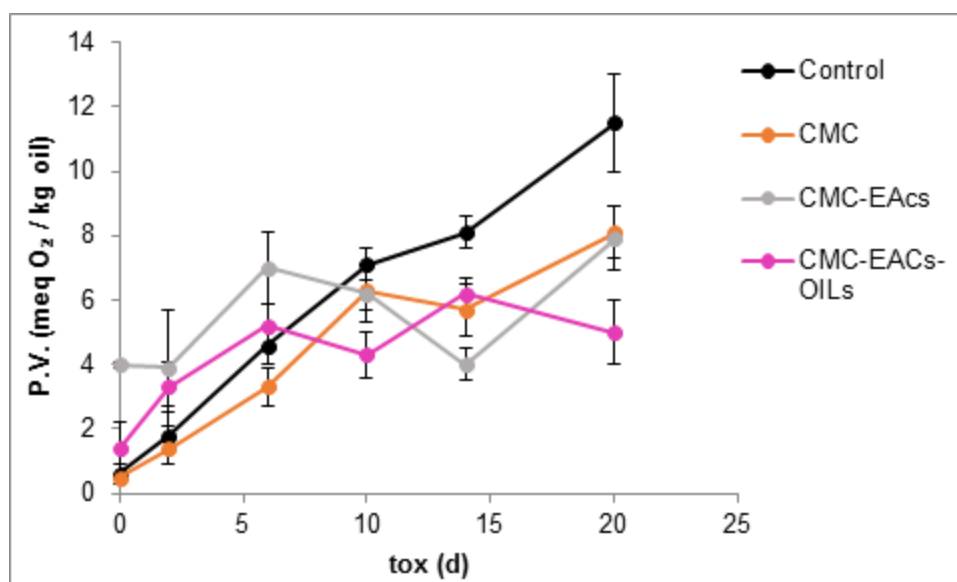


Διάγραμμα 6.12: Ανάπτυξη του αριθμού υπεροξειδίων των επικαλυπτόμενων ιχθύων με απλές μεμβράνες CMC και CMC που έχουν εμπλουτιστεί με αιθανολικό εκχύλισμα (CMC – E_S), αιθέριο έλαιο (CMC – OIL_S) και συνδυασμό των κλασμάτων (CMC – E_S – OIL_S) του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra*, καθώς και των μη επικαλυπτόμενων ιχθύων (Control), κατά την αποθήκευσή τους στους 0 °C

Φαίνεται πως οι ιχθύες που επικαλύφθηκαν με τις τρεις αυτές εμπλουτισμένες μεμβράνες είχαν χαμηλότερες τιμές υπεροξειδίων σε σχέση με τα control δείγματα, σε όλο το χρονικό διάστημα της οξείδωσης. Το εκχύλισμα αιθανόλης παρουσίασε ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, καθώς τα υψηλής πολικότητας συστατικά του έχουν πολύ καλή αλληλεπίδραση με ένα υδατικό περιβάλλον, όπως είναι οι ιχθύες. Το υψηλό περιεχόμενό του σε ολικές φαινόλες (289.28±6.16 mg/g ξηρού εκχυλίσματος) είναι ένας επιπλέον παράγοντας που συντελεί στην καλή δράση του. Μάλιστα, κατά την 10^η ημέρα αποθήκευσης, εφαρμόζοντας το δείκτη Προστασίας, με βάση αυτή τη φορά τον αριθμό υπεροξειδίων, αποδείχθηκε η παρεμπόδιση της οξείδωσης των ιχθύων κατά 58%. Σημειώνεται ότι η καθαρή μεμβράνη CMC προστάτευσε το τρόφιμο μόνο κατά 11%, την ίδια ημέρα. Το αιθέριο έλαιο του φυτού έχει συχνά μελετηθεί ως προς την ισχυρή αντιοξειδωτική του δράση (Lagouri & others, 1992, Öztürk, 2012, Giweli, 2012). Κατά την ανάλυσή του, παρατηρήθηκε αντίστοιχο πλούσιο περιεχόμενο σε ολικές φαινόλες με εκείνο του αιθανολικού εκχυλίσματος και συγκεκριμένα βρέθηκε ίσο με 250.28±3.34 mg/g ξηρού εκχυλίσματος. Συνεπώς, παρά το γεγονός ότι περιέχει κυρίως άπολες ενώσεις, έδρασε σε εξίσου σημαντικό βαθμό με το αιθανολικό εκχύλισμα, όπως φαίνεται και από τον προσδιορισμό του αριθμού υπεροξειδίων. Αυτό πιθανώς οφείλεται και στη διαφορετική ενσωμάτωση των δύο κλασμάτων στην εδώδιμη μεμβράνη, καθώς το επίπεδο προσθήκης για το αιθέριο έλαιο ήταν 2% v/v, ενώ για τα εκχυλίσματα 500 ppm. Η αντίστοιχη προστασία που προσέφερε το αιθέριο έλαιο έναντι της οξείδωσης στη δειγματοληψία της 10^{ης} ημέρας ήταν 51%. Ο συνδυασμός του αιθανολικού εκχυλίσματος με το αιθέριο έλαιο του φυτού συνετέλεσε επίσης στην οξειδωτική σταθερότητα των ιχθύων. Βέβαια, δεν παρατηρείται μεγάλη διαφορά στη μείωση της συσσώρευσης υπεροξειδίων από εκείνη κατά τη χρήση των κλασμάτων μεμονωμένα. Για

παράδειγμα, αναφέρεται ότι προστάτευσαν τους ιχθύες από την οξείδωση σε βαθμό 51% για την 10^η ημέρα αποθήκευσης. Διαπιστώνεται λοιπόν και πάλι η πρόταση πως πιθανώς κάποιες άπολες ουσίες, π.χ. καρβακρόλη, να έρχονται σε ανταγωνιστική δράση με άλλες φαινόλες. Παρατηρείται ότι το αιθέριο έλαιο έχει σύσταση σε καρβακρόλη που ανέρχεται στην τιμή 30.79±0.47%. Η τόσο υψηλή σύσταση στη φαινόλη πιθανώς δε βοηθάει σε μία συνεργιστική δράση με τις δραστικές ουσίες που ανιχνεύθηκαν στο αιθανολικό εκχύλισμα, ώστε να βελτιωθεί η αντιοξειδωτική ικανότητα του επικαλυπτικού.

Η πορεία συσσώρευσης υπεροξειδίων των επικαλύφθηκαν με εδωδιμη μεμβράνη εμπλουτισμένη με το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα (CMC – EAc₅), και με μεμβράνη που περιείχε το ίδιο εκχύλισμα σε συνδυασμό με το αιθέριο έλαιο του φυτού (CMC – EAc₅ – OIL₅) παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 6.13.



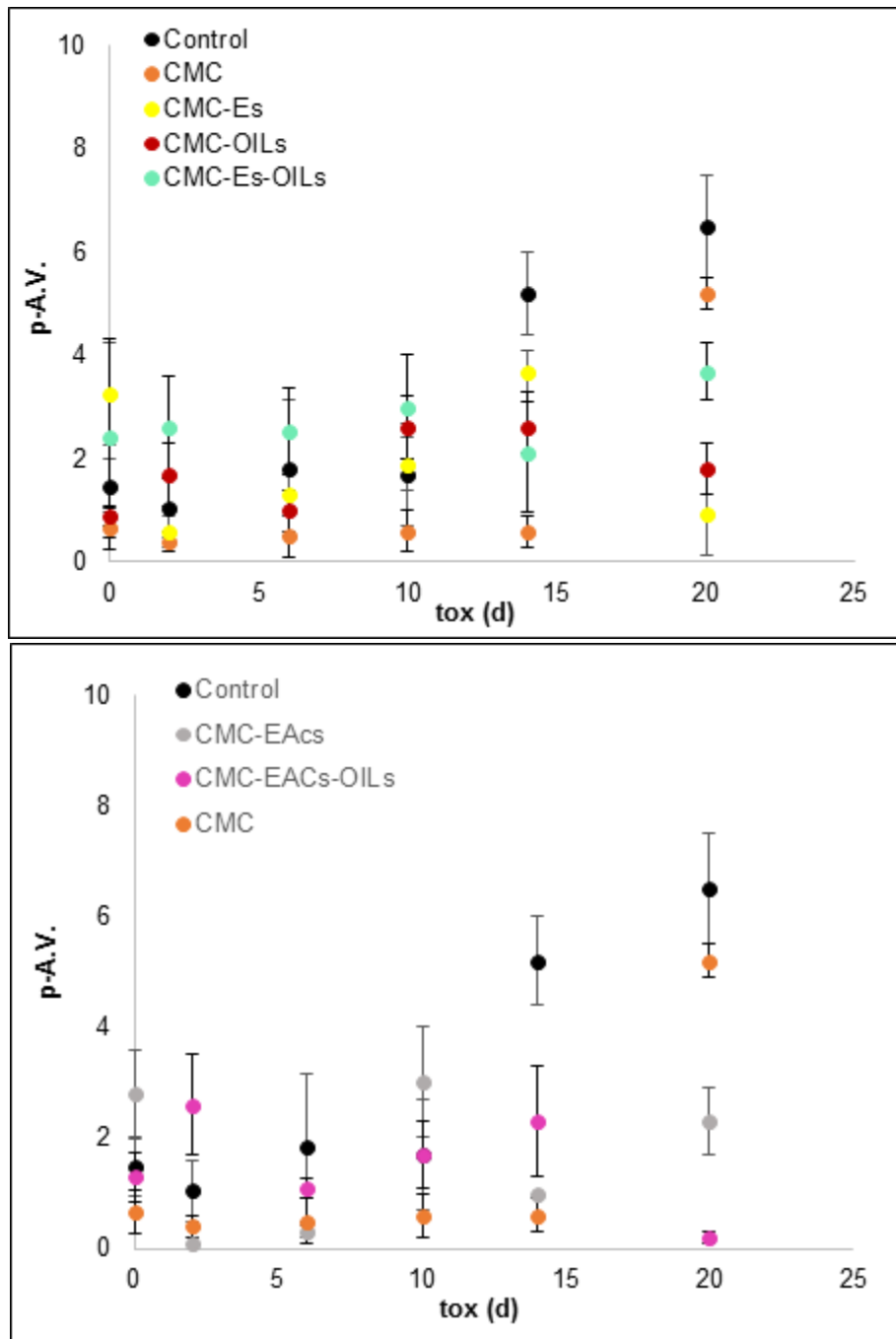
*Διάγραμμα 6.13: Ανάπτυξη του αριθμού υπεροξειδίων των επικαλυπτόμενων ιχθύων με απλή μεμβράνη CMC, με μεμβράνες που έχουν εμπλουτιστεί με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα (CMC – EAc₅), αιθέριο έλαιο (CMC – OIL₅) και συνδυασμό των κλασμάτων (CMC – EAc₅ – OIL₅) του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra*, καθώς και των μη επικαλυπτόμενων ιχθύων (Control), κατά την αποθήκευσή τους στους 0 °C*

Η ενσωμάτωση του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα της *Satureja thymbra* στα ίδια επίπεδα με εκείνη του αιθανολικού δε φαίνεται να προσέφερε τόσο ικανοποιητικά αποτελέσματα. Κατά τις αρχικές δειγματοληψίες παρατηρήθηκαν αυξημένες τιμές υπεροξειδίων στα δείγματα ιχθύων που επικαλύφθηκαν με μεμβράνη CMC εμπλουτισμένη με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα, ενώ από τη 10^η ημέρα φαίνεται να διαφοροποιείται από το control, δείχνοντας μία καλύτερη δράση. Η χαμηλότερη αποτελεσματικότητά του ήταν αναμενόμενη, λόγω του φτωχού περιεχομένου του σε πολικές ενώσεις, αλλά και της μικρότερης σύστασής του σε ολικές φαινόλες (154.02±11.86 mg/g ξηρού εκχυλίσματος) σε σύγκριση με τα άλλα δύο κλάσματα του φυτού. Έτσι, ενώ το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα ήταν πολύ αποτελεσματικό στα πειράματα οξείδωσης των λιπαρών συστημάτων (φοινικέλαιο, chips πατάτας)

διαπιστώνεται πως δε συνετέλεσε στην ικανοποιητική παρεμπόδιση της οξειδωσης των ιχθύων, που αποτελούν ένα πιο σύνθετο τρόφιμο. Η προσθήκη του αιθέριου ελαίου στο εκχύλισμα από οξικό αιθυλεστέρα δε φαίνεται και πάλι να βελτίωσε την ικανότητα προστασίας της μεμβράνης, αφού η ανάπτυξη του αριθμού υπεροξειδίων των ιχθύων που επικαλύφθηκαν με τη συνδυαστική μεμβράνη είναι παρόμοια με εκείνων που εμπλουτίστηκαν μόνο με το εκχύλισμα.

Με βάση τη στατιστική επεξεργασία, επιβεβαιώθηκαν τα προαναφερθέντα αποτελέσματα. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση με two-way Anova ως προς το χρόνο και τη διεργασία και παρατηρήθηκε η στατιστικά σημαντική επίδραση και των δύο παραμέτρων. Έπειτα, πραγματοποιήθηκε test πολλαπλής κατεύθυνσης Dankan στην παράμετρο της διεργασίας, με επίπεδο σημαντικότητας 0.95. Διαπιστώθηκε λοιπόν πως οι ιχθύες που επικαλύφθηκαν με μεμβράνες CMC εμπλουτισμένες με το αιθέριο έλαιο, το αιθανολικό εκχύλισμα και το συνδυασμό των δύο κλασμάτων είχαν την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση και διέφεραν σημαντικά από τις υπόλοιπες, χωρίς όμως στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Αποτελεσματική, με μικρότερη βέβαια δράση, φάνηκε και η απλή μεμβράνη CMC, ενώ η χρήση του οξικού αιθυλεστέρα και του συνδυασμού του με το αιθέριο έλαιο δεν ήταν ικανή να αυξήσει την αντιοξειδωτική ικανότητα του επικαλυπτικού.

Η τιμή της π-ανισιδίνης όπως καταγράφηκε για την κάθε σειρά ιχθύων που επικαλύφθηκε με εμπλουτισμένη μεμβράνη κατά το χρονικό διάστημα των 20 ημερών της αποθήκευσής τους φαίνεται στο Διάγραμμα 6.14, σε σχέση με τη σειρά των μη επεξεργασμένων ιχθύων, αλλά και εκείνων που επικαλύφθηκαν με απλή μεμβράνη CMC. Μέχρι τη 10^η ημέρα αποθήκευσης, λόγω της χαμηλής θερμοκρασίας, δεν παρατηρείται αύξηση των δευτερογενών προϊόντων οξειδωσης των μη επικαλυπτόμενων ιχθύων, καθώς κυμαίνονται μεταξύ των τιμών 1-1.8. Όμοια και οι ιχθύες που επικαλύφθηκαν τόσο με καθαρή μεμβράνη CMC όσο και με εμπλουτισμένες μεμβράνες δεν εμφανίζουν σημαντικές διαφορές στον αριθμό της π-ανισιδίνης. Μετά τη 10^η ημέρα, στις περισσότερες περιπτώσεις παρατηρούνται χαμηλότερες τιμές στα επικαλυπτόμενα δείγματα σε σύγκριση με τα μη, χωρίς ωστόσο να υπάρχει ιδιαίτερη διαφοροποίηση μεταξύ τους. Όπως παρατηρήθηκε και στα αποτελέσματα της οξειδωσης των chips, η μέθοδος της π-ανισιδίνης αρκετές φορές δεν αποτελεί ικανοποιητική προσέγγιση της πορείας της οξειδωσης και ειδικά σε ένα τρόφιμο, όπως οι ιχθύες. Η πρόταση αυτή ενισχύεται και από το γεγονός ότι στη βιβλιογραφία δεν προτιμάται η χρήση της μεθόδου για την ερμηνεία της οξειδωσης, όχι μόνο ιχθύων, αλλά και προϊόντων κρέατος, snacks, λαχανικών και φρούτων.



Διάγραμμα 6.14: Ανάπτυξη π-ανισιδίνης όλων των επεξεργασμένων ιχθύων με εδώδιμες μεμβράνες (απλή μεμβράνη: CMC, εμπλουτισμένες με αιθανολικό εκχύλισμα: CMC – E_S, οξικού αιθυλεστέρα: CMC – EAc_S, αιθέριο έλαιο: CMC – OIL_S, συνδυασμό αιθανολικού εκχυλίσματος και αιθέριου ελαίου: CMC – E_S – OIL_S, συνδυασμό εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα με αιθέριο έλαιο: CMC – EAc_S – OIL_S) και των μη επικαλυπτόμενων (Control) σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσής τους, στους 0 °C

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Τα αρωματικά φυτά συνιστούν πηγές φυσικών αντιοξειδωτικών και είναι ικανά να παρατείνουν τη διάρκεια ζωής των λιπαρών τροφίμων, παρεμποδίζοντας την οξείδωσή τους. Από την παρούσα μελέτη προέκυψε η πιθανή χρήση φυτών που ανήκουν στην οικογένεια *Lamiaceae* ως αντιοξειδωτικά διαφόρων ειδών προϊόντων.

Εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα από θρούμπι, θυμάρι και δύο χημειότυπους της ρίγανης, ένας πλούσιος σε καρβακρόλη και ένας που περιείχε θυμόλη και καρβακρόλη, αποδείχθηκαν ικανά στην προστασία φοινικέλαιου. Μάλιστα τα κλάσματα από θρούμπι και από ρίγανη του μικτού χημειότυπου φάνηκαν πιο δραστικά έναντι της οξείδωσης, καθυστερώντας την υποβάθμιση του ελαίου κατά την περίοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης κατά περίπου 42%, ενώ το αντιοξειδωτικό από θυμάρι έδειξε τη μικρότερη αποτελεσματικότητα (30%). Όλα τα εκχυλίσματα επίσης επιμήκυναν το χρόνο επώασης. Παρατηρήθηκε ότι η σειρά δραστικότητάς τους δεν ήταν ανάλογη του ολικού φαινολικού περιεχομένου τους, αλλά εξαρτήθηκε από τη σύστασή τους στις επιμέρους κατηγορίες φαινολικών συστατικών. Αυξανόμενη της περιεκτικότητας σε φαινολικά οξέα (ροσμαρινικό οξύ, σαλβιανολικό οξύ Α) και λοιπά φλαβονοειδή βελτιωνόταν η αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων, ενώ υψηλές τιμές μονοφαινολών, και κυρίως καρβακρόλης, είχαν αντίθετα αποτελέσματα. Κρίνεται σκόπιμο να διερευνηθεί η αλληλεπίδραση των φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων, για παράδειγμα να εξεταστεί το ενδεχόμενο ανταγωνισμού μεταξύ καρβακρόλης και ροσμαρινικού οξέος. Από την άλλη μεριά, η ενσωμάτωση εκχυλισμάτων των αρωματικών φυτών με οξικό αιθυλεστέρα σε αραβοσιτέλαιο δεν είχε εντυπωσιακά αποτελέσματα, αποδεικνύοντας πως το είδος της λιπαρής ύλης διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ικανότητα δράσης των αντιοξειδωτικών. Το συγκεκριμένο φυτικό έλαιο είναι πλούσιο σε φυσικά αντιοξειδωτικά, όπως τοκοφερόλες, έχοντας ως συνέπεια τη μη ανάδειξη της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων. Επιπλέον, μελέτες αναφέρουν την ανταγωνιστική δράση μεταξύ της α-τοκοφερόλης και του ροσμαρινικού οξέος. Η προσθήκη αιθανολικών εκχυλισμάτων στο αραβοσιτέλαιο έδειξε ακόμα χειρότερη συμπεριφορά, καθώς επιβεβαιώθηκε η δυσκολία της διάλυσης των πολικών συστατικών τους σε υψηλής λιπαρότητας προϊόντα, που αναφέρεται και στη βιβλιογραφία.

Όσον αφορά στον ταγγισμό των συσκευασμένων chips πατάτας, τα εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα και αιθανόλης από θρούμπι κατάφεραν να προστατεύσουν τα chips με διάφορες μεθόδους ενσωμάτωσής τους σε αυτά. Προσθήκη εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα του φυτού στο έλαιο τηγανίσματος των chips είχε ως αποτέλεσμα την επιμήκυνση του χρόνου επώασης της οξείδωσης των chips τους κατά περίπου 3 ημέρες αλλά και μείωση του ρυθμού αύξησης των πρωτογενών προϊόντων κατά την περίοδο της επιταχυνόμενης οξείδωσης σε βαθμό 24%. Η τεχνολογία της ενεργού συσκευασίας αποδείχθηκε πολύ ελπιδοφόρα στην προστασία των chips από την οξείδωση. Εμπλουτισμένο υλικό συσκευασίας με αιθανολικό εκχύλισμα από θρούμπι παρείχε προστασία 44%, ενώ αντίστοιχο υλικό με εκχύλισμα οξικού

αιθυλεστέρα φάνηκε πιο αποδοτικό, αφού το επίπεδο προστασίας του ανήλθε στο 78%. Η υψηλότερη δράση του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα αποδεικνύει την καταλληλότητα των άπολων συστατικών σε τρόφιμα με υψηλό περιεχόμενο σε λιπαρά. Ωστόσο, η ενσωμάτωση των ίδιων κλασμάτων στην επιφάνεια των chips με ψεκασμό εμφάνισε περιορισμένη δράση. Δεν συνετέλεσε στον περιορισμό της συσσώρευσης των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης, παρά μόνο επηρέασε το χρονικό διάστημα χαμηλής αύξησής τους, παρατείνοντάς το κατά περίπου 3 ημέρες. Προτείνεται μία περαιτέρω διερεύνηση ώστε να εξηγηθεί πιο διεξοδικά η αλληλεπίδραση των αντιοξειδωτικών κλασμάτων με τη μικροδομή των chips, καθώς φαίνεται πως η αποδοτικότητά τους εξαρτάται από τη διεργασία που ακολουθήθηκε. Πιθανολογείται πως οι δραστικές ουσίες των εκχυλισμάτων κατά τη χρήση της ενεργού συσκευασίας δρουν με τα επιφανειακά στρώματα ελαίου των chips παρεμποδίζοντας σε μεγάλο βαθμό την οξείδωση, ενώ η εισχώρηση των δραστικών ουσιών κυρίως στις εσωτερικές στιβάδες του τροφίμου, με τις διεργασίες επικάλυψης των chips και τηγανίσματος σε εμπλουτισμένο έλαιο, δε προστατεύουν πλήρως το προϊόν. Βέβαια, η μείωση της ανάπτυξης δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης δεν ήταν εφικτή με την όποια διεργασία, αφού υψηλό ποσοστό τους είχε ήδη παραχθεί κατά τη διαδικασία του τηγανίσματος. Ένα επιπλέον συμπέρασμα που προέκυψε από το πείραμα οξείδωσης των chips είναι η συσχέτιση της % μείωσης του οξυγόνου του υπερκείμενου χώρου της συσκευασίας με την ανάπτυξη πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης/την αλλοίωση των chips.

Με βάση τα αποτελέσματα της επικάλυψης ιχθύων με εμπλουτισμένες εδώδιμες μεμβράνες αποδείχθηκε η αποδοτικότητα αυτής της μεθόδου στην προστασία των συγκεκριμένων τροφίμων ως προς την οξείδωση. Αν και η απλή μεμβράνη CMC παρείχε χαμηλότερες τιμές πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης στους ιχθύες, η προσθήκη σε αυτή αιθανολικού εκχυλίσματος από θρούμπι παρεμπόδισε την αλλοίωση του τροφίμου σε μεγαλύτερο βαθμό. Το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα από θρούμπι, ενώ φάνηκε να προστατεύει λιπαρά προϊόντα, π.χ. φοινικέλαιο και chips πατάτας, δεν ήταν ικανό να προσδώσει αντίστοιχη δράση σε ένα πιο σύνθετο τρόφιμο, όπως οι ιχθύες. Το αποτέλεσμα αυτό δείχνει πως τα άπολα φλαβονοειδή συστατικά ενώ είναι κατάλληλα για τρόφιμα με υψηλό περιεχόμενο σε λιπαρά, δεν πρέπει πιθανώς να προτιμώνται σε προϊόντα που περιέχουν σε μεγάλο βαθμό υδατικά συστατικά. Το αιθέριο έλαιο του φυτού ωστόσο αποδείχθηκε ισχυρό αντιοξειδωτικό, παρέχοντας παρόμοια δράση με εκείνη του αιθανολικού εκχυλίσματος. Βέβαια, η προσθήκη του στη μεμβράνη που περιείχε εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα ή αιθανόλης δε συνετέλεσε στη βελτίωση της αποτελεσματικότητας του επικαλυπτικού. Το αποτέλεσμα αυτό ενισχύει την πρόταση που αναφέρθηκε για τις οξειδώσεις ελαίων, πως συστατικά, και κυρίως η καρβακρόλη (που ανιχνεύθηκε στο αιθέριο έλαιο) φαίνεται να δρα ανταγωνιστικά με άλλες φαινολικές ενώσεις όπως το ροσμαρινικό οξύ (που περιέχονταν στα εκχυλίσματα) μη επιτρέποντας την συνεργιστική δράση των δύο κλασμάτων για μεγαλύτερη παρεμπόδιση της οξείδωσης. Τέλος, όσον αφορά στην ανάπτυξη των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης των ιχθύων, λόγω των χαμηλών θερμοκρασιών αποθήκευσης, δεν

παρατηρήθηκε σημαντική αύξησή τους κατά το αρχικό χρονικό διάστημα. Μετά το πέρας των 10 ημερών που άρχισαν να συσσωρεύονται, οι επικαλυπτικές μεμβράνες έδειξαν μειωμένες τιμές δευτερογενών προϊόντων στις περισσότερες περιπτώσεις, χωρίς να υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους.

8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βαγενά Ε. (2013), Διπλωματική εργασία: Μελέτη της δράσης φαινολικών αντιοξειδωτικών σε εδώδιμα έλαια, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα

Γεωργάτσος Ι.Γ. (1989), Εισαγωγή στη Βιοχημεία, Εκδόσεις Γιαχούδη-Γιαπούλη, Θεσσαλονίκη, σελ.169-177

Θωμόπουλος Χ.Δ. (1986), Επιστήμη και Τεχνική των Τροφίμων, Έκδοση Ε.Μ.Π., Αθήνα, σελ. 57-79

Τσιμογιάννης Δ. (2008), Διδακτορική διατριβή: Αντιοξειδωτική δράση φλαβονοειδών ενώσεων και εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών: Αναγωγή Ελευθέρων Ριζών και Προστασία Φυτικών Ελαίων, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα

Χανιώτη Σ. (2011), Διπλωματική εργασία: Χρήση φυσικών αντιμικροβιακών ενσωματωμένων σε εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες σε προϊόντα κρέατος, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα

Abdalla A.E., Roozen J.P. (1999), Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion, *Food Chemistry*, 64 (3): 323-329

Ahmad M., Benjakul S., Sumpavapol P., Nirmal N.P. (2012), Quality changes of sea bass slices wrapped with gelatin film incorporated with lemongrass essential oil, *International Journal of Food Microbiology*, 155: 171–178

Ahvenainen R. (2003), *Novel Food Packaging Techniques*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, p. 3-50

Akoh C.C, Min D.B. (2008), *Food Lipids-Chemistry, Nutrition and Biotechnology*, CRC Press, USA, p. 387-403

Aminlari M, Ramezani R, Khalili M.H. (2005), Production of protein-coated low-fat potato chips, *International Journal of Food Science & Technology*, 11: 177–181

Antolovich M., Prenzler P.D, Patsalides E., McDonald S. & Robards K. (2001), Methods for testing antioxidant activity, *The Royal Society of Chemistry*, 127: 183-198

Artharna A., Prodpran T., Benjakul S. (2009), Round scad protein-based film: Storage stability and its effectiveness for shelf-life extension of dried fish powder, *LWT - Food Science and Technology*, 42 (7): 1238–1244

Ayadi M.A., Kamoun N.G., Attia H. (2009), Physico-chemical change and heat stability of extra virgin olive oils flavoured by selected Tunisian aromatic plants, *Food and Chemical Toxicology*, 47: 2613–2619

Ayranci E., Tunc S. (2004), The effect of edible coatings on water and vitamin C loss of apricots (*Armeniaca vulgaris* Lam.) and green peppers (*Capsicum annuum* L.), *Food Chemistry*, 87 (3): 339–342

Ayranci E., Tunc S. (2003), A method for the measurement of the oxygen permeability and the development of edible films to reduce the rate of oxidative reactions in fresh foods, *Food Chemistry*, 80 (3): 423–431

Balasubramaniam V.M., Chinnan M.S, Mallikarjunan P., Phillips R.D. (1997), The effect of edible film on oil uptake and moisture retention of a deep fat fried poultry product, *Journal of Food Process Engineering*, 20: 17–29

Baldwin E.A., Wood B. (2006), Use of edible coating to preserve pecans at room temperature, *HortScience*, 41 (1): 188–192

Belitz H.D., Grosch W., Schieberle P. (2009), *Food Chemistry*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, p. 158-245

Bensmir M., Jiang B., Nsabimana C., Jian T. (2007), Effect of Lavender and Thyme incorporation in sunflower seed oil on its resistance to frying temperatures, *Food Research International*, 40 (3): 341–346

Biskup E.S. & Saez F. (2002), *Thyme: The Genus Thymus*, Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, USA, p. 1-74

Bolumar T., Andersen M.L., Orlien V. (2011), Antioxidant active packaging for chicken meat processed by high pressure treatment, *Food Chemistry*, 129 (4): 1406–1412

Bonilla J., Talón E., Atarés L., Vargas M., Chiralt A. (2013), Effect of the incorporation of antioxidants on physicochemical and antioxidant properties of wheat starch–chitosan films, *Journal of Food Engineering*, 118 (3): 271–278

Bonilla J., Atarés L., Vargas M., Chiralt A. (2012), Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: Possibilities and limitations, *Journal of Food Engineering*, 110: 208–213

Bounatirou S., Smitia S., Miguel M.G., Faleiro L., Reje M.N., Neffati M., Costa M.M., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G. (2007), Chemical composition,

antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link., *Food Chemistry*, 105 (1): 146–155

Bourtoom T. (2008), Review Article Edible films and coatings: characteristics and properties, *International Food Research Journal*, 15 (3): 237-248

Bozkurt H. (2007), Comparison of the effects of sesame and *Thymbra spicata* oil during the manufacturing of Turkish dry-fermented sausage, *Food Control* 18 (2): 149–156

Bravin, B., Peressini, D., Sensidoni, A. (2006), Development and application of polysaccharide–lipid edible coating to extend shelf-life of dry bakery products, *Journal of Food Engineering*, 76 (3): 280–290

Camo J., Lorés A., Djenane D., Beltrán J.A., Roncalés P. (2011), Display life of beef packaged with an antioxidant active film as a function of the concentration of oregano extract, *Meat Science*, 88 (1): 174–178

Camo J., Beltrán J.A., Roncalés P. (2008), Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging, *Meat Science*, 80 (4): 1086–1091

Carvalho de Souza E., Canale de C.F.L., Totten G.E. (2009), Vegetable oil structure and Antioxidants, *New Challenges in Heat Treatment and Surface Engineering*: 45-52

Catala A. (2012), Lipid Peroxidation, InTech, Rijeka, Croatia, p. 109-190

Cervato G., Carabelli M., Gervasio S., Cittera A., Cazzola R., Cestaro B. (2000), Antioxidant Properties of Oregano (*Origanum Vulgare*) leaf extracts, *Journal of Food Biochemistry*, 24 (6): 453-465

Chaiyasit W., Elias R.J., McClements D.J., Decker E.A. (2007), Role of Physical Structures in Bulk Oils on Lipid Oxidation, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47 (3): 299-317

Che Man Y.B., Liu J.L., Jamilah B., Abdul Rahman R. (1999), Quality changes of refined-bleached-deodorized palm olein, soybean oil and their blends during deep-fat frying, *Journal of Food Lipids*, 6: 181-193

Chidanandaiah, Keshri R.C., Sanyal M.K. (2009), Effect of sodium alginate coating with preservatives on the quality of meat patties during refrigerated (4±1 °C) storage, *Journal of Muscle Foods*, 20: 275–292

Choe E, Min D.B. (2009), Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Institute of Food Technologists, 8: 345-358

Chorianopoulos N., Evergetis E., Mallouchos A., Kalpoutzakis E., Nychas G.J., Haroutounian S.A. (2006), Characterization of the Essential Oil Volatiles of *Satureja thymbra* and *Satureja parnassica*: Influence of Harvesting Time and Antimicrobial Activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 3139-3145

Contini C., Katsikogianni M.G., O'Neill F.T., O'Sullivan M., Dowling D.P., Monahan F.G. (2012), PET trays coated with Citrus extract exhibit antioxidant activity with cooked turkey meat, *LWT - Food Science and Technology* 47: 471-477

Dainelli D., Gontard N., Spyropoulos D., Zondervan-van den Beuken E., Tobback P. (2008), Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns, *Trends in Food Science & Technology*, 19 (1): 103–112

Dorman H.J.D., Peltoketo A., Hiltunena R. , Tikkanen M.J. (2003), Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs, *Food Chemistry*, 83 (2): 255-262

Duan, J., Cherian, G., Zhao, Y. (2010), Quality enhancement in fresh and frozen lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets by employment of fish oil incorporated chitosan coatings, *Food Chemistry*, 119: 524–532

Eça K.S., Sartori T., Menegalli F.C. (2014), Films and edible coatings containing antioxidants – a review, *Brazilian Journal of Food Technology*, 17 (2): 98-102

Economou G., Panagopoulos G., Tarantilis P., Kalivas D., Kotoulas V., Travlos I.S., Polysiou M., Karamanos A. (2011), Variability in essential oil content and composition of *Origanum hirtum* L., *Origanum onites* L., *Coridothymus capitatus* (L.) and *Satureja thymbra* L. populations from the Greek island Ikaria, *Industrial Crops and Products*, 33 (1): 236-241

El-Nakhlawy F.S. & Shiboob M.H. (2011), Evaluation of Nine Oil Crops for Fatty Acid Constituents of their Oils, *Meteorology, Environment and Arid Land Agriculture Science*, 22 (1): 51-59

Embuscado M.E. & Huber K.C. (2009), *Edible films and Coatings for Food Applications*, Springer Science and Business Media, LLC, London New York, p. 1-168

Exarchou V., Nenadis N., Tsimidou M., Gerothanassis I.P. Troganis A., Boskou D. (2002), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5294-5299

Fan W., Sun J., Chen Y., Qiu J., Zhang Y., Chi Y. (2009), Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage, *Food Chemistry*, 115 (1): 66–70

Fasseas M.K., Mountzouris K.C., Tarantilis P.A., Polissiou M., Zervas G. (2008), Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils, *Food Chemistry*, 106 (3): 1188-1194

Frankel E.N. (2005), *Lipid Oxidation*, Woodhead Publishing, 18, Cambridge, U.K., p. 1-128

Frankel E.N. (1991), Review: Recent Advances in Lipid Oxidation, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 54: 495-511

Frankel E.N. (1987), Secondary products of Lipid Oxidation, *Chemistry and Physics of Lipids*, 44: 73-85

Frankel E.N. (1983), Volatile lipid oxidation products, *Progress in Lipid Research*, 22: 1-33

García M.A., Ferrero C., Bértola N., Martino M., Zaritzky N. (2002), Edible coatings from cellulose derivatives to reduce oil uptake in fries products, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3: 391–397

Garmakhany A.D, Mirzaei H.O., Maghsudlo Y., Kashaninejad M., Jafari S.M. (2012), Production of low fat french-fries with single and multi-layer hydrocolloid coatings, *Journal of Food Science and Technology* 51 (7): 1334–1341

Gennadios A., Hanna M.A., Kurth L.B. (1997), Application of Edible Coatings on Meats, Poultry and Seafoods: A Review, *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 30, 337–350

Georgantelis D., Ambrosiadis I., Katikou P., Blekas G., Georgakis S.A. (2007), Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C, *Meat Science*, 76: 172–181

Ghanbarzadeh B., Almasi H., Entezami A.A. (2010), Physical properties of edible modified starch/carboxymethyl cellulose films, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11: 697-702

Giweli A., Džamić A.M., Soković M., Ristić M.S., Marin P.D. (2012), Antimicrobial and Antioxidant Activities of Essential Oils of *Satureja thymbra* Growing Wild in Libya, *Molecules*, 17 (5): 4836-4850

- Gómez-Estaca J., López-de-Dicastillo C., Hernández-Muñoz P., Catalá R., Gavara R. (2014), Advances in antioxidant active food packaging, *Trends in Food Science & Technology*, 35 (1): 42–51
- Gómez-Estaca J., Bravo L., Gómez-Guillén M.C., Alemán A., Montero P. (2009), Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extracts, *Food Chemistry*, 112: 18–25
- Gómez-Estaca J., Montero P., Giménez B., Gómez-Guillén M.C. (2007), Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*), *Food Chemistry*, 105 (2): 511–520
- González M., Ballesteros E., Gallego M., Valcárcel M. (1998), Continuous-flow determination of natural and synthetic antioxidants in foods by gas chromatography, *Analytica Chimica Acta*, 359 (1-2): 47–55
- Gunstone F. (2002), *Vegetable oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses*, Blackwell publishing, USA, p. 18-296
- Gunstone F. (1996), *Fatty acid and Lipid Chemistry*, Blackie Academic & Professional, London, U.K., p. 1-204
- Hamilton R.J, Kalua C., Prisk E., Padleyb F.B., Pierce H. (1997), Chemistry of free radicals in lipids, *Food Chemistry*, 60 (2): 193-199
- Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J. (2002), Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13 (10): 572-584
- Hernández I., Alegre L, Breusegem F.V., Munné-Bosch S. (2009), How relevant are flavonoids as antioxidants in plants?, *Trends in Plant Science*, 14 (3): 125-132
- Hosseini S.F., Rezaei M., Zandi M., Farahmandghavi F. (2015), Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil, *Industrial Crops and Products*, 67: 403–413
- Houhoula D.P., Oreopoulou V., Tzia C. (2003), Antioxidant efficiency of oregano during frying and storage of potato chips, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83 (14): 1499-1503

Jerkovic I., Mastelic J., Milos M. (2001), The impact of both the season of collection and drying on the volatile constituents of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* grown wild in Croatia, *International Journal of Food Science and Technology*, 36: 649-654

Jouki M., Yazdi F.T., Mortazavi S.A., Koocheki A. (2014), Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties, *Food Hydrocolloids*, 36: 9–19

Jouki M., Mortazavi S.A., Yazdi F.T., Koocheki A. (2014), Characterization of antioxidant–antibacterial quince seed mucilage films containing thyme essential oil, *Carbohydrate Polymers*, 99 (2): 537–546

Jouki M., Yazdi F.T., Mortazavi S.A., Koocheki A., Khazaei N. (2014), Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets, *International Journal of Food Microbiology*, 174 (17): 88–97

Jouki M., Mortazavi S.A., Yazdi F.T., Koocheki A., Khazaei N. (2014), Use of quince seed mucilage edible films containing natural preservatives to enhance physico-chemical quality of rainbow trout fillets during cold storage, *Food Science and Human Wellness*, 3 (2): 65–72

Jovanovic S.V, Steeden S., Tosic M., Budimir Marjanovic B., Simic M.G. (1994), Flavonoids as Antioxidants, *Journal of the American Chemical Society*, 116: 4846-4851

Kamal-Eldin A.K (2006), Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 58: 1051–1061

Karoui I.J., Bettaieb I., Msaada K., Hammami M., Marzouk B. (2012), Research on the phenolic compounds and antioxidant activities of Tunisian *Thymus capitatus*, *Journal of Functional Foods*, 4 (3): 661-669

Karoui I.J., Dhifi W., Ben Jemia M., Marzouk B. (2011), Thermal stability of corn oil flavoured with *Thymus capitatus* under heating and deep-frying conditions, *Science of Food and Agriculture*, 91: 927-933

Khwaldia K., Perez C., Banon S., Desobry S., Hardy J. (2004), Milk Proteins for Edible Films and Coatings, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44: 239-251

Köckritz A. & Martin A. (2008), Review Article: Oxidation of unsaturated fatty acid derivatives and vegetable oils, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110: 812–824

Kolakowska A., Sikorski Z.E. (2003), *Chemical and Functional Properties of Food Lipids*, CRC Press, Florida, USA, p. 133-166

Lagouri V., Blekas G., Tsimidou M., Kokkini S., Boskou D. (1992), Composition and antioxidant activity of essential oils from Oregano plants grown wild in Greece, *Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 197: 20-23

Lagouri V., Boskou D. (1996), Nutrient antioxidants in oregano, *International Journal of Food Science and Nutrition*, 47: 493-497

Le Tien C., Vachon C., Mateescu M. A., Lacroix M. (2001), Milk Protein Coatings Prevent Oxidative Browning of Apples and Potatoes, *Food Chemistry and Toxicology*, 66 (4): 512-516

Lee S.Y., Trezza T.A., Guinard J.X., Krochta J.M. (2002), Whey-protein-coated peanuts assessed by sensory evaluation and static headspace gas chromatography, *Journal Food Science*, 67: 1212–1218

López-de-Dicastillo C., Pezo D., Nerín C., López-Carballo G., Catalá R., Gavara R., Hernández-Muñoz P. (2012), Reducing Oxidation of Foods Through Antioxidant Active Packaging Based on Ethyl Vinyl Alcohol and Natural Flavonoids, *Packaging Technology and Science*, 25 (8): 457-466

López-de-Dicastillo C., Gómez-Estaca J, Catalá R., Gavara R., Hernández-Muñoz P. (2012), Active antioxidant packaging films: Development and effect on lipid stability of brined sardines, *Food Chemistry*, 131 (4): 1376–1384

López-de-Dicastillo C., Catalá R., Gavara R., Hernández-Muñoz P. (2011), Food applications of active packaging EVOH films containing cyclodextrins for the preferential scavenging of undesirable compounds, *Journal of Food Engineering*, 104 (3): 380–386

Lu Y., Foo L.Y. (2001), Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*), *Food Chemistry*, 75 (2): 197-202

Malesev D., Kuntic V. (2007), Investigation of metal–flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal–flavonoid complexing reactions, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 72 (10): 921–939

Martucci J.F., Gende L.B., Neira L.M., Ruseckaite R.A. (2015), Oregano and lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films, *Industrial Crops and Products*, 71: 205–213

Mazza G., Qi H. (1991), Control of After-Cooking Darkening in Potatoes with Edible Film-Forming Products and Calcium Chloride, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39: 2163-2166

Milos M., Mastelic J. , Jerkovic I. (2000), Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*), *Food Chemistry*, 71 (1): 79-83

Montero-Prado P., Rodriguez-Lafuente A., Nerin C. (2011), Active label-based packaging to extend the shelf-life of “Calanda” peach fruit: Changes in fruit quality and enzymatic activity, *Postharvest Biology and Technology*, 60 (3): 211–219

Nerín, C., Tovar, L., Djenane, D., Camo, J., Salafranca, J., Beltrán, J. A. (2006), Stabilization of beef meat by new active packaging containing natural antioxidants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 7840-7846.

Ojagh S.M., Rezaei M., Razavi S.H., Hosseini S.M.H. (2010), Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout, *Food Chemistry*, 120 (1): 193–198

Oliveira T.L.C., Carvalho S.M., Soares R.A., Andrade M.A., Cardoso M.G., Ramos E.M., Piccoli R.H. (2012), Antioxidant effects of *Satureja montana* L. essential oil on TBARS and color of mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite, *LWT - Food Science and Technology*, 45 (2): 204–212

Ouariachi M., Paolini J., Bouyanzer A., Tomi P., Hammouti B., Salghi R., Majidi L., Costa J. (2011), Chemical composition and antioxidant activity of essential oils and solvent extracts of *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns and link from Morocco, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (24): 5773-5778

Oussalah M., Caillet S., Salmiéri S., Saucier L., Lacroix M. (2004), Antimicrobial and Antioxidant Effects of Milk Protein-Based Film Containing Essential Oils for the Preservation of Whole Beef Muscle, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (18): 5598–5605

Ozkan G., Simsek B., Kuleasan H. (2007), Antioxidant activities of *Satureja cilicica* essential oil in butter and in vitro, *Journal of Food Engineering*, 79 (4): 1391–1396

Öztürk M. (2012), Anticholinesterase and antioxidant activities of Savoury (*Satureja thymbra* L.) with identified major terpenes of the essential oil, *Food Chemistry*, 134 (1): 48–54

Pereira de Abreu D.A., Paseiro Losada P., Maroto J., Cruz J.M. (2011), Natural antioxidant active packaging film and its effect on lipid damage in frozen blue shark (*Prionace glauca*), *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12 (1): 50–55

Pereira de Abreu D.A., Paseiro Losada P., Maroto J., Cruz J.M. (2010), Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard lipid damage in frozen Atlantic salmon (*Salmo salar* L.), *Food Research International*, 43 (5): 1277–1282

Pires C., Ramos C., Teixeira G., Batista I., Mendes R., Nunes L., Marques A. (2011), Characterization of biodegradable films prepared with hake proteins and thyme oil, *Journal of Food Engineering* 105: 422–428

Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M. (2001), *Antioxidants in food*, Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, England, p. 22-70

Ponce A.G., Roura S.I., del Valle C.E., Moreira M.R. (2008), Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies, *Postharvest Biology and Technology*, 49: 294–300

Porter N.A. (1986), *Mechanisms for the Autoxidation of Polyunsaturated lipids*, Accounts of Chemical Research, Durham, USA, p. 262-268

Rayner M., Ciofi V., Maves B., Stedman P., Mittal G.C. (2000), Development and application of soy-protein films to reduce fat intake in deep-fried foods, *Journal of Science of Food and Agriculture*, 80: 777–782

Realini C.E., Marcos B. (2014), Active and intelligent packaging systems for a modern society, *Meat Science*, 98 (3): 404–419

Rice-Evans C.A, Miller N.J., Paganga G. (1996), Structure-antioxidant activityrelationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Radical Biology & Medicine*, 20 (7): 993-956

Rice-Evans C.A, Miller N.J., Paganga G. (1997), Antioxidant properties of phenolic compounds, *Trends in Plant Science*, 2 (4): 152-159

Rodrigues S., Fernandes F.A.N. (2012), *Advances in Fruit Processing Technologies*, CRC Press, Taylor and Francis Group, USA, p. 435-356

Rodríguez M., Osés J., Ziani K., Maté J.I. (2006), Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films, *Food Research International*, 39 (8): 840–846

Roginsky, Lissi, (2005), Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food, *Food Chemistry*, 92 (2): 235-254

Sanchez-Gonzalez L, Vargas M., Gonzalez-Martinez C., Chiralt A., Chafer M. (2011), Use of Essential Oils in Bioactive Edible Coatings, *Food Engineering Review*, 3: 1–16

Serrano M., Martinez-Romero D., Castillo S., Guillen F., Valero D. (2005), The use of natural antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6 (1): 115-123

Shahidi F. (2005), *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, John Wiley & Sons, Inc., 6, p. 2-10

Shahidi F., Janitha P.K. & Wanasundara P.D. (1992), *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, CRC Press, 32 (1), p. 67-103

Shahidi F. (1997), *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications*, AOCS Press, USA, p. 1-11

Shojaee-Aliabadia S., Hosseini H., Mohammadifar M.A., Mohammadi A., Ghasemlou M., Ojagh S.M., Hosseini S.M., Khaksara R. (2013), Characterization of antioxidant-antimicrobial κ -carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil, *International Journal of Biological Macromolecules*, 52: 116–124

Singthong J., Thongkaew C. (2009), Using hydrocolloids to decrease oil absorption in banana chips, *LWT - Food Science and Technology*, 42 (7): 1199–1203

Siripatrawan U., Noipha S. (2012), Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages, *Food Hydrocolloids*, 27: 102-108

Skoula M., Grayer R.J., Kite G.C. (2005), Surface flavonoids in *Satureja thymbra* and *Satureja spinosa* (Lamiaceae), *Biochemical Systematics and Ecology*, 33: 541–544

Song Y., Liu L., Shen H., You J., Luo Y. (2011), Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*), *Food Control*, 22 (3–4): 608–615

Steele R. (2004), *Understanding and measuring the shelf-life of food*, Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Cambridge, England, p. 289-310

Stuchell Y.M, Krochta J.M. (1995), Edible Coatings on Frozen King Salmon: Effect of Whey Protein Isolate and Acetylated Monoglycerides on Moisture Loss and Lipid Oxidation, *Journal of Food Science*, 60 (1): 28-31

Sun Y., Zhu H., Wang J., Liu Z., Bi J. (2009), Isolation and purification of salvianolic acid A and salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* by high-speed counter-current chromatography and comparison of their antioxidant activity, *Journal of Chromatography B*, 877 (8-9): 733-737

Surveswaran S., Cai Y., Corke H., Sun M. (2007), Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants, *Food Chemistry*, 102 (3): 938–953

Tabti L., Dib M.A., Gaouar N., Samira B., Tabti B. (2014), Antioxidant and Antifungal Activity of Extracts of the Aerial Parts of *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns Against Four Phytopathogenic Fungi of *Citrus sinensis*, *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 9 (1): 49–54

Tammineni N, Unlü G, Rasco B, Powers J, Sablani S, Nindo C. (2012), Trout-skin gelatin-based edible films containing phenolic antioxidants: effect on physical properties and oxidative stability of cod-liver oil model food, *Journal of Food Science*, 77 (11): 342-347

Tang S.Y., Halliwell B. (2010), Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies?, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394 (1): 1–5

Teixeira B., Marques A., Ramos C., Neng N.R., Nogueira J.M.F., Saraiva J.A., Nunes M.L. (2013), Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils, *Industrial Crops and Products*, 43: 587–595

Tepe B. (2015), Inhibitory Effect of *Satureja* on Certain Types of Organisms, *Records of Natural Products*, 9 (1): 1-18

Tongdeesoontorn W., Mauer L.J., Wongruong S., Sriburi P., Rachtanapun P. (2011), Effect of carboxymethyl cellulose concentration on physical properties of biodegradable cassava starch-based films, *Chemistry Central Journal*, 5 (6): 1-8

Tsimogiannis D., Stavrakaki M., Oreopoulou V. (2006), Isolation and characterisation of antioxidant components from oregano (*Origanum heracleoticum*), *International Journal of Food Science & Technology*, 41: 39-48

Valero D., Valverde J.M., Martínez-Romero D., Guillén F., Castillo S., Serrano M. (2006), The combination of modified atmosphere packaging with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of table grapes, *Postharvest Biology and Technology*, 41 (3): 317–327

Vekiari S. A., Oreopoulou V., Tzia C., Thomopoulos C. D. (1993), Oregano flavonoids as lipid antioxidants, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70 (5): 483-487

Vermeiren L., Devlieghere F., Beest M., Kruijf N., Debevere J. (1999), Developments in the active packaging of foods, *Trends in Food Science & Technology*, 10 (3): 77–86

Warner K., Eskin M.N.A. (1995), *Methods to Assess Quality and Stability of Oils and Fat-Containing Foods*, AOCS Press, USA, p. 146-178

Xing Y., Li X., Xu Q., Yun J., Lu Y., Tang Y. (2011), Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.), *Food Chemistry*, 124 (4): 1443–1450

Yanishlieva N.V., Marinova E.M., Gordon M.H., Raneva V.G. (1999), Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems, *Food Chemistry*, 64 (1): 59–66

Zheng W., Wang Y. (2001), Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 5165-5170

Ziani K., Oses J., Coma V., Maté J.I. (2008), Effect of the presence of glycerol and Tween 20 on the chemical and physical properties of films based on chitosan with different degree of deacetylation, *LWT - Food Science and Technology*, 41 (10): 2159–2165