

ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ



# Επίδραση της μεθόδου ξηράνσης στην σύσταση προϊόντων αλόης

---

Κωνσταντίνος Γιαννούκος

Τριμελής επιτροπή:  
Αναστασία Δέτση  
Μάγδα Κροκίδα  
Αθηνά Παππά



ΑΘΗΝΑ 2011

*Αυτή η σελίδα έχει αφεθεί σκοπίμως κενή*

Ευχαριστίες,

Με την ευκαιρία ολοκλήρωσης της παρούσας διπλωματικής θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους εκείνους συνέβαλαν στην περάτωσή της. Αρχικά και στις τρεις καθηγήτριες της τριμελούς επιτροπής για την συνεχή αρωγή τους τόσο στο πειραματικό μέρος όσο και στην θεωρητική ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Πιο συγκεκριμένα την κυρία Αθηνά Παππά για την αμέριστη εμπιστοσύνη της και καθοδήγησή της. Επίσης για την δύναμη και κίνητρα που μου έδινε σχετικά με την επιμονή και υπομονή για την διεξαγωγή των πειραμάτων. Εν συνεχεία την κυρία Μάγδα Κροκίδα για τις πρωτοβουλίες και κατευθυντήριες γραμμές που μου έδινε, και την κυρία Αναστασία Δέτση για την πάντα πρόθυμη συζήτηση σχετικά με καίρια θέματα πάνω στις πειραματικές πρακτικές.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Γιώργο Κατσαρό για την ουσιαστική συνεργασία στην διεξαγωγή των πειραμάτων και το πολύ ζεστό κλίμα που δημιούργησε και συνεχίζει να δημιουργεί στο εργαστήριο τροφίμων. Ακόμη τους Μαριάννα Γιάννογλου, τον Ζαχαρία Αλεξανδράκη και τον Δημήτριο Τσιμογιάννη για τις χρήσιμες συμβουλές τους αλλά και όλη την ομάδα του εργαστηρίου σχεδιασμού διεργασιών και ιδιαίτερα της Βάσιας Οικονομοπούλου.

Τέλος, αισθάνομαι για άλλη μια φορά, να εκφράσω την ανάγκη να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, την μητέρα μου, τον πατέρα μου, και τα αδέρφια μου καθώς και όλους τους φίλους για την υποστήριξη τους και την δύναμή που συνεχώς με τροφοδοτούσαν και ειδικότερα ορισμένους για την υπομονή τους.

Το πρώτο σου χρέος, εκτελώντας τη θητεία σου στη ράτσα, είναι να νιώσεις μέσα σου όλους τους προγόνους. Το δεύτερο, να φωτίσεις την ορμή τους και να συνεχίσεις το έργο τους. Το τρίτο σου χρέος, να παραδώσεις στο γιο τη μεγάλη εντολή να σε ξεπεράσει.

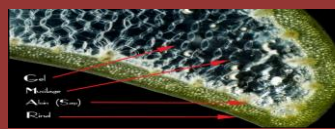
*Νίκος Καζαντζάκης (1883-1957, Κλασικός)*

Προμηθεύσου γνώση, παγωμένε!  
Πεινασμένε, άρπαξε το βιβλίο: είν' ένα όπλο.  
Εσύ να πάρεις πρέπει την εξουσία.  
Μην ντρέπεσαι να ρωτήσεις, Σύντροφε!  
Μην αφεθείς να πείθεται  
μάθε να βλέπεις συ ο ίδιος!  
Ό,τι δεν ξέρεις ο ίδιος  
καθόλου δεν το ξέρεις.  
Έλεγξε το λογαριασμό  
εσύ θα τον πληρώσεις.  
Ψάξε με τα δάχτυλα κάθε σημάδι  
Ρώτα: πώς βρέθηκε αυτό εδώ.  
Εσύ να πάρεις πρέπει την εξουσία.»

*Μπέρτολτ Μπρεχτ - Εγκώμιο στη μάθηση*

# Η ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΦΥΛΛΟΥ ΤΗΣ ΑΛΟΕ BARBADENSIS

## Κεφάλαιο 1



Ε.Μ.Π. 2011



## Περιεχόμενα κεφαλαίου 1

1. Περίληψη
2. Εισαγωγή
3. Η εσωτερική ανατομία
  - ✦ *Περί εφυμενίδων*
4. Η ανατομία της επιφάνειας των φύλλων
5. Η λατρεία της *Aloe vera*
6. Το φύλλο της *Aloe barbadensis* Miller
  - ✦ Τι εννοούμε με το όρο *Alloaceae*;
  - ✦ Βασικές έννοιες ταξινόμησης φυτών
  - ✦ Τι ουσιαστικά είναι ένα όνομα; Μια ιστορία ταξινόμησης
  - ✦ *Περί ραφιδίων*
  - ✦ Έννοιες της οικογένειας των Αλοάκεων
  - ✦ Γενικές ιδέες και ταξινομική έρευνα στα Αλοάκεα
  - ✦ Ταξινομικές σημειώσεις στα γένη των Αλοάκεων
  - ✦ Πυρήνας γένους (*Aloe, Lomatophyllum*)

## ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΟΥ ΦΥΛΛΟΥ ΤΗΣ ΑΛΟΗΣ

### 1. Περίληψη

Αυτό το κεφάλαιο περιγράφει το πώς, στα φύλλα της αλόης, η εμφάνιση του ανάγλυφου της επιφάνειας της επιδερμίδας, όπως φαίνεται με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να βοηθήσει στην ταυτοποίηση στείρων φυτών ή κλασμάτων φύλλων και να προσδιοριστούν οι σχέσεις μεταξύ των ειδών. Μερικές φορές το ανάγλυφο της επιφάνειας μπορεί να παράσχει κάποια πληροφορία στην προτίμηση περιβάλλοντος ανάπτυξης ενός συγκεκριμένου είδους και να αποτελεί ταξινομικό κριτήριο των ειδών του γένους *Aloe*. Άλλες φορές το υγρό εξίδρωμα που εξάγεται από τα κομμένα φύλλα των αλόων, μαζί με γενικά δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά των επιμέρους μερών των φύλλων, μπορούν να επιτελέσουν τον ρόλο ταξινομικών κριτηρίων. Μέσα στην όλη ταξινόμηση όμως κρύβεται η βασική δομή του φύλλου του εκάστοτε είδους, η οποία και αναλύεται για τον εντοπισμό των πηγών παραγωγής των ωφέλιμων, από φαρμακευτικής απόψεως, συστατικών με απώτερο σκοπό την απομόνωσή αυτών, αλλά και την εύρεση του βιοχημικού δρόμου που οδηγεί αυτήν την παραγωγή. Σε όλο αυτό το πλαίσιο ανάλυσης, οι ερευνητές θα πρέπει να είναι γνώστες, όχι μόνο της σύγχρονης τεχνολογίας, αλλά και του ιστορικού υπόβαθρου που οδήγησε στην καθιέρωση ορισμένων βασικών τάσεων στην δημιουργία του τρέχοντος ταξινομικού και επιστημονικού υπόβαθρου.

### 2. Εισαγωγή

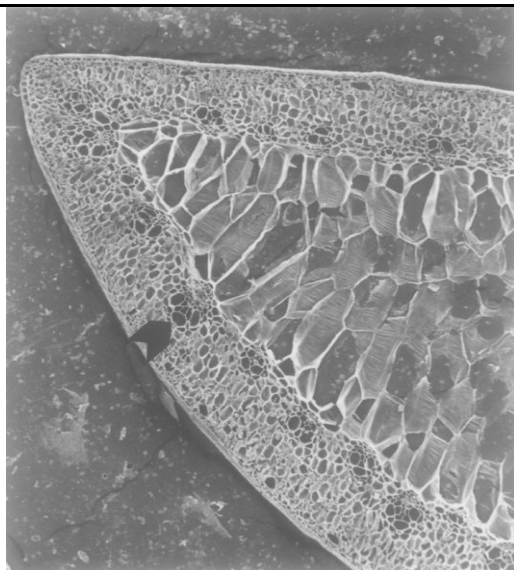
Η μελέτη του φύλλου της αλόης μπορεί να παράσχει πληροφορία η οποία να είναι χρήσιμη για τους ταξινομητές, τους φυσιολόγους των φυτών, τους βιοχημικούς και τους οικολόγους μεταξύ άλλων. Μερικές φορές τα λουλούδια και τα φρούτα δεν είναι εύκολο να βοηθήσουν στον προσδιορισμό μίας αλόης. Ωστόσο η εξέταση της γενικής μορφής των φυτών μαζί με την εμφάνιση των επιδερμικών κυττάρων του φύλλου σε μεγεθύνσεις μεταξύ του 300× και 100× μπορεί να ξεσκεπάσει επαρκείς πληροφορίες των χαρακτηριστικών που συμβάλλουν στον προσδιορισμό. Μερικές φορές ο προσδιορισμός μπορεί να γίνει και σε επίπεδο ειδών.

### 3. Η εσωτερική ανατομία

Η μελέτη της ανατομίας του φύλλου της αλόης μελετήθηκε πρώτα για ταξινομικούς σκοπούς το 1969 από τον Cutler. Αργότερα έγινε ξεκάθαρο ότι τα εξιδρώματα των αλόων θα μπορούσαν να είναι ιατρικού ενδιαφέροντος, η ανατομία χρησιμοποιήθηκε για να προσπαθήσει να εντοπίσει εκείνα τα κύτταρα συγκεκριμένα στα οποία τα συγκεκριμένα υποστρώματα προέκυπταν ή αποθηκεύονταν.

Η εσωτερική ανατομία των φύλλων της αλόης είναι σχετικά σταθερή, ανεξάρτητου του είδους. Αυτό σημαίνει ότι εκτός του προσδιορισμού τριών ομάδων από διάφορα είδη, οι εγκάρσιες τομές παρέχουν λίγη πληροφορία με ευρύτερη συστηματική σπουδαιότητα. Τα παχυλά φύλλα έχουν περισσότερο παρεγχυματικό ιστό, αλλά οι εξωτερικές κλωρεγχυματικές στοιβάδες, περιέχουν τους πράσινους χλωροπλάστες και τους πεπλατυσμένους δακτυλίους των αγγειακών δεσμών, μόλις στο εσωτερικό μέρος του κλωρεγχύματος. Όλα τα παραπάνω είναι σε διαφορετικούς αναβαθμούς κοινά στα διάφορα είδη αλόης. Αρχικά το ενδιαφέρον επικεντρώθηκε στα χαρακτηριστικά που επιδεικνύουν την προσαρμογή σε συγκεκριμένα περιβάλλοντα. Για παράδειγμα, τα παχυλά φύλλα των ειδών της αλόης απαντώνται σε πολύ σκληρά περιβάλλοντα, όπου το νερό είναι πολύ περιορισμένο (*Aloe dichotoma* Masson, *Aloe plegleri* Schonl.). Τα πιο λεπτά φύλλα συμβαίνει να παρατηρούνται σε είδη με φυσικές κατοικίες με υψηλότερη υγρασία, για παράδειγμα *Aloe*

haemanthifolia A.Berger at Marloth. Το σχήμα 1 δείχνει μία κάθετη τομή ενός τυπικού φύλλου της *Aloe kedongensis* Reynolds.



**Εικόνα 1.** *Aloe kedongensis* Reynolds: Κάθετη τομή μέρους του φύλλου. Το βέλος δείχνει τα λεπτού τοιχώματος κύτταρα μιας αγγειακής δέσμης. Η δομή του φύλλου της *Aloe barbadensis* Miller είναι παρόμοια με μεγάλα αποθηκευτικά κύτταρα στο εσωτερικό και σκληρό πράσινο επιδερμικό ιστό. (μεγέθυνση ×20)

Σε ειδικότερο ενδιαφέρον βρίσκεται η κάψουλα των λεπτού τοιχώματος, μακριά κύτταρα της εξωτερικής πλευράς κάθε αγγειακής δέσμης. Αυτά τα νήματα περιέχουν εξιδρώματα τα οποία μπορούν να χρωματίζονται. Ο γλοιός, ο οποίος είναι ιατρικού και καλλυντικού ενδιαφέροντος, κυρίως βρίσκεται στα κεντρικά κύτταρα του παρεγχύματος. Ο «γλοιός» αποτελεί μία ονομασία που έχει ρίζα το γλοιώδης που σημαίνει τον λιπαρό, παχύρρευστο, κολλώδη και δυσάρεστο στην οσμή. Αποδόθηκε στην παρούσα εργασία αφού τόσο ηχητικά, όσο και πρακτικά εκφράζει το παρέγχυμα των φύλλων της αλόης. Η λιπαρότητα μπορεί να θεωρηθεί παρόμοια με αυτήν του πραγματικού λίπους που αγγίζουμε, ενώ η ίδια η αλόη περιέχει μόνον σε μικρό ποσοστό λιπίδια. Σχετικά με την οσμή αυτή μπορεί να παρομοιαστεί με λαχανικών όπως τα αγγούρια ή ελαφρώς κρεμμύδια. Στην φρέσκια και νωπή κατάστασή του ο ζελέ είναι ελαφρώς στυφός και κατέχει μία κάπως -ελαφρώς-δυσάρεστη οσμή. Προφανώς η οσμή του οφείλεται στα πτητικά VOCs τα οποία εξαφανίζονται εάν ο ζελέ υποβληθεί σε σωστή κατεργασία. Μία ορισμένη δριμύτητα, οφείλεται μερικώς στο ελεύθερο ουρονικό οξύ που περιέχεται στον ζελέ και εύκολα αντισταθμίζεται με ρύθμιση του pH στο επιθυμητό επίπεδο, προτιμώντας το 6,5 με 6,8. Σαν την γαστρική βλεννίνη είναι ένας γυαλιστερός ζελέ ο οποίος δεν είναι ελκυστικός για αυτούς που έχουν αντιπάθεια για παχιά και γλοιώδη προϊόντα. Αυτό το χαρακτηριστικό δύναται να εξαλειφθεί εύκολα με πολτοποίηση του ζελέ με βαρύ μεταλλικό λάδι. [<http://www.desertharvest.com/physicians/documents/DH128.pdf> ]

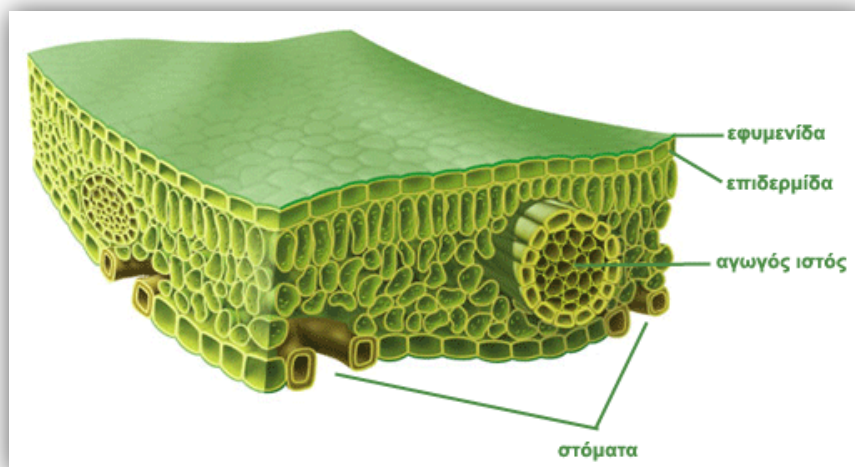
Ρόλος του γλοιού είναι πιθανόν να είναι αποθήκη νερού για το φυτό. Οι Beaumont et al (1985, 1986), εξέτασαν την προέλευση των υποστρωμάτων που είναι παρόντα στα κύτταρα των ινωδών θηκών στους πόλους του φλοιώματος. Στο φυτό, κατά την διάρκεια της ζωής του φαίνονται να είναι άχρωμα αλλά σε έκθεσή τους με τον αέρα συχνά χρωματίζονται. Το ιδιαίτερο χρώμα τους, μωβ, κίτρινο ή καφέ είναι για παράδειγμα τυπικό των ειδών που έχουν βρεθεί μέχρι στιγμής. Κοκκώδη σωματίδια έχουν παρατηρηθεί στα κύτταρα των ινωδών θηκαρίων, και η πρόταση είναι ότι αυτά ενδέχεται να είναι πρόδρομοι των εξιδρωμάτων. Ωστόσο, ακόμη παραμένει να προσδιοριστεί το εάν τα εξιδρώματα συντίθενται στα κύτταρα των θηκών από μόνα τους, ή σε άλλα συγγενικά κύτταρα. Τα εξιδρώματα μπορούν να στεγνώσουν και να σφραγίσουν ένα κόψιμο ή ένα τραυματισμένο φύλλο. Τα φύλλα των αλόων γενικά δεν τραυματίζονται από έντομα ή φυτοφάγα, και έτσι τα εξιδρώματα μπορούν να διαθέτουν ιδιότητες οι οποίες θα μπορούσαν να απωθήσουν την επίθεση εντόμων. Αξίζει λοιπόν να αναφερθούμε περιληπτικά στο περιεχόμενο του όρου «cuticle», καθότι αποτελεί βασικό δομικό στοιχείο του γένους *Aloe* και άρα και της *Aloe vera*.



## *Περί εφυμενίδων*

Η ζωή στην γη αναπτύχθηκε στο νερό, αλλά προσεγγιστικά 460 εκατομμύρια χρόνια πριν, τα πρώτα φυτά μετακινήθηκαν από το νερό στην ξηρά. Για αυτό το διαμορφωτικό βήμα τα φυτά ανέπτυξαν μία προστατευτική επιδερμίδα, στην οποία δόθηκε ο όρος «cuticle». Σκοπός αυτής της «επιδερμίδας» ήταν η επιτυχής επιβίωση τους σε ένα πιο ξηρό περιβάλλον γεμάτο ποικίλα αέρια. Στα ελληνικά χρησιμοποιείται ο όρος «εφυμενίδα», που σημαίνει εκείνο το συνεχές αδιάβροχο προστατευτικό στρώμα που καλύπτει την επιδερμίδα των φύλλων και άλλων εναέριων τμημάτων του φυτού και αποτελείται από εφυμενίνη (εικόνα 2). Η εφυμενίνη είναι λιπιδικής προέλευσης αδιάβροχη ουσία και κύριο συστατικό της εφυμενίδας. Πολλές πρωτογενής στοιβάδες των ανώτερων φυτών, όπως των φύλλων και των φρούτων, αποτελούνται από μία υδροφοβική στοιβάδα, που αποτελείται από την εφυμενίδα και τους επιεφυμενιδικούς κηρούς. Οι επιεφυμενιδικοί κηροί προσδιορίζουν τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας και παρουσιάζονται σε πολλές διαφορετικές μορφολογίες. Σε μερικά είδη είναι μόνο μία λεία κηρώδης στοιβάδα, ενώ άλλα είδη καλύπτονται με σωματίδια κήρου, τα οποία συχνά καλούνται με τον όρο «κρυσταλλοειδή» σε συνδυασμό με μία κηρώδη στοιβάδα βάσης. Μία μορφολογική κατηγοριοποίηση των επιεφυμενιδικών κηρών, βασισμένη σε εκτενή ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) έγινε από τον Barthlott et al. (1998). Για μερικούς τύπους κηρών, όπως δισκοειδής και σωληνοειδείς βρέθηκε μία συσχέτιση χημικής σύνθεσης και μορφολογίας. Μόνο η πλειονότητα των ριζών και μερικών βρύων μπορούν να απορρίψουν αυτήν την προστατευτική στοιβάδα. Οι εφυμενίδες είναι σύνθετα υλικά με το πλαίσιο τους να φτιάχνεται κυρίως από κουτίνη – χρησιμοποιείται και ο όρος «υμενίνη»-, με ενσωματωμένα και υπερτιθέμενα λιπίδια που καλούνται «κηροί». Οι κηροί των φυτών που είναι ενσωματωμένοι στην εφυμενίδα καλούνται «ένδοεφυμενιδικοί κηροί», ενώ κηροί που υπερτίθενται –δηλαδή προεξέχουν- καλούνται «επιεφυμενιδικοί κηροί». Επιπρόσθετα και δευτερεύοντα ποσά από ίνες πολυσακχαριτών υμενίνης εμπεριεχομένων και της κυτταρίνης και ημικυτταρίνης μαζί με πηκτίνη, διασυνδέουν την εφυμενίδα του φυτού με τα κυτταρικά τοιχώματα της επιδερμίδας που βρίσκεται ακριβώς κάτω την εφυμενίδα.

Οι εφυμενίδες αποτελούν πολύ αποτελεσματικά μεταφορικά φράγματα. Οι κύριες φυσιολογικές λειτουργίες τους είναι η προστασία ενάντια στην απώλεια νερού από την διαπνοή και η μείωση έκπλυσης των αναγκαίων διαλυμένων ουσιών από το εσωτερικό των κυττάρων, όπως ιόντα και πολικές οργανικές διαλυμένες ουσίες. Επιπρόσθετως, μερικές εφυμενίδες είναι ικανές να προστατεύουν το DNA δια ανακλάσεως ή απορροφήσεως της UV-ακτινοβολίας και να μειώνουν την ένταση του φωτός δια σκεδάσεως –διασκορπισμός του φωτός- ή ανακλάσεως. Αν και η εφυμενίδα είναι σχετικά λεπτή στοιβάδα, εν συγκρίσει με την πληθωρική κυτταρίνη των κυτταρικών τοιχωμάτων, είναι πολύ σημαντική στοιβάδα για την δομική σταθεροποίηση των πρωτογενών επιδερμικών ιστών. Οι ελαστικές ιδιότητες (επεκτασιμότητα σε μία δοθείσα ένταση) των απομονωμένων εφυμενίδων μεμβρανών διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στα ραγίσματα φρούτων όπως σε μία ώριμη ντομάτα. Μια πολύ επιτυχημένη στρατηγική άμυνας εναντίον των παθογόνων μικροοργανισμών –μύκητες και βακτήρια- αποτελεί και η αυτοκαθαριστική ιδιότητα των υπερυδροφοβικών επιφανειών των φυτών, όπου η προσκόλληση των παθογόνων και άλλων σωματιδίων στις επιφάνειες και η διαβρεκτικότητα των επιφανειών ελαχιστοποιούνται. Η δομική βάση, ως εκ τούτου, είναι ένας συνδυασμός της τραχύτητας σε κλίμακα μικρομέτρων συνδυασμένη με την ισχυρή υδροφοβικότητα που προκαλείται από προεξέχοντα ανάγλυφα κηρών - επιεφυμενιδικοί κηροί- σε κλίμακα νανομέτρων. Διάφορες ιδιότητες των εφυμενίδων των φυτών βασίζονται κυρίως στους κηρούς. Οι ενδοεφυμενιδικοί κηροί λειτουργούν κυρίως σαν φράγματα της διαπνοής του νερού, όπου οι επιεφυμενιδικοί κηροί επηρεάζουν ισχυρά την διαβρεκτικότητα, τον αυτοκαθαρισμό και την αντανάκλαση του φωτός από την εφυμενίδα.



**Εικόνα 2.** Η εφυμενίδα είναι εκείνος ο αδιάβροχος υμένας που καλύπτει εξωτερικά την επιδερμίδα του φύλλου και του οποίου το πάχος κυμαίνεται ανάλογα με τις συνθήκες του περιβάλλοντος

Εν γένει ο όρος «κηρός» χρησιμοποιείται για μια ποικιλία φυσικών ή τεχνητών εμπορικών προϊόντων που περιέχουν λιπαρά υλικά ποικίλων ειδών. Σύμφωνα με τον χημικό ορισμό οι κηροί αποτελούνται από αλειφατικά συστατικά με διακριτά μόρια (όχι πολυμερή), είναι στερεά και εύτηκτα –χωρίς να συμβαίνει κανονικά η αποσύνθεσή τους κάτω από 100°C- είναι μαλακά και μπορούν να γυαλιστούν. Πολλοί απ' τους κηρούς των φυτών ταιριάζουν σε αυτά τα κριτήρια, είναι υδροφοβικοί, διαλυτοί σε οργανικούς διαλύτες, στερεοί σε θερμοκρασία δωματίου αλλά μαλακοί και εύπλαστοι. Οι κηροί των φυτών αποτελούνται από ένα μίγμα αλειφατικών υδρογονανθράκων και παραγώγων τους με μήκος αλυσίδας ανάμεσα στο 20 και 40, και στην περίπτωση των εστέρων (δύο ενωμένες αλυσίδες) με 60 άτομα. Οι κύριες τάξεις συστατικών είναι συνήθως πρωτοταγείς και δευτεροταγής αλκοόλες, κετόνες, λιπαρά οξέα και αλδεΐδες. Τα αλκάνια είναι ευρύτερα κατανομημένα αλλά απαντώνται σε μικρές συγκεντρώσεις. Σ' αυτόν όμως τον ορισμό υπάρχουν και κηροί που δεν ακολουθούν τον κανόνα. Για παράδειγμα στους επιεφυμενιδικούς κηρούς των σταφυλιών υπάρχουν τριτερπενοειδή σε υψηλές συγκεντρώσεις, οι οποίοι έχουν υψηλό σημείο τήξης και ψαθυρή συνοχή μετά από απομόνωση σε διάλυμα χλωροφορμίου. Άλλες εξαιρέσεις περιλαμβάνουν πολυμερικά υλικά –πολυμερείς αλδεΐδες που είναι σχεδόν αδιάλυτες στο χλωροφόρμιο-, εστολίδες –δηλαδή ολιγομερή υδροξύ λιπαρά οξέα στα κωνοφόρα-, φλαβονοειδή –σε μερικές φτέρες, που έχουν τον όρο «φαρινόζη» αντί του «κηρός»- καθώς και μεθυλο-διακλαδισμένα αλειφατικά μόρια και μόρια που συνδυάζουν αλειφατικά και κυκλικά μέρη. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι χημικές διαφοροποιήσεις για την ανάλυση των κηρών βασίζονται σε διαφορετικές μεθόδους εκχύλισης κηρών.

Βασική σημείωση είναι ότι η χημική σύνθεση πολλών κηρών είναι υψηλά διακυμαινόμενη ανάμεσα στα είδη των φυτών, τα όργανά τους –όπως διαφορετικά φύλλα- και κατά την διάρκεια της δημιουργίας ενός οργάνου. Η διακύμανση μπορεί να είναι πηγή και περιβαλλοντικών παραγόντων, όπως περίοδοι ξηρασίας, υψηλότερες εντάσεις φωτός. Δηλαδή, παρατηρείται η αύξηση ή μείωση των κηρών ποσοτικά και όχι ποιοτικά, αφού απ' αυτούς εξαρτάται η επιβίωση του φυτού στο αέριο περιβάλλον.

Από την εισαγωγή του SEM στην δεκαετία του 1960, οι μικρομορφολογίες των επιφανειακών κηρών έχουν μελετηθεί εκτενέστατα. Σύμφωνα με τις κατηγοριοποιήσεις των Barthlott et al (1998) και Jeffree (2006) οι πιο κοινές μορφολογίες κηρών είναι φλούδες με διάφορες τρισδιάστατες δομές όπως μεγάλες κρούστες (εικόνα 3a), κάψουλες, πιάτα (εικόνα 3e), δίσκοι (εικόνα 3f), νήματα (εικόνα 3b), ράβδοι και σωληνίσκοι με κούφιο κέντρο (εικόνες 3c και d). Οι διακυμάνσεις μεγέθους

είναι από 0,2 έως 100  $\mu\text{m}$ . Οι στοιβάδες του κηρού συχνά λανθασμένα αναφέρονται σαν μία άμορφη στοιβάδα, μια περισσότερο μορφολογική περιγραφή από την κρυσταλλογραφική. Σε μερικές επιφάνειες φυτών η κηρώδης στοιβάδα περιορίζονται σε μερικά μόνο επίπεδα μορίων που είναι σχεδόν αδύνατο να είναι ορατά με χρήση SEM. Ωστόσο, με μηχανική απομόνωση των επιεφυμενιδικών κηρών με παγωμένη γλυκερόλη, οι κηροί δύνανται να μετακινηθούν επιλεκτικά από την εφυμενίδα και να μεταφερθούν σε τεχνητά υποστρώματα για μελέτη με SEM. Εν συνεχεία αυτές οι άκρες της κηρώδους στοιβάδας μπορούν να ανιχνευτούν με ταυτόχρονο προσδιορισμό του πάχους τους. Πρόσφατα μελέτες με AFM μπόρεσαν να απεικονίσουν τις κηρώδης στοιβάδες σε ζωντανούς επιφανειακούς ιστούς. Σε αυτές τις παρατηρήσεις της μοριακής αρχιτεκτονικής των κηρών παρουσιάστηκε μια δομή, αποτελούμενη από μερικές στοιβάδες μονομοριακές με πάχος έως και μερικά εκατοντάδες νανόμετρα.

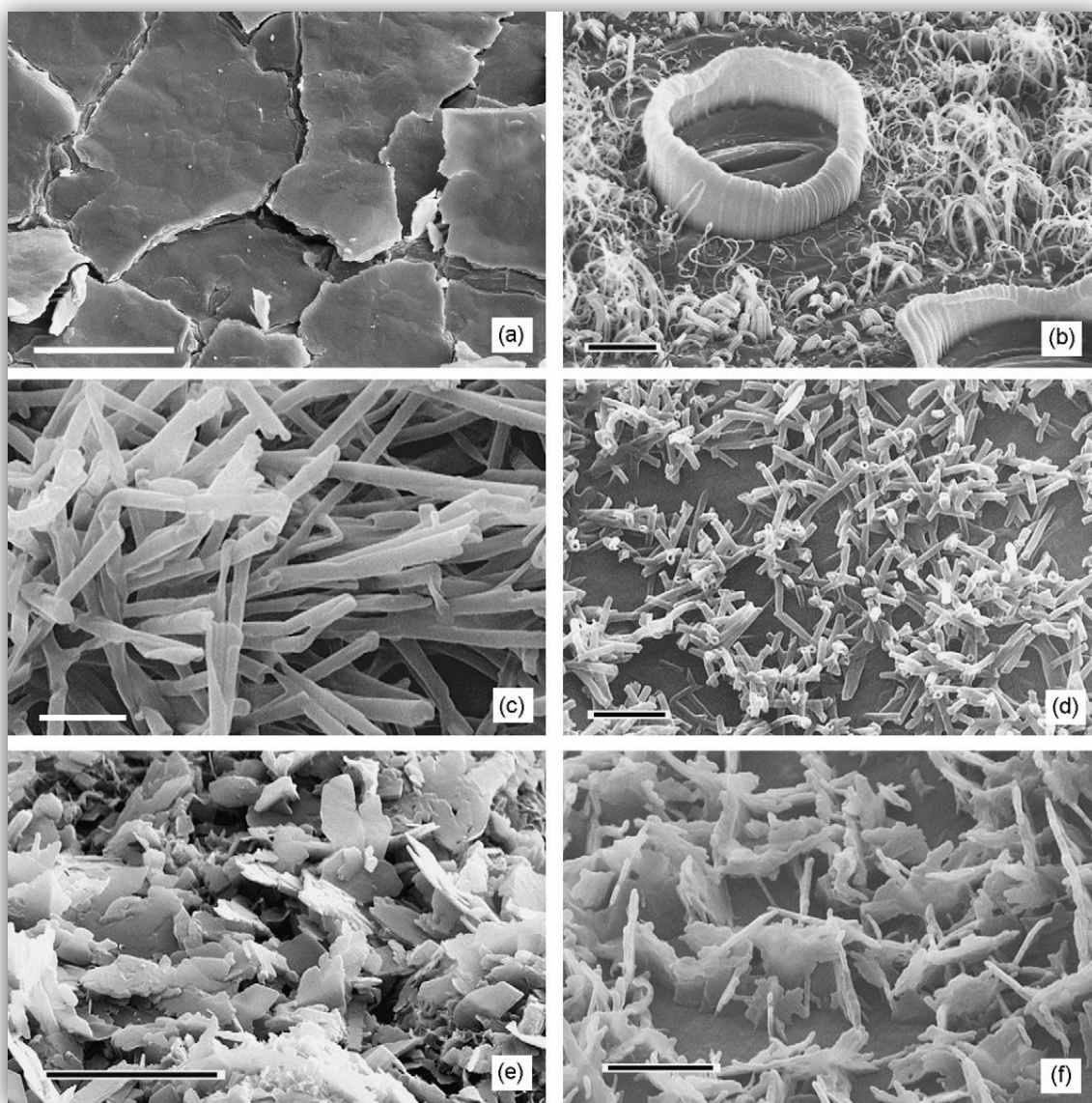
Πρόσφατες ερευνητικές δραστηριότητες από απομονωμένους, καλά διατηρημένους γηγενείς επιεφυμενιδικούς κηρούς καθώς και σαν επανακρυσταλλωμένοι κηροί, παρουσίασαν σε ανάλυση με XRD- X-ray diffraction - και ED- electron diffraction-, έναν παραλληλισμό ανάμεσα στην μορφολογική και την χημική ποικιλομορφία και μεταβλητότητα των κρυσταλλικών δομών και της μοριακής τάξης. Οι εργασίες των Langmuir, Shearer και άλλων επίλυσαν το θέμα της βασικής κρυσταλλικής δομής των περισσότερων συνήθων αλειφατικών υποστρωμάτων. Τυπικά, τα ευθεία και μακριά αλυσίδα μόρια συναρμολογούνται παράλληλα και σχηματίζουν μία δομή στοιβάδας με το πάχος μιας στοιβάδας να είναι ισοδύναμο με το μέγεθος των μορίων (εικόνα 4). Με τις μεθόδους XRD και ED μπορούν να προσδιοριστούν οι περιοδικές αποστάσεις των μορίων μέσα στους κρυστάλλους. Λόγω της ανισοτροπίας, όπως η μεγάλη διαφορά ανάμεσα στο μήκος και στην διάμετρο των μορίων του κηρού, τα μοτίβα περίθλασης παρουσιάζουν δύο σειρές τιμών αποστάσεων για κρυσταλλικούς αλειφατικούς υδρογονάνθρακες (εικόνα 4b): τις κορυφές μικρών διαστημάτων που αναπαριστούν τις πλευρικές αποστάσεις ανάμεσα στις αλυσίδες και τις κορυφές μακρών διαστημάτων που παρουσιάζουν το πάχος των στοιβάδων μορίων και την θέση των λειτουργικών ομάδων με το επιπρόσθετο οξυγόνο να καθιστά δυνατό τον προσδιορισμό συγκεκριμένων συστατικών. Ενώ τα *n*-αλκάνια σχηματίζουν μία επίπεδη δομή στοιβάδας, μόρια με πολικές τελικές ομάδες –λιπαρά οξέα, αλδεΐδες, πρωτοταγείς αλκοόλες- κρυσταλλώνονται σε μία δίστοιβη δομή με προσανατολισμό των μορίων κεφαλή προς κεφαλή (εικόνες 4c και d). Ο Kerger (1948) είχε ήδη αναγνωρίσει ότι σε μερικούς ανακρυσταλλωμένους κηρούς φυτών, οι τελευταίοι αποτύγχαναν να παρουσιάσουν κορυφές μακρών διαστημάτων που υποδηλώνει μια νηματοκρυσταλλική τάξη (εικόνα 4e).

#### 4. Η ανατομία της επιφάνειας των φύλλων

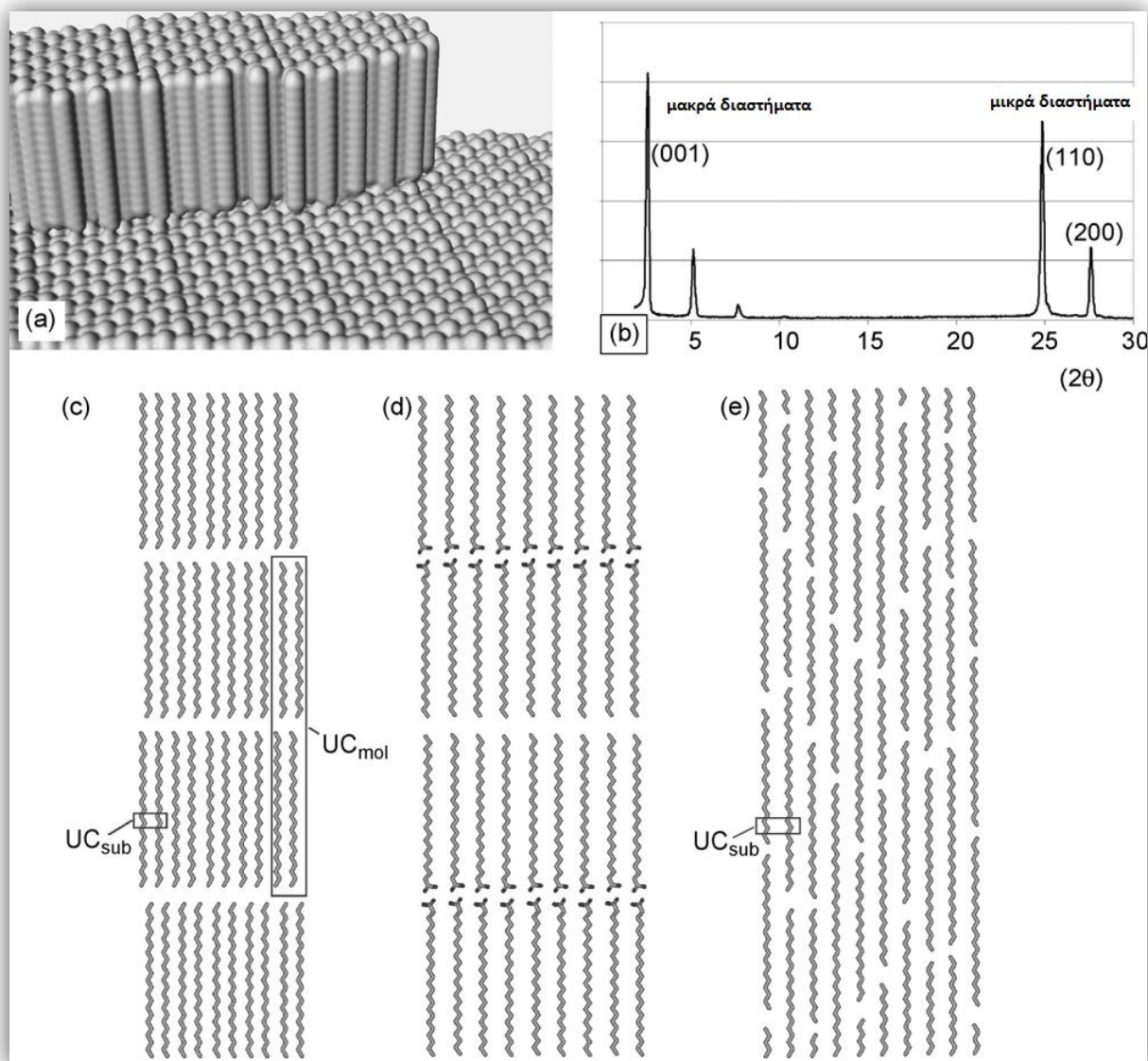
Αρχικές μελέτες στις επιφάνειες των φύλλων με οπτικό μικροσκόπιο προσδιόρισαν μία πιθανή πηγή πλούσια σε διαγνωστικά χαρακτηριστικά. Φανερώθηκε να υπάρχουν διάφοροι τύποι πολύ καλά σχεδιασμένων επιφανειακών γλυπτών. Αυτό ήταν δύσκολο να παρατηρηθεί, λόγω της επιφάνειας κηρών που καλύπτει την επιδερμίδα και η οποία είχε σκληρή διεπιφάνεια με τα επιδερμικά κύτταρα. Η διεπιφάνεια εμφανίστηκε να είναι κοκκώδης και παρέμβαινε στην ερμηνεία των χαρακτηριστικών μίας καθαρής επιφάνειας. Ωστόσο, η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης SEM, απεδείχθη ιδανική για τέτοιου είδους επιφάνειες, και η όμορφη αλλά περίπλοκη φύση τέτοιων επιφανειών έγινε εύκολο να κατανοηθεί. Από την στιγμή που η ηλεκτρονική δέσμη δεν διεισδύει βαθιά, ήταν πλέον εύκολο να αναπαρασταθεί από μόνη της η επιδερμική επιφάνεια. Επιπλέον, η γλυπτική της εφυμενιδικής επιφάνειας -cuticle- και η φύση της επιφάνειας κήρων που ήταν πάνω από την εφυμενίδα μπορούσε επίσης να προσδιοριστεί (βλέπε Cutler, 1979).

Το ανάγλυφο της επιφάνειας είναι μαλακό και αποτελείτο από κομψές αυλακώσεις-ραβδώσεις διατεταγμένες σε διάφορους προσανατολισμούς. Επίσης μπορεί να χαρακτηριστεί και σαν «micropapillae», δηλαδή μικροέκφυμα, αφού η επιφάνειά μπορεί να παρομοιαστεί με τις μικροθηλές που διαθέτει η γλώσσα. Το μέγεθος και η συχνότητα των μικροεκφυμάτων είναι συχνά

διαγνωστικός. Αυτά τα γλυπτά προεξέχουν από το γενικό σχήμα του εξωτερικού κυτταρικού τοιχώματος των επιδερμικών κυττάρων. Αυτά τα τοιχώματα μπορούν να είναι ισοπεδωμένα, θολωτά σε διάφορους βαθμούς και ελαφρώς βυθισμένα. Οι εξωτερικές άκρες των πλευρικών επιδερμικών κυττάρων (που χαρακτηρίζονται ως anticlinal, παραπέμποντας στο βάθος των συνόρων των επιδερμικών κυττάρων) μπορεί να εμφανίζονται ανορθωμένες. Μία νέα ονοματολογία έχρηζε απαραίτητη.



**Εικόνα 3.** Εικόνες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης των επιεφυμενιδικών κηρών σε διάφορες επιφάνειες φύλλων: **(a)** η κρούστα κηρών στην *Crassula ovata*. Οι ρωγμές στην κρούστα πηγάζουν από την σμίκρυνση του φύλλου σε ξήρανση σε ρεύμα αέρα (μπάρα=100 μm). **(b)** Οι καμινάδες κηρών γύρω από τα στόματα και τα νήματα κηρών στην χαμηλότερη πλευρά του φύλλου της *Heliconia collinsiana* (μπάρα = 10 μm) **(c)** β-Δικετονικοί σωληνίσκοι στο φύλλο του *Eucalyptus gunnii* (μπάρα = 1 μm). **(d)** Σωληνίσκοι «Nonacosan-10-ol» στο *Thalictrum flavum glaucum* (μπάρα = 1 μm). **(e)** Δισκοειδείς κηροί με ευθύγραμμα άκρα στην *Aloe porphyrostachys* (μπάρα= 10 μm). **(f)** Επίπεδα κηρών με μη ομαλά, κυματοειδή άκρα στην *Euphorbia characias* (μπάρα = 1 μm).



**Εικόνα 4.** Τα μοριακά μοντέλα είναι χρήσιμα για την ερμηνεία των δεδομένων δομής που προσδιορίζονται από μετρήσεις περίθλασης. Το (a) αποτελεί το μοντέλο μιας στοιβάδας από μόρια εφυμενίδας, το πάχος της στοιβάδας είναι ίσο με το μήκος των μορίων. Το (b) αποτυπώνει το διάγραμμα περίθλασης ακτίνων X σε μία ορθορομβική εφυμενίδα. Οι κορυφές μακρών διαστημάτων αναπαριστούν την τάξη της στοιβάδας και οι κορυφές μικρών διαστημάτων προσδιορίζουν τις πλευρικές αποστάσεις των αλυσίδων υδρογονανθράκων. (c) Μοντέλο κανονικά τοποθετημένων μορίων αλκανίων. (d) Πολικές δομικές ομάδες προκαλούν έναν προσανατολισμό κεφαλής-κεφαλής των μορίων, σχηματίζοντας μια δίστοιβη δομή. (e) Η νηματική δομή χωρίς τάξη στην στοιβάδα. Οι κρυσταλλογραφικές μονάδες κελιών (UC-Unit Cells) μπορεί να σχετίζονται είτε με μόρια είτε με υποκελιά μεθυλενίου.  $UC_{mol}$ =unit cell of entire molecules και  $UC_{sub}$  = unit cell of methylene subcells

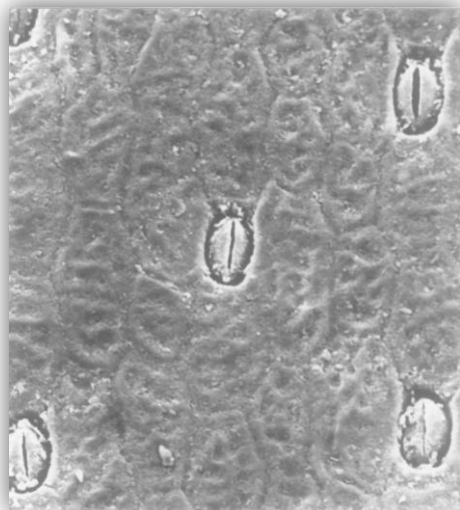


**Εικόνα 5.** Τα επιδερμικά κύτταρα συνήθως δεν ταιριάζουν ακριβώς μεταξύ τους, αλλά αφήνουν μικρά κενά ενδιάμεσα των μεμονωμένων κυττάρων. Αυτά τα κενά μεταξύ μεμονωμένων κυττάρων, που γεμίζουν με «τάπες» εφυμενίδας, καλούνται «αντικλινικά» τοιχώματα. Οι εφυμενίδες σχηματίζουν ένα τέλειο φυσικό ιδιάζον χαρακτηριστικό στην επιδερμίδα με τα αντικλινικά τοιχώματα να αντικατοπτρίζουν το κυτταρικό μοτίβο της εκάστοτε επιδερμίδας. Κάθε είδος φυτού έχει το δικό ειδικό επιδερμικό μοτίβο. Επίσης οι εφυμενίδες καλούνται δίκαια και ως το αποτύπωμα του φυτού.

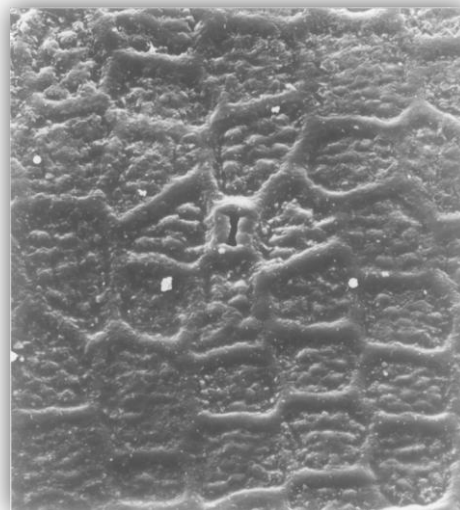
Η ανακάλυψη αυτής της πλούσιας πηγής πληροφοριών για δυναμική ταξινομική χρήση ακολουθήθηκε από μία ομάδα εξονυχιστικών πειραμάτων όπως ανατομικές και φυτολογικές μελέτες, και διασταυρώσεις ειδών. Παρατηρήσεις σε δείγματα που συλλέχθηκαν από τον αγρό της *Aloe ferox* Miller και της *Aloe Africana* Miller, που εμφανίζουν πολύ ευρεία κατανομή, έδειξαν μικρή διαφορά στο ανάγλυφο των φύλλων τους (εικόνα 7). Πειράματα έδειξαν ότι αυτό το επιδερμικό ανάγλυφο είναι κάτω από στενό γενετικό έλεγχο. Σε πειράματα διασταύρωσης ανάμεσα σε διπλοειδή και τετραπλοειδή είδη έγιναν φανερά τα μέρη συγκεκριμένων χρωμοσωμάτων που κωδικοποιούν το κανονικό ανάγλυφο. Επιπρόσθετα πειράματα σύζευξης μεταξύ των *Aloe* με είδη από τις *Gasteria* και *Haworthia* επιβεβαίωσαν τον ισχυρό γενετικό έλεγχο των χαρακτηριστικών του επιφανειακού ανάγλυφου. Το ανάγλυφο του εφυμενιδικού στρώματος δύναται ως εκ τούτου να χρησιμοποιηθεί σαν διαγνωστικό εργαλείο, βοηθώντας την ταυτοποίηση των ειδών ή των ομάδων των παρόμοιων ειδών. Δύο παράγοντες έχουν σημαντικό ρόλο:

- ❖ Πρώτος είναι η συγγένεια. Στενά σχετιζόμενα είδη τείνουν να μοιράζονται παρόμοια επιδερμικά χαρακτηριστικά.
- ❖ Δεύτερος είναι η μερική γενετική προσαρμογή στο περιβάλλον. Κανονικά αυτό εκφράζεται με αύξηση της σκληρότητας της επιφάνειας σε ευθεία αναλογία με την ικανότητα των ειδών να αντέχουν ολόένα και πιο ξηρά περιβάλλοντα.

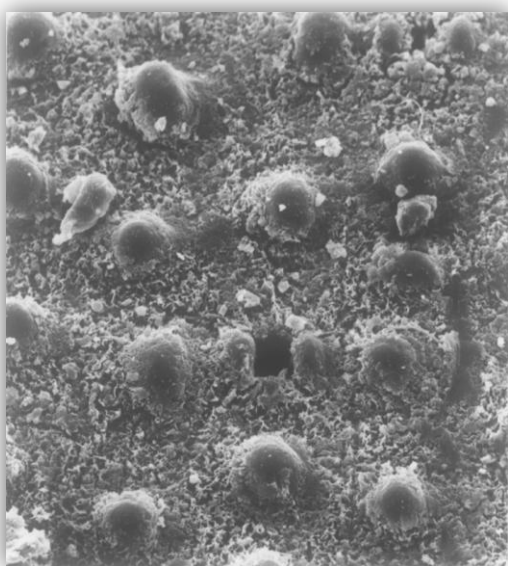
Και οι δύο παράγοντες επηρεάζουν την τελική εμφάνιση και μερικές φορές το πρώτο μπορεί να εμπεριέχεται στο δεύτερο, αφού η περιβαλλοντική προσαρμογή υπερισχύει τους χαρακτήρες της συγγένειας. Ακόμα και έτσι, κοιτάζοντας τις επιφάνειες κάτω από υψηλής ισχύος επι-φωτιστική μικροσκοπία φωτός ή καλύτερα SEM, είναι εύκολο να πούμε ποια είδη αλόης είναι συγγενικά (σχήμα 1).



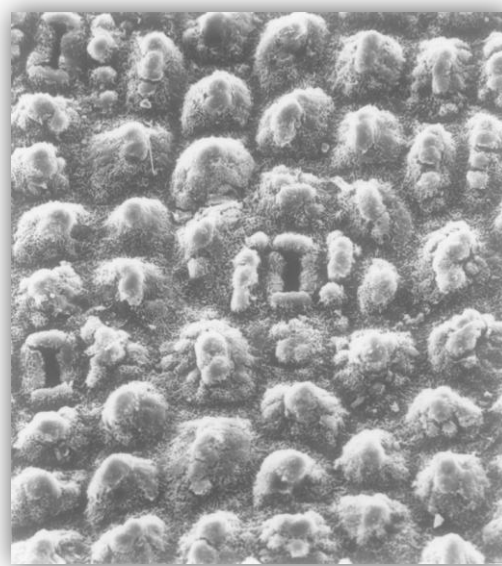
**Εικόνα 6.** *Aloe gracilis*: η ανατομία της επιφάνειας δείχνει επιφανειακά στόματα χωρίς προάγγελους λοβούς. Τα αντικλινικά τοιχώματα υποδεικνύονται από τα ρηγά αυλάκια. Η γλυπτική αποτελείται από αυλάκια ποικιλοτρόπως ενωμένα σε ένα χαλαρό δίκτυο.



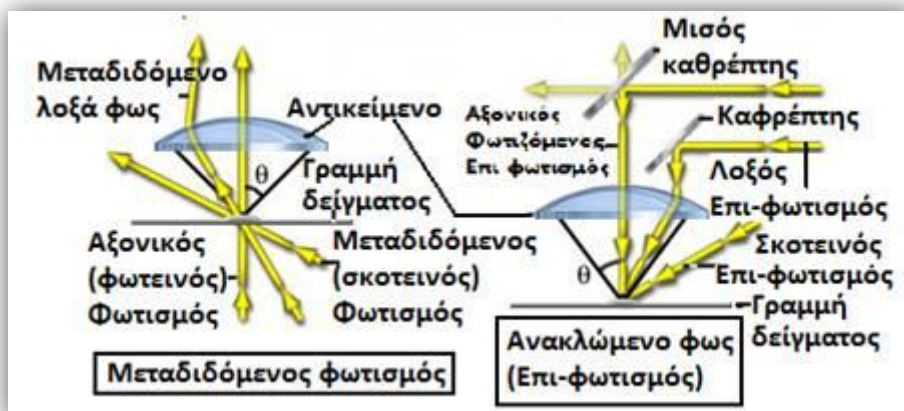
**Εικόνα 7.** *Aloe africana*: η επιφάνεια του φύλλου με τις ανυψωμένες κορυφογραμμές πάνω από τα αντικλινικά τοιχώματα και μικροεκφύματα. Το στόμα είναι βαθιά βυθισμένο ενώ οι τέσσερις τριγύρω λοβοί του σχεδόν απορροφούν την κοιλότητα άνω των κυττάρων-φυλάκων.



**Εικόνα 8.** *Aloe pegleri*: η επιφάνεια του φύλλου με τα αμέτρητα σωματίδια κήρου που επισκιάζουν την γλυπτική της επιφάνειας. Κάθε επιδερμικό κύτταρο έχει ένα διακεκριμένο κεντρικό έκφυμα και οι λοβοί που τριγύρω του στόματος είναι καλώς αναπτυγμένοι. Μεγέθυνση×300



**Εικόνα 9.** *Aloe mutabilis*: η επιφάνεια του φύλλου, με κάθε επιδερμικό κύτταρο να έχει θολωτό το εξωτερικό μέρος του τοιχώματος με τα μικρότερα μικροεκφύματα να περιβάλλουν τα μεγαλύτερα. Οι λοβοί που περιβάλλουν τα βυθισμένα στόματα είναι καλώς αναπτυγμένοι. Τα σωματίδια κήρου φαίνονται να καλύπτουν την επιφάνεια. Μεγέθυνση×300



**Σχήμα 1.** Ο επι-φωτισμός προσφέρει πολλά πλεονεκτήματα για την ανάλυση της ανατομίας των φύλλων. Τα περισσότερα δείγματα είναι αδιαφανή και έτσι ο μεταδιδόμενος φωτισμός καθίσταται ανήμπορος για την ανάλυση της ανατομίας.

Τα στόματα είναι συνήθως βαθιά βυθισμένα σε είδη τα οποία μεγαλώνουν κανονικά σε εκτεθειμένα περιβάλλοντα με έλλειψη νερού. Τα στόματα περιβάλλονται από τέσσερις καλώς αναπτυγμένους λοβούς, ένας για καθένα από τα τέσσερα γειτονικά επιδερμικά κύτταρα. Κάτω απ' αυτό είναι μία ελλειπτική, θολωτή δομή με μία αξονική σχισμή σε αυτήν. Αυτή αποτελείται από την εφυμενίδα. Μόνον όταν κοιτάζουμε βαθιά μέσα στο στόμα όντως παρατηρούμε τα κύτταρα φρουρούς, και το άνοιγμά τους που μπορεί να ανοίγει ή να κλείνει, ανάλογα με τις επικρατούσες συνθήκες.

Είναι εύκολο να ανιχνεύσουμε αυτά τα είδη που μεγαλώνουν σε περιοχές με μεγαλύτερη υγρασία, όπως την *Aloe haemanthifolia*, που αποτελεί ένα είδος που μεγαλώνει ανάμεσα στα χορτάρια και άλλη βοτανοειδή βλάστηση και ακόμη την *Aloe ciliaris* Haw., ένα είδος που αναρριχάται μέσα από θάμνους και δέντρα σε πλευρές πόταμων, από την στιγμή που τα στόματά τους δεν είναι βυθισμένα και δεν έχουν κυρίαρχους λοβούς.

Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών επιβεβαίωσαν ότι το επιφανειακό ανάγλυφο των φύλλων της αλόης θα μπορούσε με ασφάλεια να χρησιμοποιηθεί για να:

- βοηθήσει στον προσδιορισμό στείρων φυτών ή κλασμάτων φύλλων,
- προσδιορίσει τις σχέσεις μεταξύ των ειδών και
- παράσχει μερικές πληροφορίες σχετικά με τις προτιμήσεις σε περιβάλλον κατοικίας των αλόων.

Οι εικόνες 6 έως και 9 απεικονίζουν ορισμένα παραδείγματα από ένα μεγάλο εύρος των επιφανειακών χαρακτηριστικών. Μερικά δείχνουν την ομοιότητα μεταξύ των γειτονικών ειδών ενώ άλλα δείχνουν την εντυπωσιακή προσαρμοστικότητα τους στις επιλογές του περιβάλλοντος. Πρέπει να σημειωθεί ότι το ανάγλυφο της εφυμενίδας μερικές φορές είναι αφανές λόγω της επιφάνειας του κήρου. Η τελευταία δύναται να αφαιρεθεί χημικά για την αποκάλυψη του ανάγλυφου κάτω απ' αυτήν, αλλά μπορεί και να χρησιμοποιηθεί ακατέργαστη για διαγνωστικούς σκοπούς και να παρέχει επιπλέον πληροφορίες και στοιχεία για την ταυτότητα ενός φυτού που στερείται λουλουδιών.





**Εικόνα 10.** Η Aloe vera είναι πολύ διάσημη στην Βενεζουέλα αφού θεωρείται να απομακρύνει την κακή τύχη.

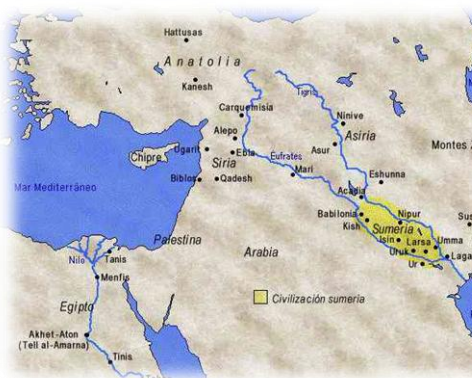


**Εικόνα 11.** Στο Μεξικό η μορφή της Παναγίας συνδέεται στενά με την Aloe vera.

## 5. Η λατρεία της *Aloe vera*

Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι οι αρχαίοι άνθρωποι κατηγοριοποιούσαν τα φυτά. Ωστόσο, τα ταξινομημένα εις την λαϊκή εκδοχή σύνολα φυτών που χρησιμοποιούσαν ήταν πολύ πιο απλά και πιο εύρωστα από τα σύγχρονα. Τυπικές νοητικές κατηγορίες στις οποίες τα φυτά τοποθετήθηκαν βασίστηκαν στην χρησιμότητά τους, όπως σαν πηγές φαγητού ή δομικά υλικά κτιρίων ή και ακόμη αν ήταν δηλητηριώδη ή αν μπορούσαν να αποτελέσουν μέσο λατρείας –εικόνες 10 και 11- .

Τα είδη της πραγματικής αλόης, ειδικότερα τα ευρύτερα γνωστά και χρησιμοποιήσιμα σαν *Aloe vera* (L.) Burm.f., αναμφίβολα θα είχαν συμπεριληφθεί στην πρώτη προαναφερθείσα κατηγορία. Οι καταπληκτικές θεραπευτικές ιδιότητες των χυμών του φύλλου της αλόης ήταν για πολύ καιρό γνωστές και εφαρμόστηκαν πριν και κατά την διάρκεια των βιβλικών χρόνων. Μία χρήση ήταν σαν ταριχευτική αλοιφή. Ωστόσο, όπως με όλα τα φυτά, έτσι και η επίσημη ταξινόμηση των φυτών της αλόης χρονολογείται μόλις το 1753 όταν ο Linnaeus πρότεινε το γενετικό-φυλετικό σύστημα κατηγοριοποίησης φυτών βασιζόμενος πρωτίτερα στον αριθμό των στημόνων και ύπερων άνθους του λουλουδιού. Από την στιγμή που τα είδη αλόης διέθεταν 6 στήμονες και έναν μοναδικό ύπερο, ταίριαζαν άνετα στην εξανδρία Μονογονίας του Linnaeus. Στήμονας είναι το αρσενικό αναπαραγωγικό όργανο στα σπερματόφυτα και ύπερος είναι το αντίστοιχο θηλυκό όργανο. Η τεχνική του συστήματος του Linnaeus ήταν ευρύτερα συνειδητοποιήσιμη και μεταξύ του 1753 και αρχών του 1800 πραγματοποιήθηκαν διάφορες προσπάθειες της φυσικής ταξινόμησης των φυτών, κατηγοριοποιώντας τα έτσι ώστε να αντανάκλουν τις όποιες ομοιότητες. Οι αλόες και οι συγγενείς τους επίσης ομαδοποιήθηκαν με αυτές τις προτάσεις και αντίκρισαν έναν αριθμό από οικογενειακές ανασχηματίσεις για πάνω από 250 χρόνια. Επιπροσθέτως, η οριοθέτηση του γένους της αλόης και το περίγραμμα των ειδών της ήταν επίσης το θέμα του ταξινομικού επιχειρήματος. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται ιστορικά στοιχεία σχετικά με την πορεία της Aloe vera στον χρόνο.



### Σουμέριοι (2200 π.Χ.)

Από τους πρώτους πολιτισμούς της γης, από τους οποίους βρέθηκαν επιγραφές σε άργιλο της *Aloe vera* σαν φάρμακο. Τα ολόκληρα φύλλα αλόης χρησιμοποιούνται σαν καθαρτικά.

ΠΗΓΗ ΕΙΚΟΝΑΣ: <http://www.cdagro.com/history/sumerian.html>



### Αιγύπτιοι (1550 π.Χ.)

Με την ανακάλυψη του πάπυρου Ebers βρέθηκε ότι η αλόη χρησιμοποιούταν σε φύλλα με μίξη με άλλους θεραπευτικούς παράγοντες. Δώδεκα συνταγές χρησιμοποιήθηκαν για εσωτερική και εξωτερική χρήση. Επίσης η Κλεοπάτρα περί το 68 π.Χ. παρέμεινε για πολύ καιρό το ιδανικό της ομορφιάς χάριν στην *Aloe vera*. Εν συνεχεία η Νεφερτίτη, σύζυγος Αιγύπτιου φαραώ είναι ένα ακόμη δείγμα για την καλλυντική και ανανεωτική δράση της πραγματικής αλόης. Χαρακτηριστικό είναι ότι καλούσαν την *Aloe vera* ως «το φυτό της αθανασίας».

ΠΗΓΗ ΕΙΚΟΝΑΣ:

[http://www.nlm.nih.gov/hmd/ breath/breath\\_exhibit/MindBodySpiri t/IBa18.html](http://www.nlm.nih.gov/hmd/ breath/breath_exhibit/MindBodySpiri t/IBa18.html)



### Ασία (400 π.Χ.)

Τα φύλλα της αλόης ως επεξεργασμένο προϊόν εξάγονται στην Ασία. Ολόκληρο το φύλλο χρησιμοποιείται για εσωτερική χρήση. Γίνεται εμπορική ανάπτυξη από τους Άραβες σε όλη την δυτική Ασία.



### Αλέξανδρος ο Μέγας (356-323 π.Χ.)

Ο μεγάλος κυβερνήτης της ιστορίας, ήταν γνωστό, ότι μετέφερε *Aloe vera* στα πεδία των μαχών για ιατρική χρήση στους τραυματισμένους στρατιώτες. Ήταν γύρω στα 333 π.Χ. που ο Αλέξανδρος υποκινήθηκε από τον μεγάλο δάσκαλό και μέντορά του Αριστοτέλη και κυριέψε το νησί της Σοκότρα στον Ινδικό ωκεανό. Θεωρείται ότι ο κύριος λόγος για αυτήν την πράξη ήταν οι μεγάλες ποσότητες *Aloe vera* του νησιού.



### Διοσκουρίδης (41-68 π.Χ.)

Ο μεγάλος Έλληνας δάσκαλος της ρωμαϊκής φαρμακολογίας, αφότου ταξίδεψε με όλους τους μεγάλους στρατούς της Ρώμης, κατέγραψε την πρώτη λεπτομερή περιγραφή του φυτού *Aloe vera* και απέδωσε στους χυμούς της «την δύναμη του συσχετισμού και της πρόκλησης του ύπνου». Σημείωσε ότι «χαλαρώνει την κοιλιά και καθαρίζει το στομάχι». Περιτταίρω προσέθεσε ότι ο πικρός χυμός όπως εξάγεται ήταν θεραπεία για τις αιμορροΐδες και βοηθούσε στην αποκατάσταση των μωλώπων, έκανε καλό στις αμυγδαλές, τα ούλα, το λαιμό και στις γενικές στοματικές ενοχλήσεις. Επίσης λειτουργούσε σαν θεραπεία για τα μάτια, τα εγκαύματα, καταπράυνε τον κνησμό στο ξηρό δέρμα και τα πληγωμένα γεννητικά όργανα.



### Πλίνιος ο Πρεσβύτερος (23-79 μ.Χ.)

Ο Γάιος Πλίνιος Σεκούνδος, γνωστότερος ως Πλίνιος ο Πρεσβύτερος, ρωμαίος παθολόγος επαναλαμβάνει γενικότερα τα συμπεράσματα του Διοσκουρίδη. Στην περιγραφή των φυτών, ο Πλίνιος μπόρεσε να συλλέξει αρκετές θεραπείες με βότανα. Προσθέτει ότι ο χυμός αλόης ελέγχει την αναπνοή και η βρασμένη ρίζα θεραπεύει τις πληγές των λεπρών.



### Γαληνός (200 μ.Χ.)

Η αλόη έχει γίνει ένα σημαντικό μέρος της ρωμαϊκής ιατρικής χρησιμοποιούμενη από παθολόγους όπως ο Γαληνός, Antyllus, Aretaces. Χρησιμοποιήθηκε στα πρότυπα του Διοσκουρίδη και του Πλίνιου με μερικές προσθήκες.



### Κίνα (700-800 μ.Χ.)

Το κινέζικο Materia Medica –κατά τα πρότυπα συγγραφής του Διοσκουρίδη- αναφέρει την πρώτη χρήση αλόης στην Κίνα. Οι κινέζοι αναφέρθηκαν στο φυτό ως Lu-hui που σημαίνει μαύρο κατακάθι ή Hsiang –Tsan που αναφέρεται στην πικρή γεύση της αλόης. Σημειώνεται η αξία της ως θεραπευτικού της κοιλότητας των οστών, του πυρετού και των σπασμών στα παιδιά. Επίσης θεωρείται και μια θεραπεία για δερματικές παθήσεις.

ΠΗΓΗ ΕΙΚΟΝΑΣ: <http://www.rxt.com.sg/tcm-tips.php>



### Αραβία (900 μ.Χ.)

Ο Al Kindi άραβας φιλόσοφος, μηχανικός και παθολόγος αναφέρει ότι η αλόη είναι μία αποτελεσματική θεραπεία για τον πόνο από εγκαύματα, τα έλκη των ματιών, την μελαγχολία και άλλα ιατρικά προβλήματα. Προσθέτει ότι η αλόη χρησιμοποιείται στο Ιράν και στην Αίγυπτο ως καθαρτικό, για τον καθαρισμό του πεπτικού συστήματος και αποτοξίνωσης ολόκληρου του σώματος.

ΠΗΓΗ ΕΙΚΟΝΑΣ:

<http://sciencereligionnews.blogspot.com/2010/09/new-book-on-al-kindis-works.html>

Συνεχίζοντας την ιστορική αναδρομή το 1000 με 1300 ο αποξηραμένος φυτικός χυμός και τα φυτά της αλόης γίνονται αποδεκτά ως θεραπευτικά μέσα σε ολόκληρη την Ευρώπη. Το 1300 με 1500 η επεξεργασμένη αλόη εισάγεται στην αγγλική ιατρική και χρησιμοποιείται σε όλα τα Βρετανικά νησιά ως καθαρτικό και για την θεραπεία από εξωτερικές πληγές και ασθένειες. Ο ξηρός φυτικός χυμός εισάγεται κυρίως από την Αφρική και τα νησιά Σοκότρα. Το 1500 με 1600 τα φυτά παρουσιάζονται στον Νέο Κόσμο από τους Ισπανούς κατακτητές και τους ιεραπόστολους. Φυτεύονται από τις Καθολικές ιεραποστολές και χρησιμοποιούνται εκτενώς από τους ιεραπόστολους και τον εγχώριο πληθυσμό ως θεραπευτικός παράγοντας στα νησιά της Καραϊβικής και την κεντρική και νότια Αμερική. Το φυτό αναπτύσσεται εμπορικά σε όλη την Καραϊβική από τους Ισπανούς στο νησί Barbados και από Ολλανδούς καλλιεργητές, κυρίως στο νησί Curacao. Ο φυτικός χυμός εξάγεται από φυτό και βράζεται.

- ⇒ Πρέπει να αναφέρουμε ότι το φυτό της *Aloe vera* και μερικά λίγα ακόμα είδη της οικογένειας των Αλοάκεων χρησιμοποιήθηκαν ανά αιώνες και συνεχίζουν να απολαμβάνουν ευρύτερης αποδοχής, όπως οι *Aloe arborescens*, *Aloe ferox*, *Aloe excelsa*. Αυτό συμβαίνει λόγω, αφενός της ιδιομορφίας του φύλλου αυτών να μην έχουν πολύ μυτερά ακάθια που τις καθιστά εύκολες στην συγκομιδή, και αφετέρου των πολύ μεγάλων και εύχυμων φύλλων που έχουν πολύ καλύτερες αποδόσεις από άλλα είδη της οικογένειας των αλόων.

Η πραγματική αλόη καταγράφεται επίσημα το 1820 σαν καθαρτικό και προστατευτική ουσία για το δέρμα από την Φαρμακοποιία των Ηνωμένων Πολιτειών (U.S.P.). Το 1990 το φυτό εξαπλώνεται στις θερμές περιοχές παγκοσμίως για τα θεραπευτικά οφέλη της και ως πηγή εμπορεύσιμου φυσικού χυμού ή επεξεργασμένης αλόης. Φρέσκο ή αφυδατωμένο ολόκληρο το φύλλο πωλείται για τραυματισμούς, από ακτινοβολίες συμπεριλαμβανομένων ελκών, των εγκαυμάτων, της δερματίτιδας και άλλων δερματικών παθήσεων. Το 1912 ο συνταγματάρχης H.W. Johnston καθιέρωσε το πρώτο εμπορικό Αμερικάνικο αγρόκτημα με *Aloe vera* στην Florida U.S.A. Από το 1934 αρχίζει η μελέτη του φυτού και η συγγραφή μελετών, με τις πρώτες να δίνουν έμφαση στις εφαρμογές του φυτού και λιγότερο στα συστατικά του φυτού. Το 1940-41 οι Rowe, Lovell και Parks επισημαίνουν την μαννόζη της αλόης ως κύριο θεραπευτικό συστατικό. Από τότε πολλές άλλες ομάδες συστατικών έχουν εντοπιστεί και μελετηθεί ως προς τις βιοχημικές τους δράσεις.



**Εικόνα 12. Carl von Linné (1707-1778)**

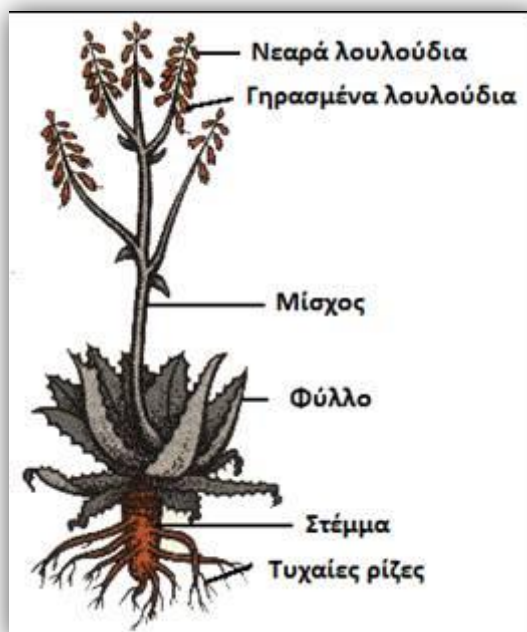
Ο «Πατέρας της Ταξινόμησης» γνωστός και σαν Carl Linnaeus ή Carolus Linnaeus. Χρησιμοποιεί τον όρο *Aloe perfoliata* var. *vera* το 1753, κατόπιν το 1768 ο Nicolaas Laurens Burman τον όρο *Aloe vera*, ενώ τελικά ο Philip Miller την κατονομάζει ως *Aloe barbadensis*. Το επιστημονικό της όνομα μέχρι και σήμερα είναι *Aloe vera* L. –L. από το Linnaeus- ενώ χρησιμοποιείται και το *Aloe barbadensis* Miller. Η ονομασία *barbadensis* πιθανόν να προκύπτει από την εξάπλωσή της στα νησιά Barbados.

ΠΗΓΗ ΕΙΚΟΝΑΣ: <http://shiftingpixel.com/2007/05/06/linnaeus-head-of-carl-von-linne-by-paul-granlund/>

## 6. Το φύλλο της *Aloe barbadensis* Miller

Η *Aloe vera* ανήκει στο είδος των Λιλιάκεων, που αποτελεί φυλή των Αλοϊνεάων, τα χαρακτηριστικά φυτά της οποίας είναι αιωνόβια και εύχυμα, συχνά δενδροειδή και κατέχουν σχήμα φύλλων τύπου ροζέτας. Η ροζέτα αναφέρεται στο κυκλικό περίγραμμα των φύλλων ως προς τις άκρες τους. Πολλά φυτά υιοθετούν αυτήν την σχηματοποίηση αφού έτσι είναι πολύ πιο

δύσκολο να αποκοπούν από την ρίζα τους αν και τα φύλλα τους συχνά αποκόπτονται εύκολα αφήνοντας την κύρια ρίζα ανέπαφη. Τα φύλλα όπως αναφέρθηκε είναι εύχυμα –σε διάφορους βαθμούς- με πολύ ιδιαίτερη ανατομία και φυσιολογία.



**Εικόνα 13.** Το φυτό της *Aloe vera*: μια συνολική θεώρηση

#### ✦ Τι εννοούμε με το όρο *Aloaceae*;

Ένα μεγάλο εύρος διαφορετικών κατηγοριοποιήσεων των *Aloaceae* έχουν προταθεί κατά την διάρκεια των περασμένων λίγων δεκαετιών και επτά γένη είναι ευρύτερα αποδεκτά. Αυτά τα είδη συνιστούν ένα φυσικό συνάθροισμα που διαφέρει δικαίως και με συνέπεια από αυτά που ανήκουν στο στενά συγγενικό είδος *Asphodelaceae* Juss. ως προς τα εμφανή εύχυμα φύλλα, το μυτερό περίγραμμα του φύλλου σε κάθε επίπεδο και τον αισθητό καρυότυπο τύπου  $2n=14$  χρωμοσωμάτων. Επιπλέον χαρακτηριστικά που ενοποιούν τα *Aloaceae* (=Αλοάκεια) είναι η παρουσία 1-μέθυλο-8-υδροξύανθρακινονών στις ρίζες και άνθρονο-C-γλυκοζίτες στα φύλλα, καθώς και στις αγγειακές δέσμες που περιέχουν το παρεγχυματικό εσωτερικό θηκάρι. Περιγράφοντας τα Αλοάκεια προβληματικά παρουσιάζονται τα γένη *Bulbine* Wolf και *Kniphofia* Moench των Ασφοδελάκων. Ειδικά παρόλο που μερικά από τα είδη *Bulbine* έχουν καρυότυπους και μορφολογίες όμοιες με ορισμένα Αλοάκεια, ωστόσο τα πρώτα έχουν μια κατανομή σε Αφρική και Αυστραλία, ενώ τα δεύτερα είναι απόντα από την αυστραλιανή ήπειρο εικόνα 14. Επίσης τα είδη *Bulbine* μπορούν να διαφοροποιηθούν εύκολα από τα Αλοάκεια στην βάση του ότι έχουν ανοιχτά, κίτρινα ή μόνο πολύ σπάνια, άσπρα ή πορτοκαλί λουλούδια, ελεύθερα τμημάτων περιανθίου, «γενειοφόρων» νημάτων και σε μερικά είδη του γένους απουσιάζει η παραγωγή νέκταρ. Λόγω αυτών των χαρακτηριστικών το γένος *Bulbine* δεν συμπεριλήφθηκαν ως συστατικό των Αλοάκων. Αντιθέτως με τα αντιπροσωπευτικά του *Bulbine* και των Αλοάκων η ευχυμότητα των φύλλων είναι εικονικά απύουσα στο *Kniphofia* με το *K.typhoides* Codd να είναι αξιοσημείωτη εξαίρεση. Στα κάτω θα αναφερόμαστε στο γένος *Bulbine*, *Kniphofia* ή όποιο άλλο σε ουδέτερο πρόσωπο, δηλαδή σε επίπεδο γένους. Έτσι λοιπόν θα αναφερόμαστε στα Βουλβίνια είδη του γένους *Bulbine*. Ακόμη τα Αλοάκεια είδη να είναι ισοδύναμη έννοια με την οικογένεια *Aloaceae*. Ο πίνακας 1 διασαφηνίζει τις σχέσεις διατάξεως στο φυτικό βασίλειο. Τα *Kniphofia* έχουν περίγραμμα φύλλου σχήματος-V σε κάθετο επίπεδο και τα αντιπροσωπευτικά του γένους έχουν βάση 6 χρωμοσωμάτων. Απ' την άλλη τα συναπόμορφα χαρακτηριστικά των σωληνοειδών λουλουδιών και η σύντηξη των τμημάτων

περιανθίου προτείνει την προφανή σχέση ανάμεσα στα *Kniphofia* και τα Αλοάκεα. Τα προκείμενα χαρακτηριστικά πιθανόν παρέχουν επαρκείς ενδείξεις για την δικαιολόγηση της επιλογής των *Kniphofia* σαν μια οικογένεια σχετιζόμενη των Αλοάκεων.

### ✚ Βασικές έννοιες ταξινόμησης φυτών

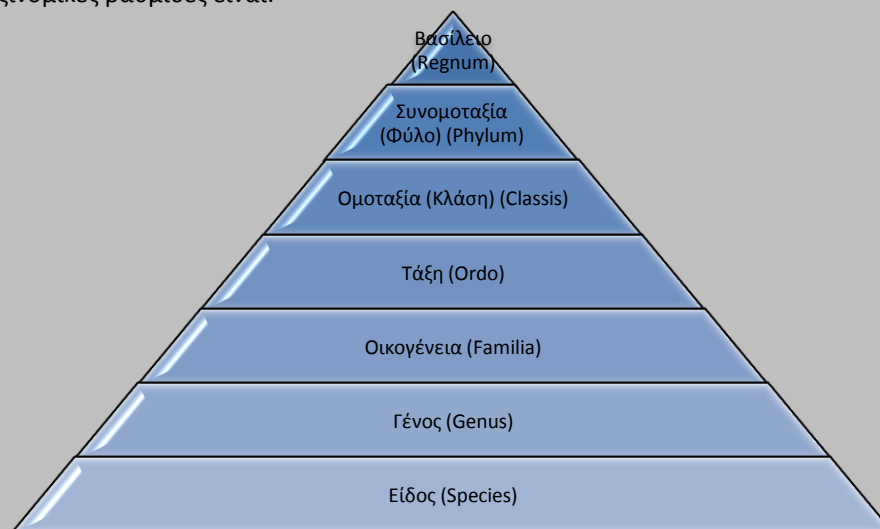
Οι βιολόγοι χρησιμοποιούν ένα σύστημα ταξινόμησης των οργανισμών, ένα τρόπο δηλαδή για να τους διαχωρίζουν σε ομάδες, ανάλογα με τα **μορφολογικά**, τα **φυσιολογικά** και τα **αναπαραγωγικά** τους χαρακτηριστικά. Η κατάταξη αυτή από τη μια βοηθά την καλύτερη μελέτη τους και από την άλλη, τη μελέτη της εξέλιξής τους.

Οι μεγαλύτερες ταξινομικές ομάδες είναι τα πέντε βασίλεια:

- ✓ Μονήρη (μονοκύτταροι - προκαρυωτικοί οργανισμοί: βακτήρια και κυανοφύκη)
- ✓ Πρώτιστα (μονοκύτταροι - ευκαρυωτικοί οργανισμοί: πρωτόζωα και φύκη)
- ✓ Μύκητες (ευκαρυωτικοί οργανισμοί με μεγάλη ποικιλία: μούχλες ή μανιτάρια)
- ✓ Φυτά
- ✓ Ζώα

Όταν ένας οργανισμός ταξινομείται, δίνεται σ' αυτόν ένα διπλό επιστημονικό όνομα, στη Λατινική γλώσσα, που περιέχει δυο λέξεις και έτσι κατατάσσεται σε μια ταξινομική ομάδα. Η πρώτη λέξη δηλώνει το γένος του οργανισμού και η δεύτερη το είδος του (κατά C. Linnaeus).

Οι βασικές ταξινομικές βαθμίδες είναι:

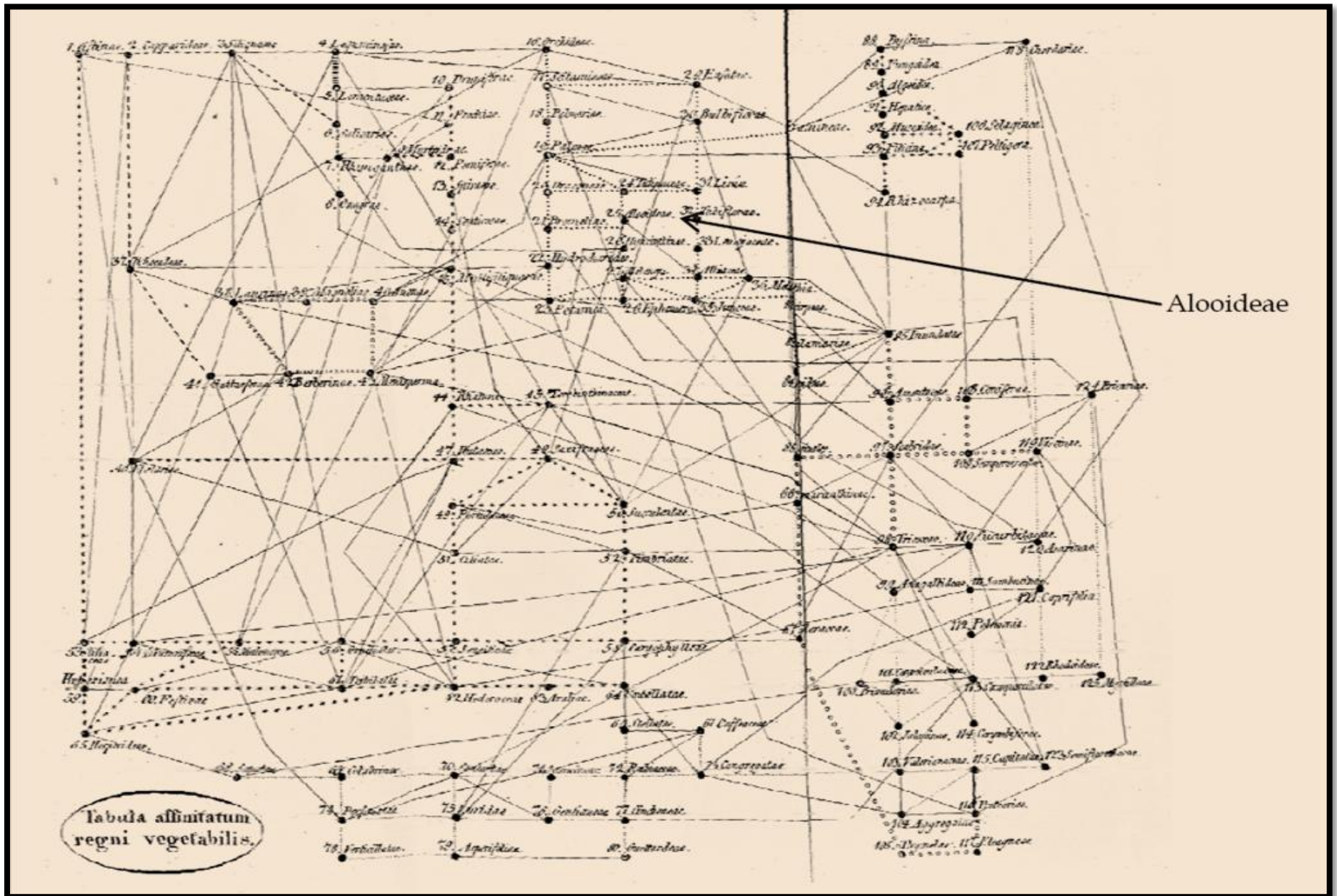


Καθώς προχωρούμε από το είδος προς το βασίλειο, το εύρος της ταξινομικής ομάδας αυξάνει, περιλαμβάνοντας όλο και μεγαλύτερο αριθμό οργανισμών ενώ οι μεταξύ τους ομοιότητές μειώνονται. Μεταξύ των οργανισμών ενός είδους δηλαδή υπάρχουν πολλές ομοιότητες και λίγες διαφορές σε αντίθεση με τους οργανισμούς μιας κλάσης ή πολύ περισσότερο ενός βασιλείου.

Για να κατατάξουμε κάποιους οργανισμούς στο ίδιο είδος, στηριζόμαστε σε δυο βασικές αρχές:

- τα άτομα του ίδιου είδους, παρά του ότι έχουν μια φυσιολογική ποικιλομορφία, εμφανίζουν μεταξύ τους ομοιότητες, που τα κάνουν να ξεχωρίζουν από τα άτομα άλλου είδους. Υπάρχουν δηλαδή διαφορές και μεταξύ των ατόμων του ίδιου είδους, όμως αυτές είναι πολύ λιγότερες από τις διαφορές μεταξύ των ατόμων διαφορετικών ειδών.
- οι ανώτεροι οργανισμοί που πολλαπλασιάζονται αμφιγονικά, για να ανήκουν στο ίδιο είδος, θα πρέπει να μπορούν να αναπαράγονται μεταξύ τους και να δίνουν γόνιμους απογόνους. Οργανισμοί που δε μπορούν να αναπαραχθούν ή αναπαράγονται και δίνουν στérους απογόνους, δεν κατατάσσονται στο ίδιο είδος.

(ΕΓΧΕΙΡΙΔΙΟ ΒΟΤΑΝΙΚΗΣ Βασικές γνώσεις - Φύλλα εργασίας, ΜΑΚΡΙΝΙΤΣΑ ΠΗΛΙΟΥ ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ 2007)



Στην προηγούμενη σελίδα φαίνεται το σύστημα οικογενειών του Batsch (1802) με την θέση των Αλοοιδών σ' αυτήν. «Contributions to the systematics and biocultural value of *Aloe L. (Asphodelaceae)*, Olwen Megan Grace BSc, BSc (Hons), BSc (Natal), Faculty of Natural and Agricultural Sciences (Department of Plant Science), University of Pretoria», March 2009

### ✦ Τι ουσιαστικά είναι ένα όνομα; Μια ιστορία ταξινόμησης

#### Ο Linnaeus και η γέννηση της σύγχρονης ταξινόμησης

Οι αρχαίοι Έλληνες και Ρωμαίοι ονομάτιζαν και κατηγοριοποιούσαν τους οργανισμούς, ειδικότερα αυτούς που ήταν χρήσιμοι σε αυτούς. Είχαν ονόματα για φαρμακευτικά φυτά και για ζώα που κυνηγούσαν καθώς και για αυτά που φοβούνταν. Αυτή η παράδοση πραγματοποιήθηκε στην βόρεια Ευρώπη, όπου η ονομασία των φυτών γινόταν από βοτανολόγους. Το 1597 ο Άγγλος John Gerard έγραψε ένα βιβλίο με βότανα, ένα από τα πρώτα που γραφόταν ολοκληρωτικά στην αγγλική γλώσσα, το οποίο και περιέγραφε τα φυτά που ήταν χρήσιμα στους γηγενείς ανθρώπους του περιβάλλοντός του. Ανάμεσα σε αυτά ήταν και η πατάτα, η οποία εκείνες τις μέρες εθεωρείτο λανθασμένα ότι προέρχεται από την Virginia των Ηνωμένων Πολιτειών-στην πραγματικότητα κατάγεται από το Περού-. Το βιβλίο του επίσης περιείχε μια αναφορά στην ντομάτα, η οποία ήταν γνωστή σαν «το μήλο της αγάπης» ή *roma amoris*.

Αυτό είναι ένα παράδειγμα ενός από τα πρώτα προβλήματα της ονομασίας των οργανισμών. Τα ονόματα αλλάχθηκαν με την χρήση -η *roma amoris*, το μήλο της αγάπης, άρχισε την ζωή της είτε σαν *roma di Mori*, δηλαδή το μήλο των Μαυριτανών, ή *roma di ori*, δηλαδή το χρυσό μήλο-. Με την πάροδο του χρόνου, η καθομιλουμένη γλώσσα έγινε διεφθαρμένη στο *roma amoris* και η ντομάτα θεωρήθηκε να είναι ισχυρά αφροδισιακό.

Περίπου τον ίδιο χρόνο, στο τέλος του 16<sup>ου</sup> αιώνα, άρχισε η επιστήμη των ονομάτων. Στα φυτά και στα ζώα αποδίδονταν μακριά λατινικά ονόματα με πολλούς όρους. Σε εκείνη την περίοδο τα λατινικά ήταν η γλώσσα των λογίων και ως εκ τούτου ήταν μία λογική επιλογή για την ονομασία των φυτών – αλλά και των άλλων τεσσάρων βασιλείων-. Για παράδειγμα, στην πατάτα είχε δοθεί το όνομα *Solanum caule inermi herbaceo, foliis pinnatis incisae*, που σημαίνει το γένος *Solanum* με ένα μαλακό στέμμα το οποίο είναι ποώδες και έχει χαραγμένα φτεροειδή φύλλα.

Τον 18<sup>ο</sup> αιώνα, οι άνθρωποι δούλευαν με φυτά και ζώα και προσπαθούσαν να τα ονομάσουν επίσημα, και να χρησιμοποιήσουν συνεπή ονόματα. Αυτό έγινε αυξανόμενα προβληματικό καθώς η ποικιλότητα αυξήθηκε. Αρχικά, μόνο τοπικοί οργανισμοί ήταν γνωστοί αλλά καθώς ανακαλύφθηκαν και εξερευνήθηκαν νέα εδάφη, ο Νέος Κόσμος, το σύστημα ονομασίας έγινε ολόένα και πιο περίπλοκο. Για παράδειγμα μερικοί από τους ιερείς των Ιησουϊτών που συνόδευαν τον Pizarro όταν κατέλαβε τους Ίνκας αποφάσισαν ότι θα πρέπει να υπάρχουν δύο κήποι της Εδέμ λόγω της παραγωγής λαχανικών από τις Άνδεις που ήταν διαφορετική από αυτή της Ισπανίας. Πολλές παρόμοιες θεωρίες αφθονούσαν σε εκείνη την εποχή λόγω της δυσκολίας να εξηγηθεί η ποικιλομορφία που είχε παρατηρηθεί από τους βιβλικούς χρόνους.

#### Ο Linnaeus και ο νέος τρόπος ονομασίας

Στα μέσα του 1700 έναν νέος Σουηδός γιατρός, ο Carolus Linnaeus, πραγματοποίησε ένα ταξίδι στην Λαπωνία. Ο ίδιος ήταν ένας πανέξυπνος και περίπλοκος άνδρας, αλλά και ένας από τους πιο αλαζόνες



ανθρώπους στην ιστορία των επιστημών. Αργότερα στην ζωή του ισχυρίστηκε ο ίδιος ότι: «κανένας άνθρωπος δεν είχε μετασχηματίσει την επιστήμη σε τέτοιο βαθμό όπως εγώ έκανα». Η αλαζονεία του ήταν σε έναν βαθμό, αιτιολογημένη.

Ο Linnaeus ήταν ένας γιατρός, όπως όλοι οι βοτανολόγοι σε εκείνη την εποχή. Μέχρι πρόσφατα, όλη η ιατρική είχε βασιστεί στην βοτανολογία και οι γιατροί έπρεπε να σπουδάσουν περί βοτάνων με σκοπό να μάθουν αυτήν την δεξιότητα. Έτσι η βοτανολογική ταξινόμηση πήγασε από την ανάγκη των γιατρών να ταυτοποιήσουν τα φυτά σωστά. Ο Linnaeus διατηρούσε δείγματα φυτών στον δικό του βοτανικό κήπο. Ήταν έκπληκτος από τα φυτά του κόσμου και συχνά ταξίδευε για να εξετάσει τις συλλογές των άλλων ανθρώπων.

Ο Linnaeus ενδιαφερόταν όχι μόνο για τα φυτά αλλά και για όλους τους ζώντες οργανισμούς. Συνέλλεξε μία μεγάλη ποικιλία από φυτά και ζώα και άρχισε να εξετάζει ένα σύστημα για την φύση. Προσπαθούσε να περιγράψει όλα εκείνα τα πράγματα που είχε τοποθετήσει στην γη από τον Δημιουργό, και ως εκ τούτου προσέγγισε την ταξινόμηση με την σιωπηρή παραδοχή ότι αυτή του η δουλειά ήταν περατή.

Κατά την διάρκεια των εργασιών του, ο Linnaeus, έκανε δύο κρίσιμης σημασίας πράγματα για την ανάπτυξη της ταξινόμησής του. Πρώτα προσπάθησε να επινοήσει το ό,τι ήταν γνωστό για το φυλετικό σύστημα. Αντί να θεωρεί το φυτό σαν ολότητα, όπως έκαναν οι βοτανολόγοι, επικεντρώθηκε σε ένα συγκεκριμένο χαρακτηριστικό. Άρα η οργάνωσή του για όλα τα φυτά ήταν σύμφωνα με αυτό το χαρακτηριστικό. Οι χαρακτήρες λοιπόν που επέλεξε ήταν ο αριθμός των στημόνων, τα αρσενικά μέρη και ο αριθμός των ύπερων άνθους, τα θηλυκά μέρη. Αυτό ήταν επίμαχο ζήτημα, στο σημείο μάλιστα που κατηγορήθηκε ότι είναι ένας βοτανικός πορνογράφος! Οι αντίπαλοί του κριτίκαραν το σύστημά του σαν απεχθή πορνεία (*scortationes quasi destabiles*). Θεωρήθηκε ότι οι κυρίες δεν θα έπρεπε ελεύθερα να κοιτάζουν τα σεξουαλικά όργανα των φυτών. Αλλά παρόλη την αποδοκιμασία για το θέμα του σεξουαλικού συστήματος, το ίδιο γρήγορα άρχισε να εφαρμόζεται λόγω του ότι ήταν πολύ προσβάσιμο και ευθύ. Παρουσίαζε τον εκδημοκρατισμό της επιστήμης στο σημείο που ο καθένας, που δεν είναι κατ' ανάγκη ειδικός θα μπορούσε να κοιτάζει ένα λουλούδι και να μετρά τον αριθμό των αρσενικών και θηλυκών μερών.

Με αυτόν τον τρόπο ο Linnaeus έκανε το πρώτο βήμα από τις μεγάλες προόδους της ανθρωπότητας, στην δημιουργία της επιστήμης της ταξινόμησης. Το δεύτερο μεγάλο επίτευγμα συνέβη ως ατύχημα. Το 1753 δημοσίευσε ένα βιβλίο με το όνομα *Species Plantarum* το οποίο ήταν μια λίστα, οργανωμένη σύμφωνα με το σεξουαλικό σύστημα, για όλα τα φυτά που ήταν γνωστά στον Linnaeus μέχρι εκείνη την στιγμή. Ήταν μια πολύ εκκεντρική συλλογή της πανίδας, και ένα οδηγός στο φρέσκο πεδίο της ταξινόμησης για όλα τα φυτά του κόσμου. Στο βιβλίο του έκανε κάτι που ήταν τελείως ανατρεπτικό στον τρόπο ονοματολογίας των φυτών.

### **Η γένεση της διωνυμίας**

Μέχρι το 1753, τα φυτά χαρακτηρίζονταν από πολυωνυμία με λατινικά ονόματα. Με την ανακάλυψη όλο και περισσότερων ειδών, ειδικά στον Νέο Κόσμο αυτή η πολυωνυμία γινόταν μακρύτερη κάνοντας την ίδια την χρήση των φυτών αδύνατη. Έτσι ο Linnaeus επίσης έδωσε ένα τετριμμένο όνομα για κάθε φυτό, ένα διωνύμιο που αποτελείται μόνο από δύο ονόματα. Η ιδέα ήταν ότι αυτό το τετριμμένο όνομα θα ήταν εύκολο να κρατείται στην μνήμη και να ενεργοποιεί την μνήμη του πολυωνυμικού αλλά σωστού ονόματος ενός φυτού.

Τα διωνυμικά ονόματα είναι τόσο εύκολο να κρατούνται στην μνήμη των ανθρώπων, που το ευρύ κοινό άρχισε να τα χρησιμοποιεί στην θέση των παλιών "σωστών" ονομάτων. Τελικώς αντικατέστησαν την πολυωνυμία εντελώς, και τα ονόματα του Linnaeus "έγιναν τα πλέον σωστά". Το διωνυμικό σύστημα είναι το ίδιο με αυτό που χρησιμοποιούμε σήμερα και είναι με αυτό-το σύστημα- που όλα τα επιστημονικά ονόματα των οργανισμών είναι δομημένα. Το πρώτο όνομα είναι αυτό του γένους και είναι πάντα με κεφαλαίο το πρώτο γράμμα. Το δεύτερο μέρος του ονόματος καλείται το επίθεμα του είδους και γράφεται με μικρά. Σε σωστή μορφή του ένα επιστημονικό όνομα έχει και το όνομα του ανθρώπου μετά από το είδος και αναφέρεται σε αυτόν που πρώτος ανακάλυψε το φυτό.

Παράδειγμα το οποίο υποστηρίζει αυτό προέρχεται από την Αυστραλία. Εκεί η διαχείριση θεραπευτικών αγαθών (TGA- Therapeutic Goods Administration) προσδιορίζει ότι το Αποδεκτό Όνομα Αυστραλίας (AAN Australian Approved Name) πρέπει να χρησιμοποιείται όταν ένα βοτανοειδές υποστρώμα είναι συστατικό ενός προϊόντος που βρίσκεται στην λίστα του ARTG (Australian Register of Therapeutic Goods). Εκεί ορίζεται ότι δεν είναι όλα τα βοτανοειδή υποστρώματα υποχρεωτικό να είναι στην αυστραλιανή λίστα προϊόντων ή διαθέσιμα για πώληση σαν πρώτες ύλες (ξηρές σκόνες, υγρό εκχύλισμα ή διάλυμα φαρμάκου-βάμμα). Έτσι σύμφωνα με το AAN ισχύει σε επίπεδο επιστημονικού ονόματος η παρακάτω σχέση:

*Aloe vera* ≠ *Aloe barbadensis* Miller  
(άκυρο όνομα ≠ αποδεκτό κατά AAN)

Τα ζώα συχνά αντικατοπτρίζουν τις φυσικές τους τάσεις, γεγονός που είναι χρήσιμο για την απομνημόνευση τους και για την παροχή βασικής περιγραφής τους. Μερικές φορές εκείνοι που αποδίδουν τα ονόματα κάνουν λάθη, όπως το *Solanum arboreum* που ακούγεται σαν να είναι ένα δέντρο, στην ουσία είναι ένας μικρός θάμνος που μεγαλώνει μόνο 45,7 cm. Ο Linnaeus έδωσε επίσης και στο είδος μας το όνομά του, *Homo sapiens*, που σημαίνει τον σκεπτόμενο άνθρωπο –το αν αυτό το όνομα είναι κατάλληλο είναι φυσικά ένα ζήτημα υποκειμενικό-.

Ονόματα χρησιμοποιούνταν επίσης για να τιμήσουν τους ανθρώπους. Αυτή η πρακτική μερικές φορές μπορεί να οδηγήσει σε δυσκίνητα ονόματα όπως το φυτό *Rahowardiana wardiana* D' Arcy (που ονομάστηκε από τον μέντορα της συγγραφέως αυτού του άρθρου, Sandra Napp), έπειτα από δύο μέντορές του R.A.Howard και D.B.Ward. Ο Linnaeus ήταν εξαιρετικά λάτρης των ονομάτων φυτών μετά από τους ανθρώπους. Ονόμασε το γένος *Magnolia* προς τιμήν του Γάλλου Huguenot βοτανολόγου Pierre Magnol, που σεβόταν απεριόριστα και το γένος *Sigesbeckia*, ένα μικρό έρπον βοτανοειδές φυτό που μεγαλώνει σε λάσπη ονομάστηκε από τον κύριο κριτικό του Linnaeus, Johann Siegesbeck, με τον οποίο ο Linnaeus φιλονικούσε.

(What's in a name? A history of taxonomy, Sandra Napp, Natural History Museum)

### **Αλλάζοντας βοτανικά ονόματα**

Είναι ένα γεγονός να γνωρίζουμε ένα όνομα βοτάνου, αλλά η γνώση αυτή ελλοχεύει τον κίνδυνο ότι το όνομα μπορεί να αλλάξει! Ένα βοτανικό όνομα συχνά συμβαίνει να αλλάζει σαν αποτέλεσμα των εξελίξεων στην επιστημονική γνώση ή επειδή αποτελεί διαμάχη την ταξινόμια. Πολλά υπάρχοντα συστήματα είναι τεχνητά, λόγω του ότι αντανάκλουν τις απόψεις μεμονωμένων ταξινομών, παρόλη της απουσίας προσπάθειας για διερεύνηση ενός μοτίβου στον τρόπο που τα φυτά, στην πραγματικότητα, εξελίχθηκαν και το πώς σχετίζονται το ένα με το άλλο. Η πλειονότητα των αλλαγών στο όνομα συμβαίνουν όταν ένα φυτό μεταφέρεται από μία κατηγορία σε μία άλλη, όπως συμβαίνει σε είδη που μετακινούνται από το ένα γένος σε κάποιο άλλο. Το όνομα του φυτού μπορεί επίσης να

αλλάξει λόγω προηγούμενων εσφαλμένων ταυτοποιήσεων ή λόγω του ότι το όνομα δεν βρίσκεται σε συμφωνία με τους προκειμένους βοτανολογικούς κανόνες. Άλλες αλλαγές, που δεν θα ληφθούν υπόψη σε λεπτομέρεια, είναι η αλλαγή του γένους από την μία οικογένεια σε μία άλλη, όπως στον διαχωρισμό ή στην ανασυγκρότηση της οικογένειας. Συχνά η κατάσταση δεν έχει ακόμα αποφασιστεί, όπως στα παρακάτω παραδείγματα:

- ? Είναι το γένος *Rehmannia* στην *Scrophulariaceae* ή *Gesneriaceae* οικογένεια,
- ? Είναι το γένος *Hydrastis* μέρος στην *Ranunculaceae* ή *Hydrastidaceae* οικογένεια και
- ? Ανήκει το γένος *Aloe* στην *Liliaceae*, *Aloaceae* ή *Asphodelaceae* οικογένεια.

Τα Αλοάκεα είναι στοιχειωδώς ένα γένος του παλιού κόσμου με τα περισσότερα είδη αυτών να παρατηρούνται σε γειτονικές περιοχές της Σαχάρας αλλά και σε όλη την Αφρική. Το γένος της αλόης απαντάται επίσης στην Αραβική χερσόνησο, την Μαδαγασκάρη και Σοκότρα, ενώ τα σαρκώδη φυτά παράγοντα φρούτων *Lomatophyllum* Willd. έχουν αναφερθεί στα νησιά Aldabra –στα νοτιοδυτικά της Αφρικής-, στην Μαδαγασκάρη και στον Μαυρίκιο.

Η οικογένεια των Αλοάκεων κατά τον Batsch (1802) διαθέτει τα κάτωθι χαρακτηριστικά. Πρώτον δίδει στην οικογένεια που ανήκει και η *Aloe vera* το όνομα *Aloaceae*. Η οικογένεια αποτελείται από εύσωμους, απλούς ή με φειδώ διακοσμημένους θάμνους ή διακλαδισμένα εύσωμα δέντρα έως μερικά μέτρα ύψος. Τα φύλλα στεφανώνουν τον κορμό ως διακλαδώσεις. Μερικές φορές τα φυτά έχουν ένα στητό, λεπτό, ξυλώδες και διακριτό στέμμα και στην κορυφή ένα τελικό στέμμα από φύλλα- παρόμοιο στέμμα με τον φοίνικα ως προς το σχήμα, αλλά με τελείως διαφορετικά φύλλα- ή συχνά με παχύ και μικρό στέμμα. Τα περισσότερο ή λιγότερο βοτανοειδή φυτά της οικογένειας προκύπτουν από ένα κοντό ρίζωμα ή εμφανίζουν ένα στητό και παχυλό στέμμα. Όλα τα προκείμενα μέλη εμφανίζουν πιθανόν τον κύκλο του κρασσουλάκεου οξέος, ενώ είναι κοινά τα κύτταρα που περιέχουν ραφίδια ή *raphides* σε τουλάχιστον μερικούς από τους ιστούς.

#### ✚ Περί ραφιδίων

Τα ραφίδια, αποτελούν μυτερούς κρυστάλλους, τύπου καρφίτσας, του οξαλικού ασβεστίου σαν μονοϋδρικό ή του ανθρακικού ασβεστίου σαν αραγονίτης και απαντώνται σε περισσότερα των 200 οικογενειών φυτών. Και στα δύο άκρα τους τα ραφίδια είναι τύπου καρφίτσας, αλλά τείνουν να είναι πιο αμβλεία στο ένα άκρο τους και να συγκλίνουν το ένα με το άλλο.

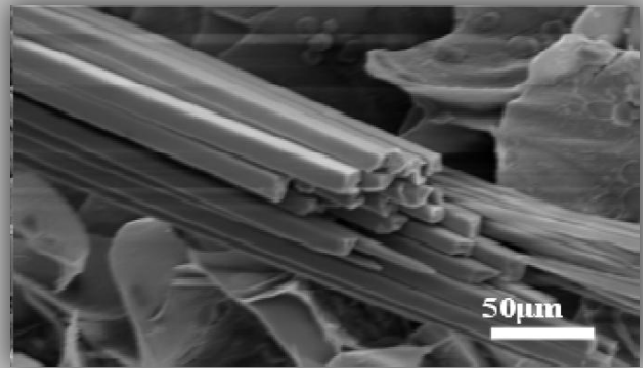
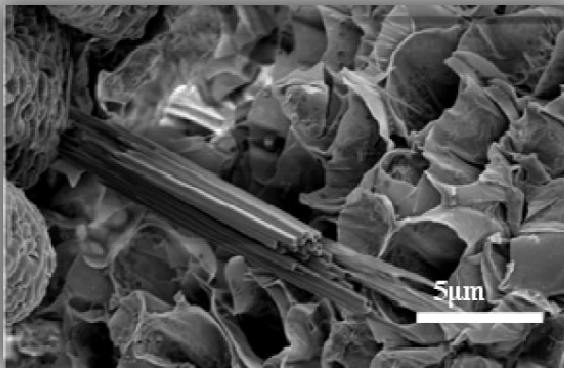


Οι χημικές δομές του οξαλικού και του ανθρακικού ασβεστίου αντίστοιχα.  
(ΠΗΓΗ: Wikipedia)

#### Οξαλικό ασβέστιο και φυτά

Πολλά φυτά συσσωρεύουν κρυστάλλους οξαλικού ασβεστίου σε απάντηση του πλεονάσματος ασβεστίου, το οποίο βρίσκεται στο φυσικό περιβάλλον. Οι κρύσταλλοι παράγονται σε μία ενδιαφέρουσα ποικιλία σχημάτων. Η μορφολογία των κρυστάλλων εξαρτάται από την ταξινομική οικογένεια του φυτού. Σε μελέτες πάνω των 100 ειδών βρέθηκε ότι το οξαλικό ασβέστιο

αντιπροσωπεύει το 6,3% του ξηρού βάρους των εξεταζόμενων φυτών. Η μορφολογία των κρυστάλλων και η κατανομή των ραφιδίων (σε ρίζες ή φύλλα ή σωληνίσκους) είναι παρόμοιες στην ίδια ταξινομική βαθμίδα, αλλά διαφορετική σε διαφορετικές βαθμίδες γεγονός που δίνει ευκαιρίες για χαρακτηριστικά κλειδιά ενός φυτού και της συστηματικής ταυτοποίησής του. Ο γλοιός σε κύτταρα που περιέχουν ραφίδια καθιστά την ηλεκτρονική μικροσκοπία πολύ δύσκολη. Λίγα είναι γνωστά σχετικά με τους μηχανισμούς κατάσχεσης του ασβεστίου ή ακόμη και της δημιουργίας ραφιδίων, αλλά ο σκοπός τους φαίνεται να είναι ως αμυντικός μηχανισμός ενάντια στα φυτοφάγα. Έχει επίσης προταθεί ότι σε μερικές περιπτώσεις τα ραφίδια μπορούν να βοηθούν στην σκελετική δομή του φυτού. Τα ραφίδια τυπικά απαντώνται στον γλοιό, δηλαδή στα παρεγχυματικά κύτταρα των φύλλων, ενώ είναι γενικά περιορισμένα στο μεσόφυλλο. Καθώς η επιφάνεια του φύλλου αυξάνεται, αυξάνεται επίσης και ο αριθμός των ραφιδίων, με την δημιουργία να ξεκινά και στα πιο νεαρά φύλλα. Η πρώτη ένδειξη δημιουργίας ραφιδίων αποτελεί όταν τα κύτταρα μεγαλώνουν με έναν μεγαλύτερο του κανονικού πυρήνα.



Οι κρύσταλλοι ραφιδίων από τα κύτταρα σκληρεγγύματος της *Aloe excelsa*.

Ανάλυση με Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης.

(Anatomical features of the medicinal importance of *Aloe excelsa* (Berger), R. M. Cooroosamy και K. K. Naidoo, *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(39), pp. 7622-7632, 27 July, 2011)

Εν συνεχεία των χαρακτηριστικών της οικογένειας των Αλοάκεων, αυτά συχνά παράγουν ανθρακινόνες και χελιδονικό οξύ, αλλά δεν είναι γνωστό να παράγουν τανίνες, στεροειδή, σαπωνίνες ή αλκαλοειδή.

- ☑ **Παρατήρηση 1:** Σήμερα γνωρίζουμε ότι η οικογένεια των Αλοάκεων περιέχει πολλά περισσότερα συστατικά απ' ό,τι το 1802. Ο Josias Hamman το 2008 σε μία ανασκόπηση των συστατικών του ζελέ της *Aloe vera* αναφέρει την προφανή παρουσία των συστατικών του παρακάτω πίνακα.
- ☑ Επομένως όλα τα μη ανιχνεύσιμα συστατικά μέχρι το έτος 1802, μπορούν να αποτελέσουν έκαστο, και μία αρχή για περαιτέρω ταξινομικές ανακατατάξεις ακόμα και μέσα στα ίδια τα Αλοάκεα. Η επιμονή λοιπόν του μεγάλου ταξινομού και βοτανολόγου Arthur Cronquist, να μην κάνει παρά μόνο λίγες αλλαγές στο σύστημα ταξινόμησης του, ίσως να λύγιζε μπροστά στην πληθώρα των συστατικών που έχουν βρεθεί από τότε. Βέβαια ο ίδιος είχε δηλώσει λίγο πριν τον θάνατό του στον James L. Reveal (University of Maryland) ότι: «...διαθέτοντας ένα σταθερό σύστημα θα ήταν ευρύτερα αποδεκτό από τις δημοσιεύσεις στις χλωρίδες και στα βοτανοειδή...». Ο τελευταίος βέβαια παραδέχεται ότι το σύστημα του Cronquist απαιτεί βασικές αλλά πολύ σκεπτόμενες και βηματικές αλλαγές, για να αντικατοπτρίζουν την τρέχουσα επιστημονική πληροφορία. <http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/systems/cronquist.html>

Κλάση	Συστατικά
<b>Ανθρακινόνες και ανθρόνες</b>	αλοεμοδίνη, αλοεκτικό οξύ, ανθρανόλη, αλοΐνες Α και Β-γνωστές και σαν μπαρμπαλοΐνη-, ισομπαρμπαλοΐνη, εμοδίνη, εστέρα του κινναμικού οξέος
<b>Υδατάνθρακες</b>	Καθαρή μαννάνη, ακετυλιωμένη μαννάνη, ακετυλιωμένη γλυκομαννάνη, γλυκογαλακτομαννάνη, γαλακτάνη, γαλακτογαλακτουράνη, αραβινογαλακτάνη, γαλακτογλυκοαραβινομαννάνη, πηκτικό υπόστρωμα, ξυλάνη, κυτταρίνη
<b>Χρωμόνες</b>	
<b>Ένζυμα</b>	Αλκαλική φωσφατάση, αμυλάση, καρβοξυπεπτιδάση, καταλάση, κυκλοοξειδάση, κυκλοοξυγενάση, λιπάση, οξειδάση, φωσφοενολοπυρουβική καρβοξυλάση, δισμουτάση του υπεροξειδίου
<b>Πρωτεΐνες</b>	Λεκτίνες και υποστρώματα σχετικά με αυτήν
<b>Ανόργανα συστατικά</b>	Ασβέστιο, χλώριο, χρώμιο, χαλκός, σίδηρος, μαγνήσιο, μαγγάνιο, κάλιο, φώσφορος, νάτριο, ψευδάργυρος
<b>Μη απαραίτητα και απαραίτητα αμινοξέα</b>	Αλανίνη, αργινίνη, ασπαρτικό οξύ, γλουταμικό οξύ, γλυκίνη, ιστιδίνη, υδροξυπρόλίνη, ισολευκίνη, λευκίνη, λυσίνη, μεθειονίνη, φαινυλαλίνη, προλίνη, θρεονίνη, τυροσίνη, βαλίνη
<b>Οργανικά συστατικά και λιπίδια</b>	Αραχιδονικό οξύ, γ-λινολεϊκό οξύ, στεροειδή (καμπεστρόλη, χοληστερόλη, β-σιτοστερόλη), τριγλυκερίδια, τριτερπενοειδή, γκιμπεριλλίνη, λιγνίνες, σορβικό κάλιο, σαλικυλικό οξύ, ουρικό οξύ
<b>Σακχαρίτες</b>	Μαννόζη, γλυκόζη, L-ραμνόζη, αλδοπεντόζη
<b>Βιταμίνες</b>	B1, B2, B6, C, β-καροτένιο, χολίνη, φολικό οξύ, α-τοκοφερόλη

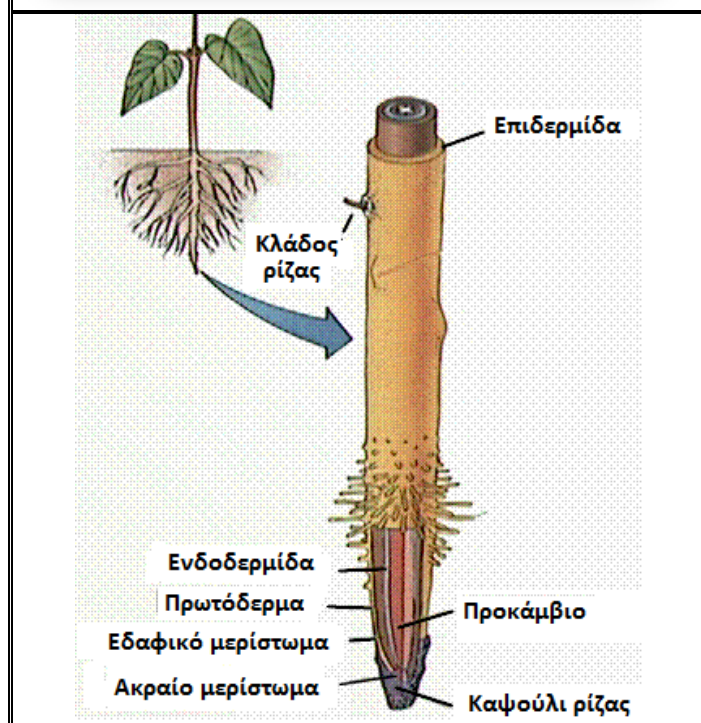
Ο Batsch συνεχίζοντας την περιγραφή των Αλοάκεων, ανέφερε ότι είναι στερούμενα αμύλου, ακόμη και από τους πράσινους ιστούς. Επίσης οι αρτηρίες είναι περιορισμένες στις ρίζες με τις τελευταίες να είναι σωληνοειδείς και παχυνόμενες. Το στέμμα είναι σύμφωνα με την δευτερογενή ανάπτυξη των μονοκοτυλήδων και οι ινώδης φλέβες ή αγγειακές δέσμες είναι κλειστές και διάσπαρτες.

- ☑ **Παρατήρηση 2:** Σύμφωνα με τους John T. Christopher και Joseph A. M. Holtum (1996) τα φύλλα της *Aloe vera* συγκρατούν τόσο άμυλο όσο και γλυκόζη στο πλαίσιο του CAM.
- ☑ **Παρατήρηση 3:** Με την απλή και στοιχειώδη αποκοπή ενός φύλλου *Aloe vera* (αλλά και πολλών άλλων μελών των Αλοάκεων) με ένα κοφτερό νυστέρι παρατηρούνται οι ινώδεις φλέβες να είναι διατεταγμένες παράλληλα με τον επιμήκη άξονα του φύλλου. Ορισμένες από αυτές είναι στην διεπιφάνεια του πράσινου μεσόφυλλου με το παρέγχυμα, ενώ άλλες βρίσκονται στο εσωτερικό του παρεγχύματος.
- ☑ **Παρατήρηση 4:** Η δευτερογενής ανάπτυξη των μονοκοτυλήδων, αναφέρεται στο αποτέλεσμα της δραστηριότητας του αγγειακού κάμβιου. Το τελευταίο είναι ένα μερίστωμα που διαιρείται για να δημιουργήσει δευτερογενές ξύλημα, στο εσωτερικό του μεριστώματος, και δευτερογενές φλοιώμα, στο εξωτερικό του μεριστώματος. (Εν γένει, οι λέξεις ξύλημα και ξύλωμα ταυτίζονται. Το πρώτο απλά αποτελεί αυτούσια μετάφραση του αγγλικού *xylem* ενώ το δεύτερο προοδευτική αποτύπωση στην ελληνική.) Αυτή η ανάπτυξη αυξάνει την περιφέρεια των ριζών ή του στέμματος περισσότερο ακτινικά παρά στο μήκος του με αποτέλεσμα την φράση «δευτερογενής πάχυνση». Από την στιγμή που το αγγειακό κάμβιο συνεχίζει να παράγει νέα κύτταρα, το στέμμα ή οι ρίζες συνεχίζουν να μεγαλώνουν σε διάμετρο. Στα ξυλώδη φυτά αυτό παράγει το ξύλο. (Wikipedia) Ένας ειδικός τύπος του αγγειακού κάμβιου συμβαίνει σε

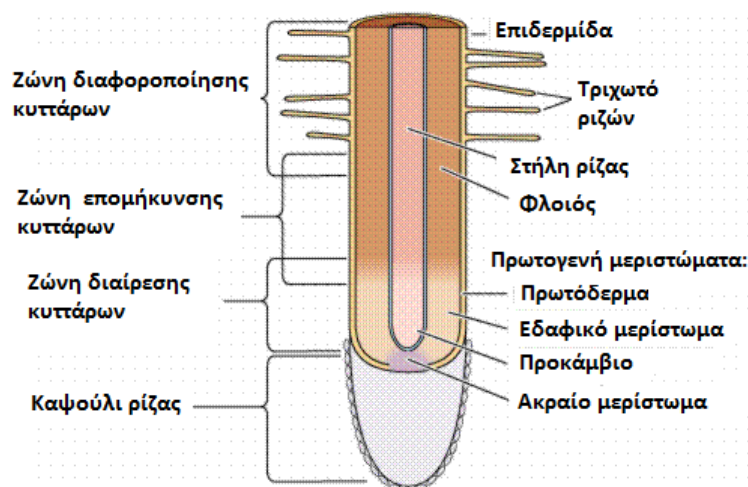
μερικά ξυλώδη και βοτανοειδή- ποώδη- φυτά της ταξινομικής βαθμίδας των Liliifloare όπως *Dracaena*, *Agave*, *Aloe*, *Yucca*, *Cordyline* και *Sansiviera*. Αυτή η μεριστωματική στοιβάδα είναι παρούσα εκτός των πρωτοταγών αγγειακών δεσμών στον εξωτερικό ιστό του στέμματος και η δραστηριότητά του διαφέρει απ' αυτήν στο αγγειακό κομβίον των δικοτυλήδων, γεγονός που δημιουργεί μία ανώμαλη δευτερογενή ανάπτυξη. Τα κύτταρα της μεριστωματικής στοιβάδας μπορεί να διαφέρουν σε σχήμα και μπορεί να είναι σχήματος πολυγωνικού ή ορθογωνικού ή ατρακτοειδούς. (ΠΗΓΗ: STRUCTURE, DEVELOPMENT AND REPRODUCTION IN FLOWERING PLANTS, Dr. (Ms.) Mrinal Bhargava, New Delhi, September 11, 2006) Για παράδειγμα τα φοινικόδεντρα αυξάνουν την διάμετρο του κορμού τους λόγω της διαίρεσης και της διεύρυνσης των παρεγχυματικών κυττάρων τους που καλείται διάχυτη δευτερογενής ανάπτυξη.



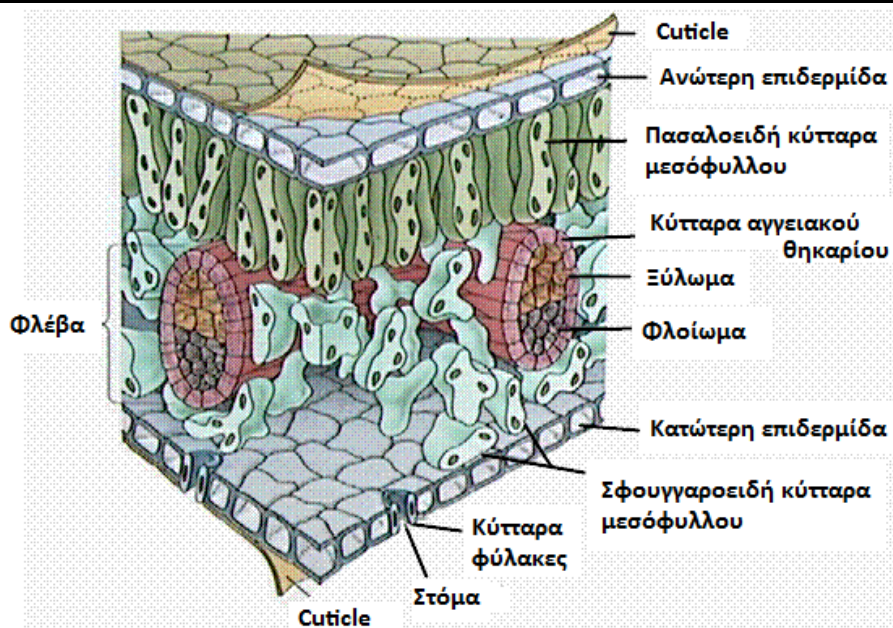
**Εικόνα 14.** Μία κάθετη τομή του φύλλου της *Aloe vera*. Είναι εμφανείς οι αγγειακές δέσμες, το πράσινο εξωτερικό μεσόφυλλο και το διαφανές παρέγχυμα.



**Εικόνα 15.** Η δομή μιας ρίζας των μονοκοτυλήδων  
<http://bio-microscope.blogspot.com/2008/03/table-of-contents-general-plant.html>

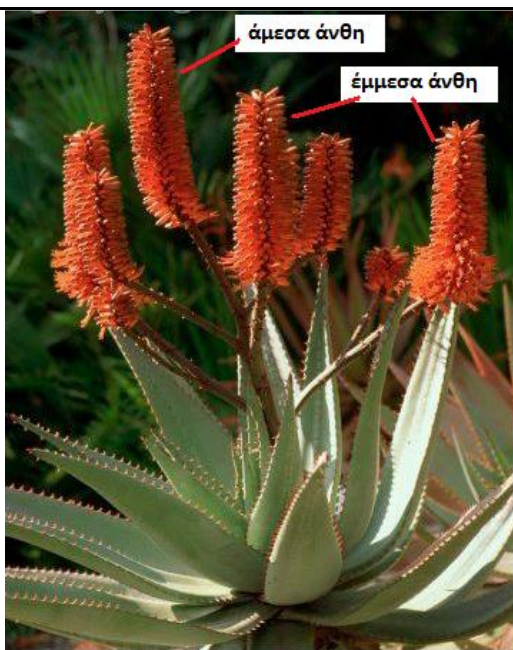


**Εικόνα 16.** Τα φυτικά κύτταρα σχηματίζονται σαν μεριστώματα και τότε αναπτύσσονται σε κυτταρικούς τύπους που ομαδοποιούνται σε ιστούς. Τα φυτά διαθέτουν τρεις τύπους ιστών: (1) Δερματικοί, (2) Εδαφικοί και (3) Αγγειακοί. (1) Οι δερματικοί ιστοί καλύπτουν την εξωτερική επιφάνεια των βοτανοειδών φυτών. Αποτελούνται από επιδερμικά κύτταρα, στενά πακεταρισμένα που εκκρίνουν ένα πολύ κηρώδες υπόστρωμα που βοηθάει στην πρόληψη για την απώλεια νερού. (2) Οι εδαφικοί ιστοί αποτελούν το κύριο μέρος του πρωτογενούς σώματος του φυτού. Το παρέγχυμα, το κοιλέγχυμα και το σκληρέγχυμα αποτελούν τους πιο κοινούς εδαφικούς ιστούς. (3) Ο αγγειακός ιστός μεταφέρει νερό, ορμόνες και μεταλλικά στοιχεία (το «φαγητό» του φυτού) μέσα στο ίδιο το φυτό. Ο αγγειακός ιστός περιλαμβάνει το ξύλωμα, το φλοιώμα, το παρέγχυμα και τα κύτταρα του κάμβιου.



**Εικόνα 17.** Τυπική δομή ενός κοινού φύλλου. Στην Aloe vera το εσωτερικό παρέγχυμα δεν περιέχει καθόλου χλωροπλάστες, ενώ από το cuticle έως και τα σφουγγαροειδή κύτταρα περιέχονται στο εξωτερικό πράσινο περίβλημα των φύλλων.

Όσον αφορά τα **φύλλα**, αυτά είναι απλά, εναλλασσόμενα, χωρίς μίσχο, ομαδοποιημένα σε πυκνές ροζέτες στο τέλος του στέμματος και διακλαδίζονται σε συνεχόμενα στέμματα από το επίπεδο βάσης τους μέχρι την κορυφή του φυτού. Το ίδιο το φυτό, λόγω των ιδιόμορφων φύλλων του, χαρακτηρίζεται πολυετές και περισσότερο ή λιγότερο έντονα εύχυμο. Τα φύλλα είναι συχνά ακανθώδη, αλλά όχι πολύ μυτερά. Τα **στόματα** είναι πολύ ή λίγο βυθισμένα με ευδιάκριτα τα κύτταρα φρουρούς τα οποία συνήθως είναι τέσσερα. Τα κύτταρα του φλοιώματος είναι λεπτού τοιχώματος και στην ίδια θέση όπως ένα σύνολο από ίνες ενός τυπικού των Agavaceae. Ένας χρωματιστός χυμός που παράγεται με τραυματισμό του φύλλου προκύπτει απ' αυτά τα κύτταρα και είναι το λεγόμενο **εξίδρωμα**. Τα **λουλούδια**, γεννιούνται στο κέντρο του στέμματος, με άμεσα ή έμμεσα άνθη στον κεντρικό αγωγό που ενδέχεται να έχουν κόκκινο ή πράσινο χρώμα. Οι βλαστοί ενδέχεται να σχηματίζουν γωνία με τον κεντρικό βλαστό και οι ανθοί τους να είναι ορνιθόφιλοι ή εντομόφιλοι και να είναι χωρισμένοι σε τρία μέρη. Τα τέπαλα των ανθών βρίσκονται σε 2 ή 3 σειρές κύκλων, όλα είναι πεταλοειδούς και σαρκώδους μορφής, και η δομή τους είναι συγκλίνουσα στο άκρο προς τον βλαστό και πλατειά στα άκρα προς τους ανθήρες. Μερικές φορές τα εξωτερικά τέπαλα βρίσκονται ενωμένα σε ίδια και ενιαία δομή, ενώ τα εσωτερικά τέπαλα βρίσκονται ελεύθερα. Τα λουλούδια διαθέτουν 6 στήμονες –όργανα που παράγουν γύρη-, 4 άφυλους στήμονες και 2 στήμονες που παράγουν γύρη που ανοίγουν με διαμήκεις σχισμές. Οι σπόροι γύρης διαθέτουν έναν σάκο και το γυνοέκιο (από το *γυνή* και το *οίκος*, δηλαδή το σύνολο των καρποφόρων σε ένα λουλούδι) κατέχει 3 καρπούς ενωμένους που διαμορφώνουν ένα συσσωμάτωμα. Η ωοθήκη ενός λουλουδιού έχει τρία μέρη με αξονική πλακουντοποίηση και με διαφραγματικά νεκτάρια.

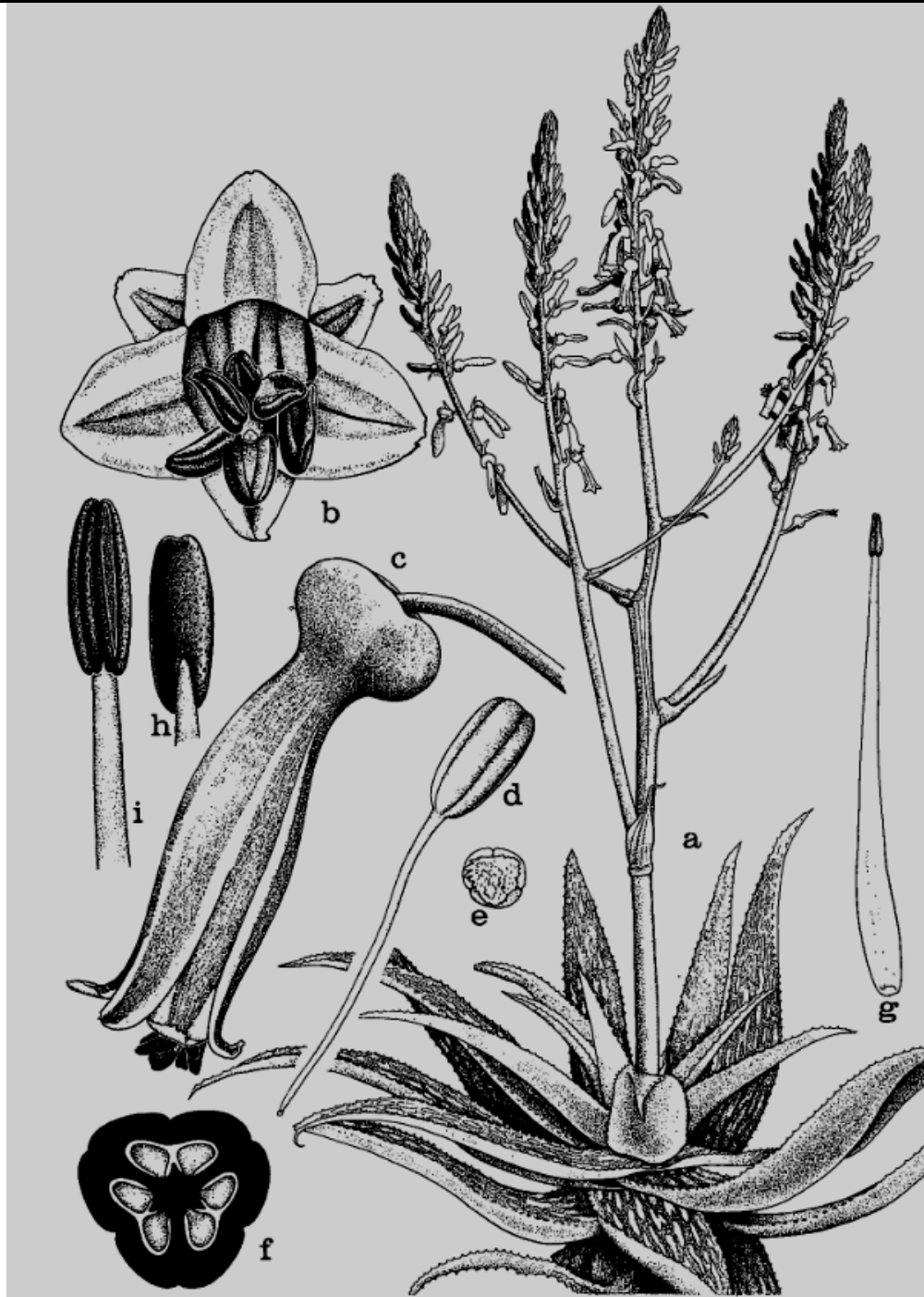


**Εικόνα 18.** Τα λουλούδια της Aloe vera σε άμεση (raceme) και έμμεση (panicle) σύνδεση με τους βλαστούς. Παρατηρούνται και οι γωνίες που σχηματίζουν οι βλαστοί των έμμεσων με τους βλαστούς των άμεσων ανθών.



**Εικόνα 19.** Η ανατομία του λουλουδιού της Aloe vera, αλλά και όλων των Λιλιάκων. Τα τέπαλα διαφοροποιούνται συνήθως στα πέταλα και στα σέπαλα. . Ο όρος "tera" εφαρμόζεται συνήθως όταν τα πέταλα και τα σέπαλα είναι παρόμοια στη μορφή και το χρώμα.





**Εικόνα 20.** Τα Aloiaceae. Μία ιστορική και πολύ εύστοχη απόπειρα για την φυσιολογία του φυτού της οικογένειας των Αλοάκεων από τον Batsch (1802). Διακρίνονται: (a) το φυτό (b)το λουλούδι-άνω όψη (c)το λουλούδι-πλάγια όψη (d)ύπερος άνθος (e)στίγμα (f)σχήμα διατομής ωσθήκης (g)στήμονας (h) και (i) δύο όψεις του ανθήρα. (ΠΗΓΗ: An Integrated System of Classification of Flowering Plants, Arthur Cronquist, Columbia University Press, 1981)

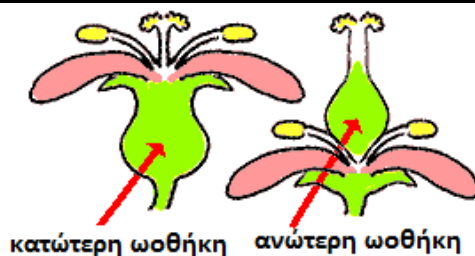
### ✦ Έννοιες της οικογένειας των Αλοάκεων

Ο γερμανός βοτανολόγος August J.G.C.Batsch είναι ο πρώτος διαπιστευμένος βοτανολόγος που παρείχε έναν διαχωρισμό στα φυτά της αλόης. Ωστόσο τα Αλοάκεα, ή Αλοΐδα, δεν ήταν ευρύτερα αποδεκτά και έπεσαν σε αχρηστία για περίπου 180 χρόνια, με τους περισσότερους ταξινομητές να αναφέρονται στις αλόες και να τις σχετίζουν με τα γένη της Λιννεανικής Εξανδρίας Μονογονίας ή αργότερα με τα Λιλιάκεα. Τα Αλοάκεα επαναφέρθηκαν στο προσκήνιο από τον Cronquist και η κατηγορία είναι πλέον ευρύτερα αποδεκτή παρόλο που υπάρχει μία κάποια αντίθεση πάνω στον συλλαβισμό του ονόματος *Aloaceae* με το *Aloaceae*. Σύμφωνα με τον Smith το 1993 η ονομασία *Aloaceae* είναι η σωστή και αποδεκτή λύση και σε αυτό το κείμενο υιοθετείται αυτή.

Ωστόσο η μακρά πιο διάσημη και παραδοσιακή, ευρύτερα αποδεκτή κατηγοριοποίηση οικογένειας που χρησιμοποιήθηκε για τις αλόες και τους γενικούς συγγενείς τους κατά την διάρκεια του τέλους του 19<sup>ου</sup> αιώνα και το μεγαλύτερο μέρος του 20<sup>ου</sup> αιώνα, ήταν *Aloineae*, μία από τις 28 αναγνωριζόμενες φυλές από τον Hutchinson (1959), σε όλα τα εναγκαλιζόμενα *Liliaceae sensu lato*. Από την στιγμή του 1950, τα Λιλιάκεα είχαν υποστεί σημαντικές ταξινομικές επαναξιολογήσεις σε όρους των συστατικών των ενδοοικογενειακών κατηγοριών. Οι διαφορετικές ερμηνείες του περιγράμματος των Λιλιάκεων από διάφορους ταξινομητές είχε το αποτέλεσμα, μεταξύ άλλων της φυλής *Aloineae sensu Hutchinson (1959)* η οποία διαχωρίστηκε από τα Λιλιάκεα.

Παρόλη την ευρεία ποικιλομορφία μορφολογίας και ανατομίας μέσα στα είδη αξιοσημείωτη κυτταρογενετική ανομοιομορφία επικρατεί στα Αλοάκεα σαν ένα πλέον σύνολο. Επιπλέον τα χρωμοσώματα είναι λίγα και μεγάλα σε τέτοιο βαθμό ώστε να εξωθούν αποκλίσεις από τον κανόνα έτσι ώστε να εντοπίζονται ευκολότερα. Αυτές οι ομοιότητες, μαζί με την καθαρή μονοφυλετική καταγωγή αυτού του φυσικού συναθροίσματος ειδών οδήγησε τον Cronquist να μετακινήσει τα Αλοάκεα από τα Λιλιάκεα *sensu lato*. Επανακατηγοριοποίησε λοιπόν ο Cronquist, τα γένη *Aloe*, *Gasteria*, *Haworthia* *Kniphofia* και *Lomatophyllum* στην Αλοάκεα οικογένεια κατά Batsch με την τελευταία να θεωρείται σαν ένα παράγωγο των Λιλιάκεων *sensu stricto*. Η σχετική ευκολία με την οποία είδη από το γένος αλοϊδών διασταυρώνονται υποδηλώνει ότι είναι στενά συσχετιζόμενα. Η απουσία εμποδίων για υβριδισμό παραμένει ένα από τα πιο σημαντικά σημεία-ενδείξη για την φυλετική ιστορία από την στιγμή μάλιστα που τα εμπόδια μπορεί να εξελιχθούν ταχύτατα ακόμη και σε σχετιζόμενες ομάδες.

Η πρόταση του Cronquist το 1981 βασίστηκε στο γεγονός ότι η στενά σχετιζόμενη, αλλά οικογένεια του Νέου Κόσμου, Αγκαβάκεα -*Agavaceae*- είναι αναγνωρισμένη την ίδια στιγμή σαν ξεχωριστή οικογένεια λόγω της ειδικής συνήθειας ανάπτυξης της ανάμεσα σε όλα τα άλλα χαρακτηριστικά. Έκτοτε που τα Αλοάκεα διαφέρουν από τα Λιλιάκεα πάνω στους ίδιους λόγους, η αναγνώριση των Αγκαβάκεων σαν ξεχωριστή οικογένεια εγγυάται την αποδοχή των Αλοάκεων σαν ένα διαφοροποιημένο λιλιοειδές. Παρόλο που η συμπερίληψη τουλάχιστον των *Yucca* Dill. ex. L. (άνωτη ωθήκη) και *Agave* L. (κατώτη ωθήκη) στα Αγκαβάκεα υποστηρίζεται από την συνήθη ύπαρξη ενός πολύ ξεχωριστού δίτυπου καρυότυπου αποτελούμενου από 5 μεγάλα χρωμοσώματα και 25 μικρά, η καρυολογία των άλλων γενών που αναφέρεται στα Αγκαβάκεα βάσει των συνηθειών ανάπτυξης διαφέρει σημαντικά από αυτήν των *Yucca* και *Agave*. Ο Cronquist το 1981 συμπέρανε ότι στα Αγκαβάκεα ένα καρυολογικό χαρακτηριστικό «...δεν συσχετίζει τόσο καλά ορισμένα χαρακτηριστικά για να είναι ικανό-το καρυολογικό χαρακτηριστικό- να αποκτήσει κρίσιμη ταξινομική σημαντικότητα». Σε αντίθεση τα Αλοάκεα χαρακτηρίζονται από έναν πολύ διαφοροποιημένο καρυότυπο ( $2n=14$ ) που αποτελείται από 4 ζευγάρια μακρών χρωμοσωμάτων και τρία ζευγάρια από μικρά χρωμοσώματα.



**Εικόνα 21.** Οι διαφορές των Yucca και Agave ως προς τα αναπαραγωγικά τους όργανα.

ΠΗΓΗ : [http://www.backyardnature.net/fl\\_stan.htm](http://www.backyardnature.net/fl_stan.htm)

Σε μία κατά κάποιον τρόπο διαφορετική επανακατηγοριοποίηση της συνολικής εικόνας της οικογένειας των Λιλιάκων, οι Dahlgren και Clifford (1982) συμπεριέλαβαν τα γένη που ήταν παραδοσιακά κατηγοριοποιημένα στην φυλή Aloiineae, μαζί με πολλά άλλα, σε έναν τύπο υποοικογένειας που επανακαθιστούσε τα Ασφοδελάκεια -Asphodelaceae-. Στην επαναδόμηση των Λιλιάκων *sensu lato*, έκαναν χρήση των χαρακτηριστικών που προέκυπταν από ένα μεγάλο εύρος από κλάδους και επιχείρησαν μία οργάνωση όλων των μονοκοτυληδόνων οικογενειών σύμφωνα με όλες τις ομοιότητες που παρατηρήθηκαν από συγκριτικές μελέτες. Παρόλο που οι Dahlgren και Clifford δεν ανέπτυξαν μία εσωτερική υπο-οικογενειακή κατηγοριοποίηση των Ασφοδελοϊδών ανέφεραν ότι μαζί με την τελευταία τάξη, τις επικαλούμενες ομάδες της Αλόης σαν μια συνεκτική ενότητα. Ως εκ τούτου η αναγνώριση του γένους των αλοϊδών σαν μία διακριτή ενότητα μαζί με τα Ασφοδελάκεια θα μπορούσε να συμφωνηθεί μαζί με τις γενικά αποδεκτές προϋποθέσεις ότι οι supraspecific κατηγορίες είναι ιδανικά μονοφυλετικές.

Σε ένα βιβλίο κατανόησης της δομής, εξέλιξης και ταξινόμησης των μονοκοτυληδόνων οι Dahlgren et al (1985) έκαναν επιπρόσθετες τελειοποιήσεις στο πλαίσιο της ασφοδελοϊδούς υποοικογένειας του 1982. Μετακίνησαν επτά γένη αλοϊδών από τα Ασφοδελάκεια και τα τοποθέτησαν σε μία ξεχωριστή οικογένεια, τα Αλοΐδεια. Οι Dahlgren et al (1985) επομένως αναγνώρισαν δύο ασφοδελοϊδείς υποοικογένειες τα Ασφοδελοϊδή και τα Αλοΐδεια. Τα γένη των αλοϊδών παρουσίασαν ξεκάθαρες φυλετικές ομοιότητες και οι προηγούμενες συγγραφείς το ορμήνεψαν σαν μία μονοφυλετική ομάδα που προέρχεται από έναν κοινό πρόγονο τον οποίο διαμοιράζεται και με τα άλλα Ασφοδελάκεια. Τα 11 γένη που περιείχαν οι Dahlgren και Clifford (1982) στα Ασφοδελάκεια δεν παρουσιάζουν την ίδια σημειωμένη συγκέντρωση στην Αφρική όπως στην περίπτωση των Αλοϊδών και πιθανόν να αντιπροσωπεύουν μία παραφυλετική ομάδα. Από τα γένη, γνήσια κρατούμενα στην ομάδα των αλόων των Ασφοδελάκων μόνον το Chortolirion δεν μεταφέρθηκε στα Αλοΐδεια πιθανόν λόγω αβλεψίας. Ωστόσο το γένος *Poellnitzia* που παραλείφθηκε από την αρχική συγκριτική μελέτη Dahlgren και Clifford (1982), προστέθηκε μεταγενέστερα στα Αλοΐδεια (1985). Και στις δύο δημοσιεύσεις το μονοτυπικό γένος *Chamaealoe* A.Berger κρατήθηκε. Σε συμφωνία με τις περισσότερες προτάσεις του Smith (1990) και Smith, Van Wyk (1993), η *Chamaealoe* θα έπρεπε να περιέχεται στην συνωνυμία της αλόης. Οι Dahlgren και Clifford (1982) συμπεριέλαβαν τα αλοϊδή γένη στα Ασφοδελάκεια μαζί με, μεταξύ άλλων, των προφανώς σχετιζόμενων *Bulbine* και *Kniphofia*. Στον επακόλουθο ανασχηματισμό των Ασφοδελάκων (Dahlgren et al (1985)) και τα δύο τελευταία προαναφερθέντα γένη διατηρηθήκαν στην υποοικογένεια των Ασφοδελοϊδών. Η συμπεριφορά των Dahlgren et al (1985) με την υποοικογένεια έναντι των Αλοϊδών (εκείνων των Ασφοδελάκων) ως εκ τούτου προσεγγίζει την ιδέα του Cronquist (1981) των Αλοάκων με εξαίρεση την τοποθέτηση των *Kniphofia*. Ο δεύτερος ένταξε αυτό το μη εύχυμο γένος στα Αλοάκεια. Βασικά, λοιπόν, υποστηρίζεται ο χειρισμός του Cronquist αλλά σχετικά με το ασφοδελοϊδές γένος *Kniphofia* θεωρείται εδώ πιθανή αδελφή ομάδα των Αλοάκων και

αναγνωρίζονται επτά γένη στην οικογένεια. Το περίγραμμα της λιλοειδούς φυλής των Aloineae του Hutchinson (1959) έχει ως εκ τούτου υποβληθεί σε μικρή αλλαγή σε όρους γενετικούς με τις κυριότερες αντιθέσεις που περιτριγυρίζουν την ταξινόμηση να είναι επικεντρωμένες στις οικογένειες και στα είδη.

#### ✦ Γενικές ιδέες και ταξινομική έρευνα στα Αλοάκεα

Παρόλο που 29 ονόματα γενών είναι διαθέσιμα για ταξινόμηση, μαζί με τα Αλοάκεα, μόνον επτά είναι ευρύτερα αναγνωρισμένα.

Η ταξινομική μελέτη της ομάδας των φυτών όπως τα Αλοάκεα πρέπει απαραίτητως να περιλαμβάνει μία ανάλυση μία ανάλυση από σκοπιάς βοτανολογικής σκέψης, την στιγμή που δημοσιεύεται, για τα συστατικά ονόματα -της ομάδας- και τις ιστορίες των υποκατηγοριών. Αυτή η έρευνα δίνει εννοήσιμες μέσες στις επικρατούσες καταστάσεις όταν προτείνονται ονόματα, καθώς και την τρέχουσα σχετικότητα τους. Η χρονολογία της εξάπλωσης των ονομάτων του γένους των Αλοάκεων συνοψίζεται στον παρακάτω πίνακα. Η χρονολογία συγκρίνεται με ιστορικές φράσεις της κατηγοριοποίησης των φυτών και των κυριότερων περιόδων της συστηματικής βιολογίας. Παρόλο που οι τελευταίες φράσεις και περίοδοι δεν μπορούν να περιοριστούν εμφανώς (Turner, 1967) είναι ξεκάθαρο ότι στις αρχές του 19<sup>ου</sup> αιώνα προσπάθειες από μερικούς ευρωπαϊούς βοτανολόγους αντανάκλουν φυσικές συγγένειες ανάμεσα στα φυτά με αποτέλεσμα την δημοσίευση 17 από τα 29 ονόματα γενών διαθέσιμων για τις τάξεις των αλοοιδών. Ωστόσο, το περίγραμμα μόνον τριών απ' αυτά είναι γενικά αποδεκτό –*Aloe*, *Gasteria* και *Haworthia*–.

Το άνοιγμα μακρινών εδαφών όπως η νότια Αφρικάνικη περιοχή από, μεταξύ άλλων, των Masson, Buchell και Bowie (Smith & Van Wyk, 1989) είχε ως αποτέλεσμα ένα σταθερό ρεύμα από νέα υλικά που έφθαναν στους ευρωπαϊκούς βοτανικούς κήπους. Βοτανολόγοι που είχαν να αντιμετωπίσουν τον πλούτο των νέων και απερίγραπτων μέχρι τότε δειγμάτων, προφανώς δεν ήξεραν πώς να τα εντάξουν στις ήδη υπάρχουσες κατηγοριοποιήσεις και επανήλθαν στην επανατοποθέτηση των νέων γενών σε μη διαγνωστικές δομές λουλουδιών ή δομές τύπου λαχανικών ή και συνδυασμό τους. Ωστόσο σε μερικούς κύκλους η αναγνώριση ενός μόνο γένους, του *Aloe*, για όλες τις εύχυμες, φυλλώδεις, τύπου ροζέτας, αλοοειδείς τάξεις επικρατούσε μέχρι τουλάχιστον το 1880 (παρακάτω πίνακας). Ξεκάθαρα, ένα γένος κείται κάπου ανάμεσα σ' αυτά τα δύο άκρα και όπως ο Rowley (1976a) έθεσε: «...το καλύτερο που μπορούμε να ευχόμαστε να κάνουμε είναι να αποφύγουμε ακαθόριστες αντιφάσεις στην επιλεγείσα μονάδα»-σε αυτήν την περίπτωση τα Αλοάκεα-.

Η ταξινομική ιστορία των Αλοάκεων άρχισε συντηρητικά το 1753. Από τα τρέχοντα κατηγοριοποιημένα γένη αυτής της υποοικογένειας, ο Linnaeus (1753) αναγνώρισε μόνο ένα όνομα, το *Aloe*, που συμπεριέλαβε και στην τάξη Εξανδρίας Σειράς Μονογονίας. Μέχρι την στιγμή που ο Linnaeus πρότεινε το φυλετικό σύστημα κατηγοριοποίησης, οι λίγες γνωστές κατηγορίες αλοοιδών αποτελούνταν κυρίως από την *Aloe vera* (L.) Burm. f. πιθανότατα της Αραβίας (Foster και Clifford, 1986), την *Aloe perryi* Baker της Σοκότρα και της νοτίου Αφρικής, *Aloe maculata* All., *Aloe arborescens* Miller, *Aloe brevifolia* Miller, *Aloe glauca* Miller, *Aloe humilis* (L.) Miller, *Aloe plicatilis* (L.) Miller, *Aloe succotrina* Lam και *Aloe variegata* L. Αυτές οι αλόες ομαδοποιήθηκαν κυρίως στην βάση των χαρακτηριστικών εύχυμων φύλλων. Παρόλο που ο Linnaeus δεν χρησιμοποίησε σκόπιμα χαρακτηριστικά λαχανικών στο σύστημα κατηγοριοποίησής του, η τελευταία πινελιά της σκέψης του, σε κάποιον βαθμό το έκανε στον χειρισμό της αλόης. Αυτό είναι ξεκάθαρα αποτυπωμένο στην ένταξη στις Αλόες των τάξεων που μέχρι στιγμής κατηγοριοποιούνται στις *Aloe*, *Astroloba*, *Gasteria*, *Haworthia*, *Kniphofia* και *Sansevieria* Thunb.

Κυριότερες περιόδους συστηματικής βιολογίας (Alston and Turner, 1963; Merxmüller, 1972)	Ιστορικές φράσεις της κατάταξης των φυτών (Lawrence, 1951)	Χρονολογία (μ.Χ.)	Αναφορές	Ονόματα γενών γενικώς αποδεκτά <sup>1</sup>	Ονόματα γενών μη αποδεκτά
↑  Μικρομορφική  ↓	Τεχνητά συστήματα που βασίζονται σε αριθμητικές κατατάξεις ↓	1753	– Linnaeus (1753)	<i>Aloe</i>	
		1800	– Medikus (1786)		<i>Catevala Kumara</i>
	↑  Φυσικά συστήματα βασιζόμενα σε σχέσεις μορφής  ↓		– Duval (1809)	<i>Gasteria;</i> <i>Haworthia</i>	
			– Willdenow (1811)	<i>Lomatophyllum</i>	<i>Apicra</i> <sup>2</sup> <i>Rhipidodendrum</i>
			– Ker (1813)		<i>Phylloma</i>
			– Haworth (1819)		<i>Apicra</i> <sup>3</sup>
			– Haworth (1821)		<i>Pachidendron</i>
			– Haworth (1824)		<i>Bowiea</i>
			– Endlicher (1836)		<i>Agriodendron</i> <sup>4</sup>
		(1840)	– Rafinesque		<i>Atevala,</i> <i>Kumaria,</i> <i>Papilista,</i> <i>Succosaria,</i> <i>Tulista</i>
↑ Εξελικτική ↓		1860	– Salisbury (1866)		<i>Busipho; Ptyas</i>
		1880			
		1900			
↑ Κυτταρογενετική ↓	↑ Συστήματα βασιζόμενα στην φυλογενία ↓		– Berger (1905)		<i>Chamaealoe</i> <sup>5</sup>
			– Berger (1908)	<i>Chortolirion</i>	
			– Stapf (1933)		<i>Leptaloe</i>
			– Lemée (1939)		<i>Aloinella</i>
			– Uitewaal (1940)	<i>Poellnitzia</i>	<i>Guillauminia</i>
			– Uitewaal (1947)		
			– Bertrand (1956)		
		1993	– Heath (1993)		<i>Lemeea</i>

Με γνώση εκ των ύστερων, ο Linnaeus (1753) παρείχε στις Aloe και Agave (του Νέου Κόσμου) ξεχωριστή θέση, σε αντίθεση με τους παλαιότερους ταξινομους, όπως ο Bradley (1716-1727) που, κατά κάποιον τρόπο κατανοητά συγχέονταν με τα δύο γένη. Νεότεροι ερευνητές, είχαν επιχειρήσει επανακατηγοριοποιήσεις στα γένη των Αλοάκεων, για παράδειγμα Reynolds (1950, 1966) και Holland (1978) στην *Aloe sensu stricto*, Van Jaarsveld (1994) στην *Gasteria* και Bayer (1976, 1982, 1999) στην *Haworthia*. Ο Scott (1985), απ' την άλλη, πρότεινε μια ολοκληρωτικά τεχνητό σύστημα κατηγοριοποίησης για την *Haworthia*, βασιζόμενος κυρίως σε χαρακτηριστικά περί λουλουδιών.

Από τότε που δημοσίευσε ο Linnaeus (1753) το όνομα γένους *Aloe*, αυτή η τάξη είχε συνδεθεί με ταξινομική σύγχυση. Ο Linnaeus προτίμησε ένα ευρύ περίγραμμα αυτού του γένους και η χρήση ενός περιορισμένου αριθμού αναπαραγωγικών χαρακτηριστικών σαν κριτήρια για κατηγοριοποίηση δεν θα ήταν πιθανόν να παράσχει συμπερασματικές ενδείξεις για γενική περιγραφή των Αλοάκεων. Επιπροσθέτως ο Linnaeus έκανε εκτεταμένη χρήση των ενδοοικογενειών –ή *infraspecific categories*, δηλαδή αυτών που αφορούν μία κάποια υποδιαίρεση των ειδών, σαν υποείδη, ποικιλίες ή καλλιέργειες-, ενός από τα είδη του, *Aloe perfoliata*, που επιφορτώθηκε με 16 ποικιλίες. Παρόλο που ο Reynolds (1950) καθιέρωσε την ταυτότητα σε 10 απ' αυτές τις ποικιλίες μερικές παραμένουν άσημες και δεν δύνανται να συνδεθούν με βεβαιότητα σε πληθυσμούς του αντίστοιχου πεδίου του γένους *Aloe*.

Απόπειρες για υποδιαίρεση της *Aloe sensu Linnaeus* (1753), άρχισαν περίπου 30 χρόνια μετά από την ετερογενή ολότητα που προτάθηκε. Παρόλη αυτήν την αρχική προσπάθεια (Medikus, 1780), να υποδιαιρέσει τις Aloe σε μικρότερες, πιο ομογενείς μονάδες, αυτές ήταν μη επιτυχημένες. Το τωρινό περίγραμμα 4 σχετικά μεγάλων γενών *Aloe*, *Gasteria*, *Haworthia* και *Lomatophyllum* χρονολογείται από τις αρχές του 19<sup>ου</sup> αιώνα. Ωστόσο τα Αλοάκεα δεν αποτελούνται από 4 μεγάλα γένη μόνο. Ειδικά το πρώτο μισό του 20<sup>ου</sup> αιώνα ονόματα γενών προτάθηκαν για διάφορες μικρότερες μονάδες που διαχωρίζονται από τις *Aloe*, *Haworthia* και *Astroloba*, με την τελευταία να είναι γνωστή σαν *Apicra* Haw. non Willd. Αυτή η περίοδος συμπίπτει με την έκδοση της πρώτης κατηγοριοποίησης συστημάτων που βασίζονται στην φυλετική καταγωγή και πιθανόν αναπαριστούν απόπειρες για πρότυπα απεικόνισης εξέλιξης μέσα της αλοοειδή τάξη. Από τα προτεινόμενα γένη κατ' αυτήν την περίοδο, μόνον τα *Chortolirion* και *Poellnitzia* είναι διατηρημένα και το *Astroloba* έχει χαρακτηριστεί σαν ένα διαχωριστικό της Aloe από το τέλος του 19<sup>ου</sup> αιώνα (Baker, 1880).

#### ✦ Ταξινομικές σημειώσεις στα γένη των Αλοάκεων

Σύντομες σημειώσεις δίδονται παρακάτω σχετικά με τα γένη των Αλοάκεων, μέχρι την παρούσα μελέτη, με έμφαση στις πρόσφατες ταξινομικές συνεισφορές. Για περισσότερα μπορεί κανείς να συμβουλευτεί τους Smith και Van Wyk (1991 και 1998).

#### ✦ Πυρήνας γένους (*Aloe*, *Lomatophyllum*)

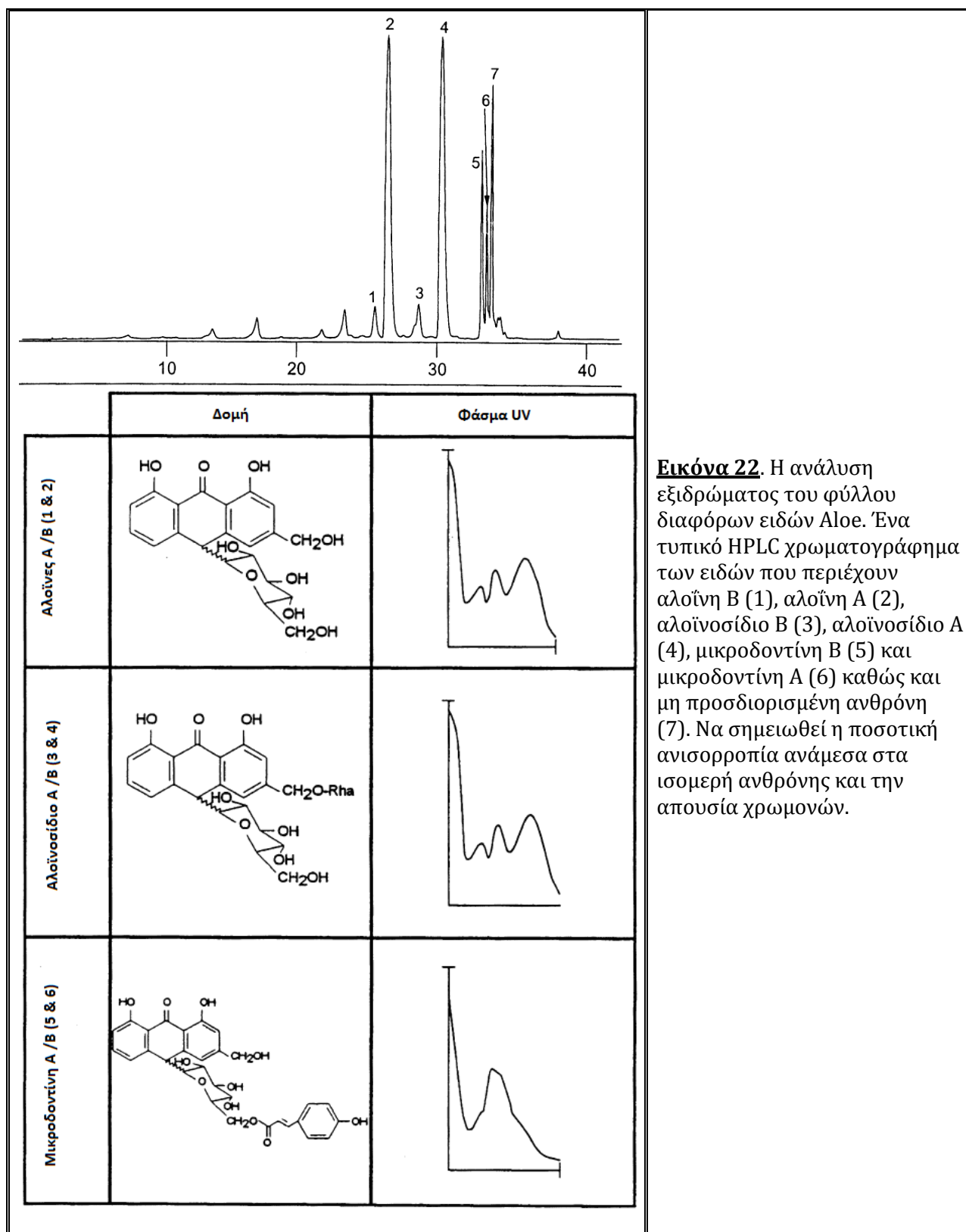
Στην ταξινόμηση των Αλοάκεων η Aloe κατέχει κεντρικής θέσης σημασία. Όχι μόνο είναι το παλαιότερο γένος της οικογένειας, αλλά απ' όλα τα γένη των Αλοάκεων έχει μελετηθεί πιο διεξοδικά τόσο σε όρους ταξινόμησης όσο και συστηματοποίησης -Systematics-. Επιπροσθέτως, από την στιγμή που ήταν το μόνο γένος που αναγνωριζόταν από τον Linnaeus (1753), όλα τα 7 γένη που εν γένει διατηρήθηκαν ως αποδεκτά σ' αυτήν την μονοφυλετική ομάδα είναι ουσιαστικά διαχωριστικά της Aloe. Αν και η Aloe απαντήθηκε σε μονογραφίες σε έναν αριθμό από περιπτώσεις του 19<sup>ου</sup> αιώνα, η βοτανολογική κοινότητα και οι μελετητές του γένους οφείλουν πολλά στον G.W.Reynolds ο οποίος ταξίδεψε ευρέως και μελέτησε την Aloe εξονυχιστικά για πάνω από 30 χρόνια σε ηπειρωτική κλίμακα. Ως εκ τούτου όχι μόνο ερεύνησε τα είδη Aloe της νοτίου Αφρικής (Reynolds, 1950), αλλά επέκτεινε την έρευνά του για να

συμπεριλάβει και είδη της τροπικής Αφρικής και Μαδαγασκάρης (Reynolds 1958, 1966). Παρολαυτά, την στιγμή του θανάτου του το 1967 πολλά ταξινομικά προβλήματα παρέμειναν άλυτα και αναρίθμητα νένα αποκαλυπτόμενα είδη ανέμεναν επίσημη περιγραφή. Πολλές από τις τελευταίες τάξεις, τελικά δημοσιεύτηκαν από τους L.C. Leach και D.S. Hardy. Και οι δύο είχαν την εργασιακή εμπειρία και γνώση της μεθοδολογίας του Reynolds και βρίσκονταν σε καλή θέση για να προσθέσουν περισσότερα στην γνώση του είδους. Σε μία πρόσφατη περίληψη της Aloe, οι Glen και Hardy (2000) μείωσαν τον αριθμό των ειδών που αναγνώρισαν στην νότιο Αφρική από 150 σε 119. Ένας απ' αυτούς τους συγγραφείς, ο H.F. Glen είναι της άποψης ότι ένας απολογισμός της Aloe sect. Pictae δίνοντας προσοχή στην εμφάνιση των φυτών από ότι στις υποθέσεις των συλλεκτών, θα οδηγούσε σε παραπέρα μείωση του αριθμού των αναγνωριζόμενων ειδών.

Η προέλευση της τρέχοντος αποδεκτής ενδογενικευμένης κατηγοριοποίησης της Aloe εντοπίζεται πίσω στον χρόνο σε ερευνητές όπως οι Baker (1880) εργαζόμενος στην Αγγλία και Berger (1905, 1908) με εργασίες στην Γερμανία και Ιταλία. Η κατά Berger κατηγοριοποίηση, ειδικότερα, ήταν πολύ διάσημη και κέρδισε ευρύτερη αποδοχή, περισσότερο λόγω του ότι μία τουλάχιστον από τις συνεισφορές του στην Aloe (Berger, 1908) δημοσιεύτηκε σαν μέρος του Engler's με τίτλο Das Pflanzenreich, που σημαίνει Το Βασίλειο των Φυτών, και το οποίο ήταν μία ανανέωση του Linnaeus (1753) Species Plantarum. Αυτό βασικά σημαίνει ότι η δουλειά του Berger έτυχε ευρείας κυκλοφορίας. Επομένως δεν αποτελεί έκπληξη ότι οι ενδογενικευμένες κατηγοριοποιήσεις της Aloe τόσο του Groenewald (1941) όσο και του Reynolds (1950, 1966) ήταν στοιχειωδώς βασισμένες στις προτάσεις του Berger. Ως αποτέλεσμα της κατανοησιμότητας αυτών των δύο εργασιών του Reynolds, αυτές έγιναν εργασίες-αναφορά του γένους για τα επόμενα 50 χρόνια. Με αυτόν τον τρόπο, οι ομάδες του Berger (1905, 1908) αποτελούν την πιο απαραίτητη και ευρύτερα χρησιμοποιούμενη ενδογενικευμένη συμπεριφορά –σε επίπεδο χειρισμού– την οποία όλοι οι ταξινομητές του γένους της Aloe να γυρίζουν στις εργασίες του Berger.

Καθόλου έκπληξη δεν αποτελεί ότι η κατηγοριοποίηση του Berger (1905, 1908) βασίστηκε αρχικά σε έναν συνδυασμό από μορφολογικούς χαρακτήρες περί λαχανικών και παρελθοντικούς μορφολογικούς χαρακτήρες που απλά αναπαράχθηκαν. Για πολλές οικογένειες και γένη, οι κατηγοριοποιήσεις που βασίστηκαν σε τέτοιους χαρακτήρες ακόμα και στις μέρες μας έχουν ισχύ αληθείας. Και ο λόγος είναι πολύ απλός: αυτοί οι χαρακτήρες είναι οι πιο εύκολα παρατηρήσιμοι και άμεσα διαθέσιμοι όταν επιχειρείται μία κατηγοριοποίηση. Λόγω αυτού ο Berger καθιέρωσε στην Aloe τέτοια ομαδοποίηση όπως sect. Maculatae (συμβολογραφικά πιο συγκεκριμένα Pictae) για τα φύλλα αλόης με βούλες και Sect. Graminialoe για τις αλόες με φύλλα τύπου γρασιδιού.

Πιο πρόσφατα, άλλοι χαρακτήρες πολλοί εκ των οποίων είναι κρυμμένοι και όχι εύκολα παρατηρήσιμοι έχουν υιοθετηθεί από ταξινομητές για την μελέτη αλληλεπιδράσεων και σχέσεων στο γένος Aloe. Μερικές απ' αυτές όπως τα μορφολογικά χαρακτηριστικά της γύρης, είναι προβλέψιμα παρά κατατοπιστικά στην τάξη των ειδών (Steyn et al, 1998), ενώ άλλα όπως τα χημικά χαρακτηριστικά είναι πολύ χρήσιμα για την πρόταση νέων ή επικύρωση παλαιότερων σχέσεων. Οι Alvaro M. Viljoen, Ben-Erik Van Wyk και Leonard E. Newton το 2001 χρησιμοποίησαν ορισμένα συστατικά (μικροδοντίνη, αλοενοσίδιο και αλοΐνη) σε περιβάλλον όπου συνυπάρχουν (ταυτόχρονα) σε διάφορα είδη Aloe. Για αυτόν τον σκοπό χρησιμοποιήθηκε υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης HPLC. Με αυτόν τον τρόπο πραγματοποιήθηκε η αναζήτηση μοτιβών σε 36 είδη Aloe στην νότια και δυτική Αφρική και Μαδαγασκάρη. Τα χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν ήταν οι συνήθειες ανάπτυξης (δηλαδή μέγεθος στέμματος, διακλαδώσεις και προσανατολισμός φυτού), χαρακτήρας φύλλου (προσανατολισμός φύλλου, επιφάνεια, 'δόντια' παράπλευρων άκρων και ύπαρξη σημαδιών, όπως άσπρα σημάδια της Aloe vera variety chinensis) και χαρακτήρας λουλουδιού και άνθησης (δομή άνθησης, σχήμα περιάνθιου, σημάδια περιάνθιου και προσανατολισμός λουλουδιού). Ακόμη πιθανά μοτίβα του εξιδρώματος των φύλλων και σχέσεις στην ομάδα αλοΐνης, αλοΐνοσίδιου, μικροδοντίνης μελετήθηκαν.



**Εικόνα 22.** Η ανάλυση εξιδρώματος του φύλλου διαφόρων ειδών Αloe. Ένα τυπικό HPLC χρωματογράφημα των ειδών που περιέχουν αλοΐνη Β (1), αλοΐνη Α (2), αλοΐνοσίδιο Β (3), αλοΐνοσίδιο Α (4), μικροδοντίνη Β (5) και μικροδοντίνη Α (6) καθώς και μη προσδιορισμένη ανθρόνη (7). Να σημειωθεί η ποσοτική ανισοροπία ανάμεσα στα ισομερή ανθρόνης και την απουσία χρωμονών.



Όμως, όπως και με άλλες ομάδες φυτών οι πιο ακριβείς κατηγοριοποιήσεις μπορούν να προκύψουν από την χρήση πολύπλευρων πινάκων με πολυάριθμους χαρακτήρες. Για κάποιο χρόνο ακόμα, στις Αλόες τουλάχιστον, η μη ξεκάθαρη μορφολογία τους θα παραμείνει η πιο σημαντική πηγή χαρακτήρων για ταυτοποίηση διατηρημένων και ζωντανών υλικών. Καθώς η εργαστηριακή τεχνολογία και μεθοδολογία γίνονται πιο ραφινάρισμαμένες και προσπελάσιμες, οι ενδογενείς σχέσεις μπορεί να αποσαφηνιστούν εμπλέκοντας εκλεπτυσμένους χαρακτήρες.

Το δεύτερο «τυπικό» γένος των αλοοιδών, *Lomatophyllum*, είναι μη ικανοποιητικά γνωστό από τις ταξινομικές οπτικές. Πρόσφατα προτάθηκε ότι θα έπρεπε να συμπεριλαμβανόταν στην συνωνυμία *Aloe* σαν ένας τομέας της (Reynolds, 1996), αλλά αυτό μπορεί να είναι μια υπεραπλούστευση μιας άλλοτε πολύπλοκης ταξινόμησης. Εν αναμονή μιας πιο κατανοητής εξέτασης, το γένος εδώ διατηρείται ξεχωριστά από το *Aloe*, λόγω κυρίως του μακρόστενου -baccate- και όχι καψοειδούς φρούτου.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### Άρθρα

1. H.J. Ensikat, M. Boese, W. Maderb, W. Barthlott, K. Kocha , Crystallinity of plant epicuticular waxes: electron and X-ray diffraction studies, *Chemistry and Physics of Lipids* 144 (2006) 45–59
2. Kerstin Koch, Hans-Jurgen Ensikat, The hydrophobic coatings of plant surfaces: Epicuticular wax crystals and their morphologies, crystallinity and molecular self-assembly, *Micron* 39 (2008) 759–772]

### Ιστότοποι

1. <http://how-to-care-plants.blogspot.com/2011/06/aloe-vera-syn-aloe-barbadensis.html>
2. <http://www.panoramio.com/photo/46848957>
3. <http://yaymicro.com/stock-image/aloe-vera-with-root-system/2475451>
4. <http://kpe-kastor.kas.sch.gr/leaf/lexicon/e/cuticle.htm>
5. <http://www.uni-muenster.de/GeoPalaeontologie/Palaeo/Palbot/cuticles.htm>
6. <http://www.olympusmicro.com/primer/techniques/oblique/obliqueintro.html>
7. <http://www.bumblehood.com/article/SDjOzwNDQ4CCmyJYIGXxUQ>
8. <http://eshgheman.livejournal.com/23089.html>
9. <http://www.nytimes.com/1996/08/23/arts/touching-on-the-breadth-of-hispanic-art-today.html>
10. [http://www.bcb.uwc.ac.za/Sci\\_Ed/grade10/anatomy/flowers.htm](http://www.bcb.uwc.ac.za/Sci_Ed/grade10/anatomy/flowers.htm)
11. <http://bio-microscope.blogspot.com/2008/03/table-of-contents-general-plant.html>
12. <http://bio-microscope.blogspot.com/2008/03/table-of-contents-general-plant.html>
13. [http://www.aloeveragarden.com/about\\_aloevera.html](http://www.aloeveragarden.com/about_aloevera.html)
14. <http://www.echocamp.org/grounds/red/flower/term/flower/liliaceae.html>

Η ΧΗΜΕΙΑ ΤΗΣ ΑΛΟΕ BARBADENSIS MILLER

## Κεφάλαιο 2

Ε.Μ.Π. 2011

ΓΙΑΝΝΟΥΚΟΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

## Περιεχόμενα

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ
2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ
3. ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΖΕΛΕ
  - ΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ *(ιστορική αναδρομή)*
4. ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ
  - ΠΕΡΙΛΗΨΗ
  - ΕΙΣΑΓΩΓΗ
  - ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ ΦΥΤΩΝ
  - ΟΛΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΩΝ ΧΥΜΟΥ ΑΛΟΗΣ
  - ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΣΥΝΔΕΣΜΟΙ
  - ΑΚΕΤΥΛΙΩΣΗ
  - ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΕΙΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΒΑΘΜΟΥ ΑΚΕΤΥΛΙΩΣΗΣ ΤΩΝ ΑΛΟΕ-MANNANΩΝ
  - ΜΟΡΙΑΚΟ ΒΑΡΟΣ
  - ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ
  - ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗ
- I. ΜΑΛΟΪΛΟ ΓΛΥΚΑΝΕΣ
- II. ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΠΗΚΤΙΝΗΣ
- III. ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ
  - ΛΕΚΤΙΝΕΣ ΣΤΗΝ ΑΛΟΗ
  - ΓΛΥΚΟΠΡΩΤΕΪΝΙΚΟ ΚΛΑΣΜΑ: G1G1M1D12
  - ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΑΣΗΣ
  - ΑΛΠΡΟΓΕΝΗ: Αντιαλλεργική γλυκοπρωτεΐνη
5. ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ
  - ΓΕΝΙΚΑ
  - ✓ Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΒΙΤΑΜΙΝΩΝ
  - ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ ΚΑΙ Aloe vera
6. ΑΖΩΤΟΥΧΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ
7. ΑΛΛΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

## Η ΧΗΜΕΙΑ ΤΗΣ ΑΛΟΗΣ

### 1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Όταν τα φύλλα των περισσότερων ειδών αλόης κοπούν ένα περισσότερο ή λιγότερο άφθονο εξίδρωμα εμφανίζεται, κίτρινο στην αρχή αλλά σκουραίνει ταχέως σε καφέ ή και σε βαθύ κόκκινο σε ορισμένα είδη. Αυτό το εξίδρωμα περιέχει φαινολικά συστατικά τα οποία μπορούν να διαχωριστούν χρωματογραφικά, καθώς πάνω από 80 κύριες ζώνες αποκτούν χαρακτηριστικά χρώματα με το fast blue B, ένα χρώμα που αντιδρά με φαινόλες και συζυγείς αμίνες. Τα περισσότερα συστατικά σε αυτές τις ζώνες έχουν χαρακτηριστεί. Πολλά από τα συστατικά του εξιδρώματος που έχουν προσδιοριστεί μέχρι στιγμής είναι χρωμόνες, ανθρακινόνες και παράγωγα ανθρονών. Μερικά είναι λίαν διαδεδομένα στο γένος, και μερικά είναι περιορισμένα σε λίγα είδη και ως εκ τούτου κατέχουν μια δυναμική θέση ως προς την ταξινόμησή τους με βάση την χημεία τους. Αυτά τα φαινολικά δεν εντοπίζονται στα παρεγχυματικά κύτταρα μέσα στο φύλλο, όπου πολυσακχαρίτες και γλυκοπρωτεΐνες είναι χαρακτηριστικά. Αυτά τα υποστρώματα αντιμετωπίζονται σε προσεχείς παραγράφους στο τέλος του κεφαλαίου.

### 2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η χημεία του φυτού της αλόης έχει μελετηθεί για πολλά χρόνια από έναν αριθμό από συγκεκριμένες οπτικές. Το φύλλο, το πιο συχνά μελετημένο όργανο μπορεί να χωριστεί στο εξωτερικό πράσινο μεσόφυλλο μαζί με τις αγγειακές δέσμες και στο εσωτερικό άχρωμο παρέγχυμα που περιέχει σε διάφορους βαθμούς, τον ευρέως γνωστό ζελέ της αλόης. Όταν ένα τυπικό φύλλο αλόης κόπτεται, εμφανίζεται στην επιφάνεια κοπής ένα εξίδρωμα που προέρχεται από τα τριγύρω κύτταρα των αγγειακών δεσμών, το οποίο είναι συνήθως κίτρινο ή καφέ, ενώ σε ορισμένα είδη όπως στην *Aloe confusa* Engl. και την *Aloe barbadensis* Miller ενδέχεται να αλλάξει σε βαθύ κόκκινο σαν το αίμα. Αυτό το εξίδρωμα από συγκεκριμένα είδη, όταν ξηραθεί, αποτελεί τις πικρές αλόες του εμπορίου, που χρησιμοποιούνται σαν πικραντικοί παράγοντες ή βίαια καθαρτικά. Η αρχική έρευνα προσδιόρισε χημικά την πικρότητα και καθαρτικότητα σαν έναν άνθρονο-C-γλυκοζίτη, την μπαρμπαλοΐνη. Από τότε, και άλλα συστατικά του προϊόντος αναγνωρίστηκαν και τελικά χαρακτηρίστηκαν. Μεταγενέστερα ένα μεγαλύτερο εύρος από είδη αλόης εξετάστηκαν χρησιμοποιώντας χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας και ένας μεγάλος αριθμός από περισσότερες των 80 χρωματογραφικών ζωνών αποκαλύφθηκαν, αναπαριστώντας κυρίως μη προσδιορισμένα συστατικά. Αυτές οι ζώνες απέκτησαν κωδικούς αριθμούς για την διαφοροποίηση μεταξύ τους και για περαιτέρω συζήτηση. Από τότε πολλά από αυτά τα συστατικά έχουν απομονωθεί και χαρακτηριστεί. Η κατανομή αυτών των μονάδων, είτε ως χρωματογραφικές ζώνες, είτε ως χαρακτηρισμένα συστατικά, έχει χρησιμοποιηθεί για την ταξινόμηση των ειδών της αλόης ως προς την χημεία τους. Οι βιολογικές τους δραστηριότητες διατηρούνται επί του παρόντος άγνωστες αλλά αναμένονται ενδιαφέροντα αποτελέσματα.

Ενδιαφέρον για το παρέγχυμα και τον ζελέ του έχει επικεντρωθεί στις γνωστές θεραπευτικές ιδιότητές του, παρόλο που υπάρχουν κάποιες ενδείξεις για διακυμάνσεις στην χημεία των πολυσακχαριτών του και ιδιαίτερα για τις λεκτίνες του. Σε ένα μεγάλο μέρος της ερευνας επετεύχθη η γνώση των χαρακτηριστικών των συστατικών του ζελέ, αλλά ακόμη πολλά παραμένουν άγνωστα σε πολλά είδη μακριά από τα λίγα ευρέως γνωστά.

### 3. ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΖΕΛΕ

Σχετικά με τους κεντρικούς παρεγγυματικούς ιστούς του φύλλου της αλόης αυτοί είναι άγευστοι, άχρωμοι και έχουν μία περισσότερο ή λιγότερο κολλώδη φύση. Αυτοί οι ιστοί στην Aloe vera αποδίδουν έναν ζελέ αλόης διαδεδομένο ως εμπορικός θεραπευτικό και με την μορφή κοσμητικών παρασκευασμάτων. Παρόλο που δεν είναι αποδεκτό ιατρικά λόγω της δυσκολίας καθορισμού της δόσης, υπάρχουν πολλές αναφορές των ιατρικών ιδιοτήτων του, ειδικά για δερματικά προβλήματα. Φαίνεται ότι η δραστηριότητα λαμβάνει χώρα στο ανοσοποιητικό σύστημα. Διάφορα συστατικά έχουν περιγραφεί από τον ζελέ με βασικά να είναι πολυσακχαρίτες που δίνουν και την χαρακτηριστική κολλώδη φύση του. Επίσης παρούσες είναι και γλυκοπρωτεΐνες των οποίων η βιολογική δραστηριότητα έχει αναφερθεί. Από καιρό σε καιρό έχει παρατηρηθεί και η παρουσία μικρών άλλων μορίων.

#### ➤ ΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ (ιστορική αναδρομή)

Όπως αναμένεται πολλή δουλειά έχει επιτευχθεί στην Aloe vera παρόλο που μερικά άλλα είδη έχουν επίσης, εξίσου χρησιμοποιηθεί. Στην πρώτη σύγχρονη παρασκευή πολυσακχαριτών από τον κολλώδη ζελέ της αλόης το 1948, ένα υδατοδιαλυτό υλικό παράχθηκε το οποίο και κατακρήμνιστηκε με αιθανόλη και διαλυτοποιήθηκε για την απομάκρυνση του υψηλού ποσοστού τέφρας. Ο κολλώδης ζελέ αντιπροσώπευε το 30% του ξηρού βάρους του παρεγγύματος του φύλλου. Υπό όξινη υδρόλυση ίσες ποσότητες γλυκόζης και μαννόζης παρασκευάστηκαν με μία μικρή ποσότητα ουρονικού οξέος (2%). Σε αυτήν την μελέτη οι Elizabeth Roboz και J.Haagen-Smit ήταν από τους πρώτους που ασχολήθηκαν με τον κεντρικό παρεγγυματικό ιστό, διαφορώντας για το λατέξ. Το κολλώδες στρώμα απομακρύνθηκε μηχανικά από τα φύλλα και καθαρίστηκε με κατακρήμνιση νερού-αιθανόλης. Το προκύπτον υλικό από την κατακρήμνιση είχε υψηλό περιεχόμενο τέφρας (12,9%) το οποίο και απομακρύνθηκε με διάλυση. Η κολλώδης ουσία που απομονώθηκε ήταν ένα άσπρο άμορφο προϊόν που επέδειξε σε μια στοιχειώδη ανάλυση, αντιστοιχία με μία εξοζάνη (οποιοδήποτε πολυσακχαρίτη που αποτελείται από εξόζες). Ένα μικρό ποσό ουρονικού οξέος (2,37%) προσδιορίστηκε εν συνέχεια αναλυτικά, χωρίς να επηρεάζει τα αναλυτικά δεδομένα για την εξοζάνη. Στον παρακάτω πίνακα 1 φαίνονται τα δεδομένα ανάλυσης της Aloe vera από την Χαβάη.

**Πίνακας 1.** Συστατικά των διάφορων μερών της Aloe barbadensis Miller –δεδομένα 1948

Συστατικά	Παρέγγυμα φύλλου	Αφομοιωτικός ιστός	Στέμμα
	% σε ξηρή βάση		
Πρωτεΐνη	2,87	2,62	2,32
Λιπαρά	4,76	2,49	1,93
Φυτικές ίνες	5,09	12,20	16,30
Σάκχαρα	25,50	9,02	23,30
Τέφρα	8,63	6,94	8,55
Κολλώδης ιστός	30,00	16,90	0
Καθαρή αλοΐνη, έλαιο και ρητίνη	22,30	-	-

Οι ιστοί αφομοίωσης αποτελούν στην γενικότερη έννοια, όλους εκείνους τους ιστούς που συντίθενται από κύτταρα που περιέχουν χλωροπλάστες και είναι ικανά να φωτοσυνθέσουν. Απαντώνται στα πράσινα μέρη του φυτού. Μια σημαντική πλευρά της φωτοσύνθεσης είναι η μετατροπή του διοξειδίου του άνθρακα σε οργανικά συστατικά. Τα προκύπτοντα προϊόντα καλούνται αφομοιωμένα. Τα φύλλα των ανώτερων φυτών είναι μακρά τα πιο σημαντικά κέντρα παραγωγής των οργανικών προϊόντων (εκτός από τις μονοκύτταρες υδατικές αλγείες). Οι όροι μεσόφυλλο και αφομοιωτικός ιστός δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται σαν συνώνυμα από την στιγμή που τα φύλλα που στερούνται χλωροπλάστων υπάρχουν και διαφέρουν μόνο ελάχιστα από τα

πράσινα φύλλα. Έχουν όντως μεσόφυλλο (τα φύλλα που στερούνται χλωροπλαστών), αλλά καμία αφομοίωση δεν λαμβάνει μέρος. Επιπροσθέτως, αφομοίωση μπορεί επίσης να συμβαίνει, για παράδειγμα σε μέρη του στέμματος.

Ένα όμοιο υλικό παρασκευάστηκε κατά την διάρκεια μιας παντετοποιημένης διαδικασίας το 1967 που περιέχει περίπου 15% χημικά προσδεδεμένο ασβέστιο και έχει μοριακό βάρος 450000 daltons περίπου και το οποίο ποικίλει εξαρτώμενο από τις διακυμάνσεις της διεργασίας. Ο Alexander Farkas ανέπτυξε μία μέθοδο για την μείωση του αποπολυμερισμού και/ή της υποβάθμισης των υδατικών εναιωρημάτων των πολυσακχαριτών της αλόης από τις επιδράσεις των βακτηρίων, των μυκήτων και των ενζύμων. Αυτή η μείωση μπορεί να επιτευχθεί με την ανάμιξη των πολυσακχαριτών της αλόης ή των υδατικών εναιωρημάτων με κόμμεα επιλεγμένα από την ομάδα που περιέχει το γκουαρ κόμμι και το κόμμι από χαρούπια, είτε σε ξηρή μορφή είτε υπό μορφή εναιωρήματος μέσα στο κόμμι..

Ο Alexander Farkas ήταν από τους πρώτους που παρασκεύασαν αλοιφές με βάση τους πολυσακχαρίτες της αλόης. Παρακάτω δίνονται ορισμένα απ' τα αποτελέσματα των αναλύσεών του.

**Πίνακας 2.** Η ανάλυση δείγματος πολυσακχαριτών *A. barbadensis* που διαλύεται στο νερό περιέχει μηδέν μεθυλομάδες. Αντίθετα, αν οι μεθυλομάδες θεωρηθούν ξεχωριστά από τις κυρίως μονάδες γλυκόζης και μαννόζης εντοπίζεται σημαντική ποσότητα μεθυλομάδων.

	% κατά βάρος	
	Πριν μεθυλίωσης	Μετά μεθυλίωσης
Υπόλειμμα γλυκόζης	35-40	30-37
Υπόλειμμα μαννόζης	35-40	30-37
Υπόλειμμα γλουκουρονικού οξέος	1-2	9-17
Χημικά προσδεδεμένο ασβέστιο	13-16	11,5-14,2
Χημικά προσδεδεμένο νερό	0-9	0-8,5
Μεθυλομάδες (-CH <sub>3</sub> )	0	2-20

### ⇒ ΚΟΜΜΕΑ

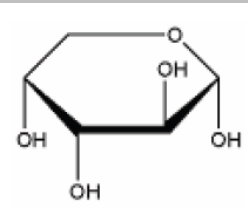
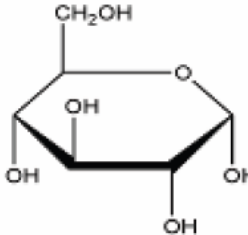
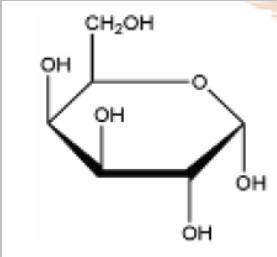
Τα κόμμεα είναι ιξώδη εξιδρώματα παραγόμενα από φυτά για επισφράγιση πληγών στους ιστούς. Αποτελούνται από υψηλά διακλαδιζόμενους πολυσακχαρίτες, ενώ η σύνθεσή και η δομή τους ποικίλουν ευρέως. Τα κυριότερα συστατικά τους μπορεί να είναι αραβινάνες, αραβινογαλακτάνες, γαλακτουρονάνες ή ξυλάνες. Τυπικά το ουρονικό οξύ είναι επίσης παρόν. Μία στενά σχετιζόμενη ομάδα πολυσακχαριτών βρίσκεται στον «γλοιό» -ή αλλιώς mucilage-. Ο γλοιός είναι επίσης ένα ιξώδες υγρό που λειτουργεί σαν αποθήκη νερού και εντοπίζεται στους κολλώδεις ιστούς του φυτού ή εκκρίνεται από τα καλύμματα σπόρων ή τις άκρες των ριζών διαφόρων φυτών. Το ουρονικό οξύ, ειδικότερα γαλακτουρονικό οξύ, -GalA- είναι επίσης ένα σύνθετος συστατικό των κολλώδων πολυσακχαριτών.

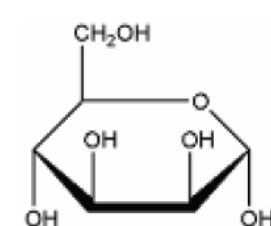
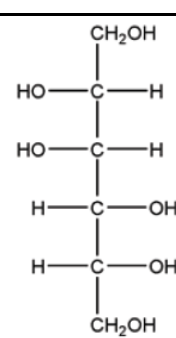
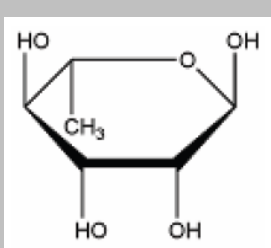
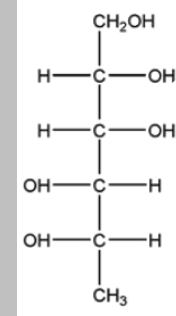
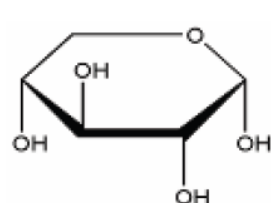
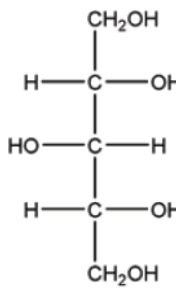
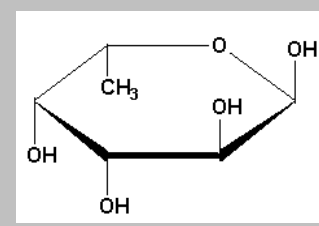
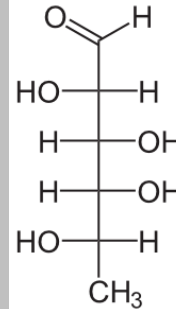
Μία επόμενη μικρή αναφορά (1968) επιβεβαίωσε την παρουσία μαννόζης και γλυκόζης, αλλά με λόγο μοριακών βαρών περίπου 10:1 με τια αραβινόζη, γαλακτόζη και ξυλόζη να είναι σε ποσότητες ιχνών. Μία νεότερη μελέτη το 1978 παρουσίασε λόγο μαννόζης προς γλυκόζη ίσο με 6:1 για ένα παρόμοιο προϊόν και κλασματοποίησε το υπόστρωμα με βαθμωτή κατακρήμνιση αιθανόλης σε τρία κλάσματα A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> και B και τότε το A<sub>1</sub> σε A<sub>1a</sub> και A<sub>1b</sub>. Αποδείχθηκε ότι όλα ήταν μερικώς

ακετυλιωμένες γλυκομαννάνες από τις οποίες το Β κλάσμα είχε το υψηλότερο Ο-ακετυλο περιεχόμενο και σχημάτιζε το πιο κολλώδες μίγμα με νερό. Περαιτέρω μελέτη έδειξε να είναι 1→4 συνδεδεμένα μόρια και να έχουν μοριακά βάρη που δεν υπερβαίνουν τα  $2 \times 10^5$  daltons. Οι Gowda et al, απέδειξαν λοιπόν ότι, παρά του ότι σε αλδές όπως η *Aloe plicatilis* οι γλυκομαννάνες είναι ένα και ευθύγραμμο μόριο, στην *Aloe vera* απαντάται ένα μίγμα από τουλάχιστον 4 ευθύγραμμες γλυκομαννάνες που διαφέρουν στο Ο-ακετυλο περιεχόμενο τους και στον λόγο γλυκόζης προς μαννόζη. Επίσης βρέθηκαν ίχνη γαλακτορουνικού οξέος, αραβινόζης, ξυλόζης και γαλακτόζης.

Αντιθέτως, ανάλυση του ζελέ μιας άλλης διαφορετικής *Aloe vera* το 1980, από τους Mandal, Das et al έδειξε υψηλό περιεχόμενο πηκτικού οξέος (70 έως 58%) διαχωριζόμενο με κατακρήμιση αιθανόλης.

Οι εναπομείναντες πολυσακχαρίτες που διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία DEAE-κυτταρίνης δείχθηκαν να είναι γαλακτάνη, γλυκομαννάνη και αραβινάνη. Η D-γαλακτάνη περιείχε 1→4 και 1→6 συνδέσμους. Η γλυκομαννάνη περιείχε γλυκόζη και μαννόζη σε λόγο γραμμομορίων 1 προς 22 ενωμένο με 1→4 συνδέσμους και με μερικές παράπλευρες αλυσίδες ενωμένες με 1→6 συνδέσμους. Το κλάσμα πηκτικού οξέος περιείχε κυρίως γαλακτορουνικό οξύ μαζί με γαλακτόζη και ίχνη γλυκόζης και αραβινόζης. Οι μονάδες γαλακτόζης ήταν ενωμένες με 1→4 διασυνδεδεμένη αλυσίδα γαλακτορουνικού οξέος. Μια πιο πρόχειρη προετοιμασία χρησιμοποιώντας μόνο κλασματική κατακρήμιση με αιθανόλη από τους Haq and Hannan το 1981, έδωσε ένα μόνο προϊόν χαρακτηριζόμενο σαν ευθύγραμμη γαλακτομαννάνη με γλυκόζη, μαννόζη και γαλακτόζη σε λόγο γραμμομορίων 2:2:1. Παρακάτω φαίνονται οι πολυσακχαρίτες που βρήκαν οι Mandal, Das et al και οι διάφοροι μέθοδοι παρασκευής τους.

	Σάκχαρο	Αλδιτόλη	
D-αραβινόζη		$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\   \\ \text{OH}-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	D-αραβιτιτόλη
D-γλυκόζη		$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	D-γλυκιτόλη
D-γαλακτόζη		$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	D-γαλακτιτόλη

D-μαννόζη			D-μαννιτόλη
L-ραμνόζη			L-ραμνιτόλη
D-ξυλόζη			D-ξυλιτόλη
L-φουκόζη			

(ΠΗΓΗ φουκόζη: <http://www.pearsonhighered.com/mathews/ch16/fucose.html> )

Χαρακτηριστικά οι Mandal, Das et al αναφέρουν ότι το κύριο πολυσακχαρικό υλικό παρόν σε διάφορες αλόες όπως *Aloe plicatilis* Miller και είδη αλόης της νότιας Ινδίας, όπως *Aloe vera* είναι οι ακετυλιωμένες γλυκομαννάνες. Η σύνθεση των πολυσακχαριτών στα διάφορα είδη αλόης βρέθηκε να ποικίλει ανάλογα με την εποχή, αφού κατά τον Απρίλιο μέχρι και τον Οκτώβριο το γαλακτορουνικό οξύ κυμάνθηκε από 85% σε 70%.

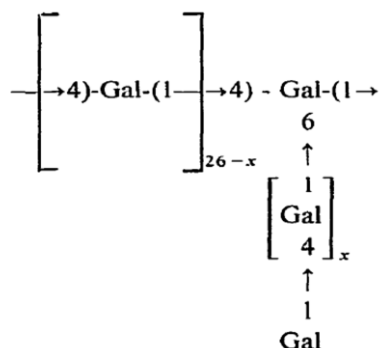
Μία κατευθυνόμενη δραστηριότητα καθαρισμού των πολυσακχαριτών του ζελέ από τον t'Hart et al το 1989, χρησιμοποιώντας τόσο χρωματογραφία ανιοντοανταλλαγής, όσο και χρωματογραφία φίλτραρίσματος του ζελέ προσδιόρισε 2 κλάσματα, B-I και B-II δείχνοντας παρεμπόδιση του κλασσικού μονοπατιού συμπλήρωσης δραστηριότητας. Περιείχαν κυρίως μαννόζη μαζί με γαλακτόζη, γλυκόζη και αραβινόζη σε λόγους 89:4:3:1 για το B-I και 22:2:1:1 για το B-II, με τα μοριακά βάρη ανάμεσά στα  $1,5 \times 10^5$  και  $4,8 \times 10^5$  daltons. Από τα δεδομένα φαίνεται ότι υπάρχει επίσης αξιοσημείωτη δραστηριότητα των μη πολυσακχαρικών τμημάτων.



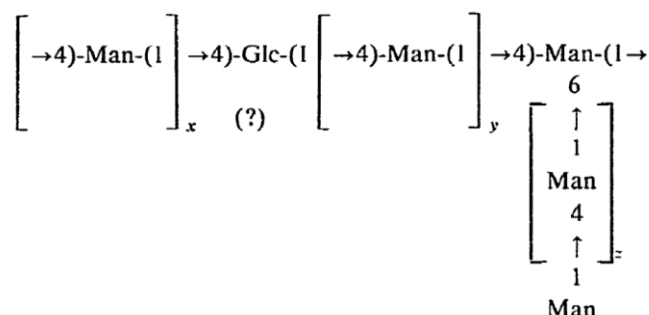
## Σύσταση πολυσακχαριτών με διάφορες μεθόδους απομόνωσης (Mandal, Das et al, 1980a)

(Συντομογραφίες: Gal: Galactose, GalA: Galacturonic acid, Glc: Glucose, Man: Mannose, Ara: Arabinose, Xyl: Xylose, Rha: Rhamnose)

Μέθοδος απομόνωσης	Κλάσμα Ps	[α] <sub>580,5</sub> (βαθμοί)*	Σύσταση		Λόγος γραμμομορίων**					
			GalA (%)	Ολική εξόζη	Gal	Glc	Man	Ara	Xyl	Rha
Εκχύλιση ζεστού νερού	A	+185,02 (0,45)	85,20	-	9,20	ίχνη	ίχνη	1,00	ίχνη	7,20
Εκχύλιση ζεστού οξαλικού αμμωνίου	B	+181,82 (0,40)	84,00	-	8,10	ίχνη	ίχνη	1,00	ίχνη	5,70
Κατεργασία του Ps-A με δ/μα CaCl <sub>2</sub> 0,2%	C1	+186,66 (0,40)	75,50	-	4,70	ίχνη	ίχνη	1,00	-	3,70
0,15%	C2	+49,79 (0,50)	41,74	40,00	44,78	1,00	7,90	4,12	-	4,42
0,1%	C3	+54,86 (0,40)	40,48	52,22	10,56	1,24	2,80	2,35	-	1,00
Κατεργασία του Ps-C3 με δ/μα CaCl <sub>2</sub> 0,25%	C4	+61,22 (0,30)	26,31	60,20	16,92	1,06	1,00	3,63	-	5,63
Χρωματογραφία χάρτου του Ps-C4 με νερό	C5	+84,0 (0,50)	3,80	92,90	Ο γραμμομοριακός λόγος δεν προέκυψε					
0,2 M NaCl	C6	+46,06 (0,90)	15,00	54,23	13,78	-	-	1,58	-	1,00
	C7	+54,26 (0,50)	27,67	21,15	3,48	-	-	1,00	-	1,49
	C8	+31,25 (0,50)	26,31	24,30	2,80	-	-	1,00	-	1,06
0,5 M NaCl	C9	+89,28 (0,50)	55,34	-	-	-	-	1,00	-	5,06



Η επαναλαμβανόμενη δομική μονάδα της D-γαλακτάνης  
(Το Gal αναπαριστά το D-γαλακτοπυρανοζικό τμήμα)



Η επαναλαμβανόμενη δομική μονάδα της γλυκομαννάνης όπου  $x+y+z=20$

## Σύσταση πολυσακχαριτών με διάφορες μεθόδους απομόνωσης (Mandal, Das et al, 1980b)

Μέθοδος απομόνωσης	Κλάσμα Ps	[α] <sub>580,5</sub> (βαθμοί)*	(%)		Λόγος γραμμομορίων**					
			GalA	Ολική εξόζη	Glc	Man	Gal	Ara	Xyl	Rha
Εκχύλιση ζεστού νερού	A	+180,0 (0,45)	70,50	9,95	Απουσία στο κλάσμα					
Κατεργασία του Ps-A με δ/μα CaCl <sub>2</sub> 0,15%	A <sub>1</sub>	+65,3 (0,47)	35,20	50,30	ίχνη	3,16	2,28	1,00	ίχνη	1,17
Κατεργασία του Ps-A <sub>1</sub> με δ/μα CaCl <sub>2</sub> 0,22%	A <sub>2</sub>	+47,5 (0,50)	9,96	65,70	ίχνη	4,78	2,67	1,00	-	ίχνη
Κατεργασία του Ps- A <sub>2</sub> με δ/μα Fehling (υπόλειμμα)	A <sub>3</sub>	-	-	90,00	1,00	21,90	-	-	-	-
Κατεργασία του Ps- A <sub>2</sub> με δ/μα Fehling (υπερκείμενο)	A <sub>4</sub>	+10,2 (1,50)	10,20	64,12	ίχνη	-	4,56	1,00	-	ίχνη

Το 1987 μία ακετυλιωμένη μαννάνη αναφέρθηκε από τον ζελέ της Aloe vera σαν εμπορικό προϊόν, την ακεμαννάνη ή καρυσίνη -carrisin™-, στην οποία αποδόθηκαν διάφοροι τύποι βιολογικής δραστηριότητας. Μεταγενέστερη δουλειά απέδειξε την θέση της Ο-ακετυλο-ομάδας ισοδύναμα είτε στους C2 και C3 και στον άνθρακα 6 της μαννοζικής περιοχής. Ένας πολύ λεπτομερής λογαριασμός της προετοιμασίας και καθαρισμού αυτού του υποστρώματος μαζί με τις χημικές και φυσικές ιδιότητες του είναι το θέμα σε δύο U.S. ευρεσιτεχνίες στα 1988 και 1990, οι οποίες επίσης αναφέρουν και την θεραπευτική δραστηριότητα της ακεμαννάνης.

Οι παραπάνω ενδείξεις υποδηλώνουν την παρουσία συγκεκριμένων πολυσακχαριτών ως κρίσιμους για την θεραπεία. Αυτοί μπορούν να ποικίλουν αξιοσημείωτα από προϊόν σε προϊόν, σε τέτοιο βαθμό ώστε είναι απαραίτητη μία ακριβής ανάλυση για την πρόβλεψη της δραστηριότητας.

#### 4. ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ

##### ➤ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Είναι ευρύτερα γνωστό ότι για πολλά χρόνια, πολλά ωφέλιμα χαρακτηριστικά των εξιδρωμάτων των φύλλων της Αλόης εντοπίζονται στους υδατάνθρακες. Τα παχιά σαρκώδη φύλλα περιέχουν τόσο υδατάνθρακες κυτταρικού τοιχώματος, όπως κυτταρίνες και ημικυτταρίνες, καθώς και υδατάνθρακες αποθήκευσης, όπως ακετυλιωμένες μαννάνες, αραβινάνες και αραβινογαλακτάνες. Όπως όλα τα κύτταρα, επίσης περιέχονται και πολλές διάφορες γλυκοπρωτεΐνες. Η ακετυλιωμένη μαννάνη είναι ο πρωταρχικός πολυσακχαρίτης στον χυμό, το εσωτερικό «καθαρό» κλάσμα του φύλλου, και έχει μελετηθεί ευρέως. Έχει ειπωθεί ότι κατέχει πολλές θεραπευτικές ιδιότητες, εμπεριεχομένης και της διέγερσης του ανοσοποιητικού συστήματος. Η γενική δομή της μαννάνης, β1→4 συνδεδεμένα υπολείμματα μαννόζης με ακετυλίωση τους, έχει καλώς ορισθεί, παρόλο που πολλά δομικά χαρακτηριστικά, όπως ο βαθμός ακετυλίωσης, το περιεχόμενο γλυκόζης και το μοριακό βάρος απομένουν για πληρέστερο προσδιορισμό σε σχέση με τις λειτουργικές ιδιότητες, τις συνθήκες εξαγωγής από το φυτό και τις συνθήκες συγκομιδής. Μπορεί επίσης να υπάρχουν δύο τύποι μαννάνης στον χυμό, μια καθαρή και μία γλυκομαννάνη. Υπάρχουν λίγες πληροφορίες διαθέσιμες για τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται για να μετατρέψουν ή να συνθέσουν την μαννάνη

ή άλλους υδατάνθρακες, Η αλόε-μαννάνη είναι πράγματι ένας μοναδικός πολυσακχαρίτης. Μελλοντικές μελέτες σχέσεων δομής-ιδιοτήτων θα ρίξουν σίγουρα περισσότερο φως στις χημικές και δομικές ιδιότητες.

#### ➤ ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα φύλλα της αλόης και ειδικότερα το εσωτερικό μέρος τους ή ο χυμός είναι ευρέως χρησιμοποιημένα σε διάφορες ιατρικές, καλλυντικές και θεραπευτικές εφαρμογές. Πολλές από τις ωφέλιμες επιδράσεις αυτών των φυτών έχουν αποδοθεί στους πολυσακχαρίτες παρόντες στον χυμό των φύλλων. Ανάμεσα στα πολλά συστατικά που έχουν προσδιοριστεί στον χυμό, οι πολυσακχαρίτες είναι οι πιο άφθονα και ευρύτερα μελετημένοι. Η πρώτη περιγραφή των πολυσακχαριτών από φύλλα αλόης έγινε από τους Rowe και Parks το 1941. Βρήκαν ότι το αδιάλυτο αλκοόλης κλάσμα του χυμού περιέχει 4,7% ουρονικό οξύ εκτός άλλων σακχάρων. Αυτό ακολουθήθηκε από μία μελέτη των Haagen-Smit το 1948 που προσδιόρισε έναν πολυσακχαρίτη αποτελούμενο από μαννόζη και γλυκόζη σε λόγο 1:1. Μεταγενέστερα μία μερικώς ακετυλιωμένη β1→4 συνδεδεμένη μαννάνη προσδιορίστηκε με βάση την σύγκριση του υπερύθρου φάσματος. Από τότε, πολλοί πολυσακχαρίτες έχουν εντοπιστεί ή απομονωθεί από τον χυμό, εμπριεχομένων και μαννάνων, γαλακτομαννάνων, αραβινογαλακτάνων, πηκτικών υποστρωμάτων και άλλων μιγμάτων σακχάρων. Ωστόσο η πιο συχνά απομονωμένη και ευρύτερα μελετημένη είναι η μαννάνη.

Σημαντικές διακυμάνσεις παρατηρούνται στον κύριο χυμό πολυσακχαριτών. Για παράδειγμα, διάφορες μελέτες προσδιόρισαν την μαννάνη σαν τον κύριο πολυσακχαρίτη του χυμού. Παρολαυτά άλλες μελέτες βρήκαν ότι ένα πηκτικό υπόστρωμα ήταν ο κύριος πολυσακχαρίτης. Ο λόγος γι' αυτήν την απόκλιση δεν είναι κατανοητός, αλλά έχει αποδοθεί σε αλλαγές εποχών και στους διάφορους γεωγραφικούς τόπους.

Οι πολυσακχαρίτες της αλόης έχουν πολύ καλά αναφερθεί σε άλλες δημοσιεύσεις. Εδώ θα επικεντρωθούμε στην δομή των πολυσακχαριτών. Επίσης θα γίνεται και αναφορά και σε άλλα είδη αλόης εκτός της Aloe vera από την στιγμή που ανήκουν στο ίδιο γένος των Λιλιάκων. Προσπάθειες έγιναν για τον προσδιορισμό του είδους της αλόης, με βάση έναν πολυσακχαρίτη ή ένα δομικό του χαρακτηριστικό όπου περιγράφεται. Διαφορετικοί τύποι μαννάνης έχουν ταυτοποιηθεί στις αλόες, περιεχομένων των μαννάνων, γλυκομαννάνων και γαλακτομαννάνων. Εδώ, ο όρος μαννάνη θα χρησιμοποιείται για την περιγραφή όλων αυτών εκτός αν δηλώνεται κάτι διαφορετικό.

Από την στιγμή λοιπόν που οι αλόες ανήκουν στην λιλιάκεια οικογένεια φυτών, θα περιγράψουμε πρώτα τα γενικά χαρακτηριστικά των πολυσακχαριτών των φυτών, πριν απ' αυτούς της αλόης έτσι ώστε αυτή να μην αντιμετωπιστεί με απομονωμένο τρόπο.

#### ➤ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ ΦΥΤΩΝ

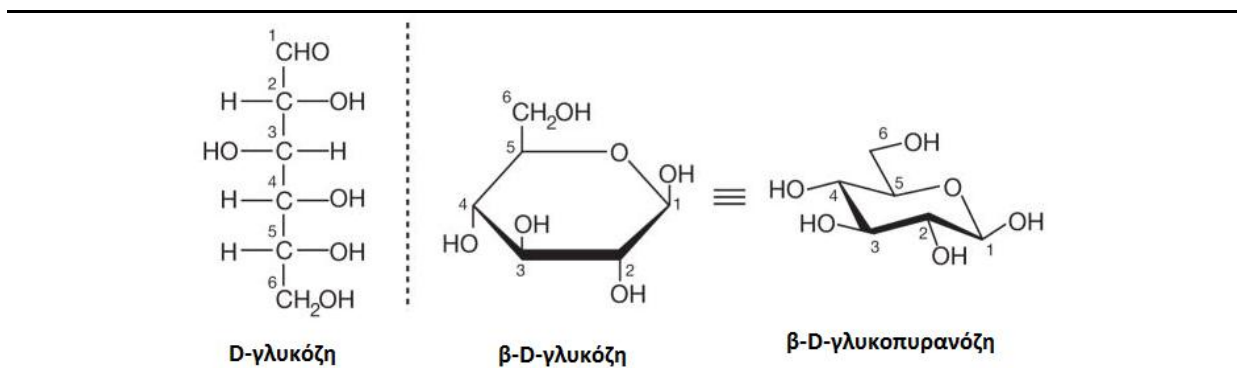
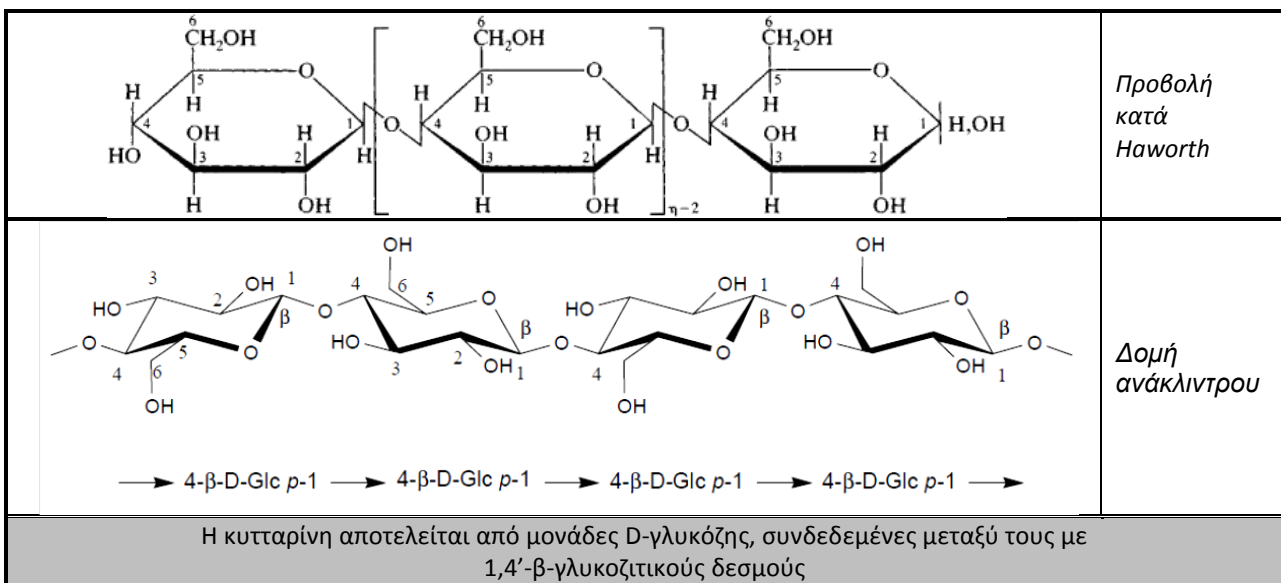
Υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός και ποικιλία φυτικών πολυσακχαριτών. Διάφοροι πολυσακχαρίτες μπορεί να βρεθούν σε διαφορετικά φυτά και μπορεί να σχετίζονται με διαφορετικές δομές των φυτών όπως τα φύλλα, οι σπόροι, οι ρίζες και οι σκληνίσκοι. Οι πολυσακχαρίτες ενδέχεται να είναι πιο περίπλοκα μόρια από τις πρωτεΐνες, τα λιπίδια και τα νουκλεϊκά οξέα. Αυτό οφείλεται σε δύο μοναδικές δομικές ιδιότητες που απαντώνται στους πολυσακχαρίτες:

- Στο ότι κάθε δύο μονοσακχαρίτες μπορούν να συνδέονται μεταξύ τους με πολύ διαφορετικούς τρόπους, όπως 1→2, 1→3, 1→4 και συνεχίζονται σε α ή β διαμορφώσεις και
- στην παρουσία διακλαδισμένων πλευρικών αλυσίδων.

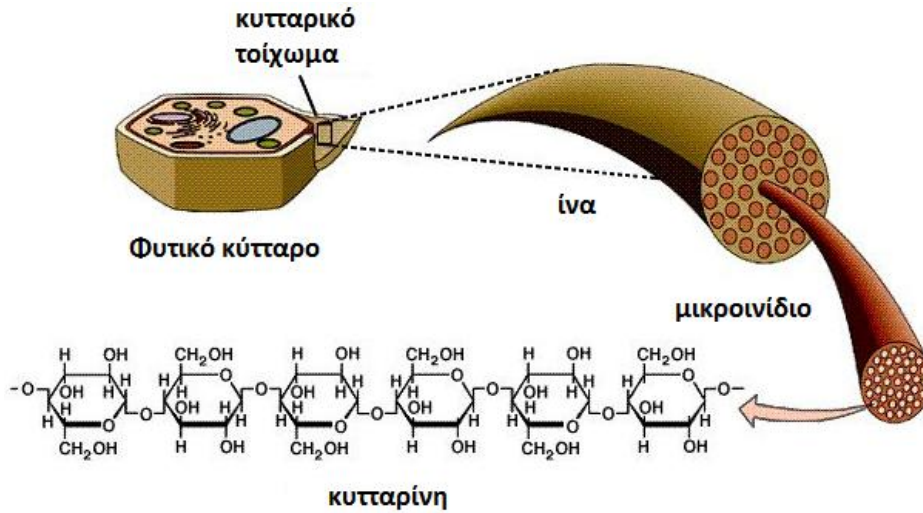
Ως εκ τούτου δεν προκαλεί έκπληξη ότι υπάρχουν τόσοι πολλοί φυτικοί πολυσακχαρίτες. Ωστόσο, από σκοπιάς κυτταρικής δομής και λειτουργιών, υπάρχουν κάποιοι κοινοί πολυσακχαρίτες σχετιζόμενοι με την δομή κάθε φυτού, παρόλο που οι δομικές τους λεπτομέρειες μπορεί να ποικίλουν ανάμεσα στα διάφορα φυτά. Οι αλόες θα αναμενόταν ως εκ τούτου να έχουν έναν

ελάχιστο αριθμό αυτών των κοινών πολυσακχαριτών, παρόλο που μερικά ιδιαίτερα λεπτομερειακά δομικά χαρακτηριστικά είναι μοναδικά.

Τα τοιχώματα των κυττάρων ενός φυτού περιέχουν κυτταρίνες, ημικυτταρίνες και πηκτίνες. Η κυτταρίνη είναι μία β1→4 συνδεδεμένη γλυκάνη και συντίθεται από ένζυμα τοποθετημένα στις πλασματικές μεμβράνες. Οι ημικυτταρίνες εμπεριέχουν τις ξυλάνες, ξυλογλυκάνες, μαννάνες και γαλακτάνες με όλες να διαθέτουν β1→4 συνδέσμους στις κύριες αλυσίδες. Οι πηκτίνες είναι όξινοι πολυσακχαρίτες αποτελούμενοι κυρίως από α1→4 συνδεδεμένα πολυγαλακτουρονικά οξέα με προσθήκη ραμνόζης στην εσωτερική αλυσίδα, έναν σύνδεσμο ουδέτερων σακχάρων ως πλευρικές αλυσίδες και μεθυλοεστεροποίηση.



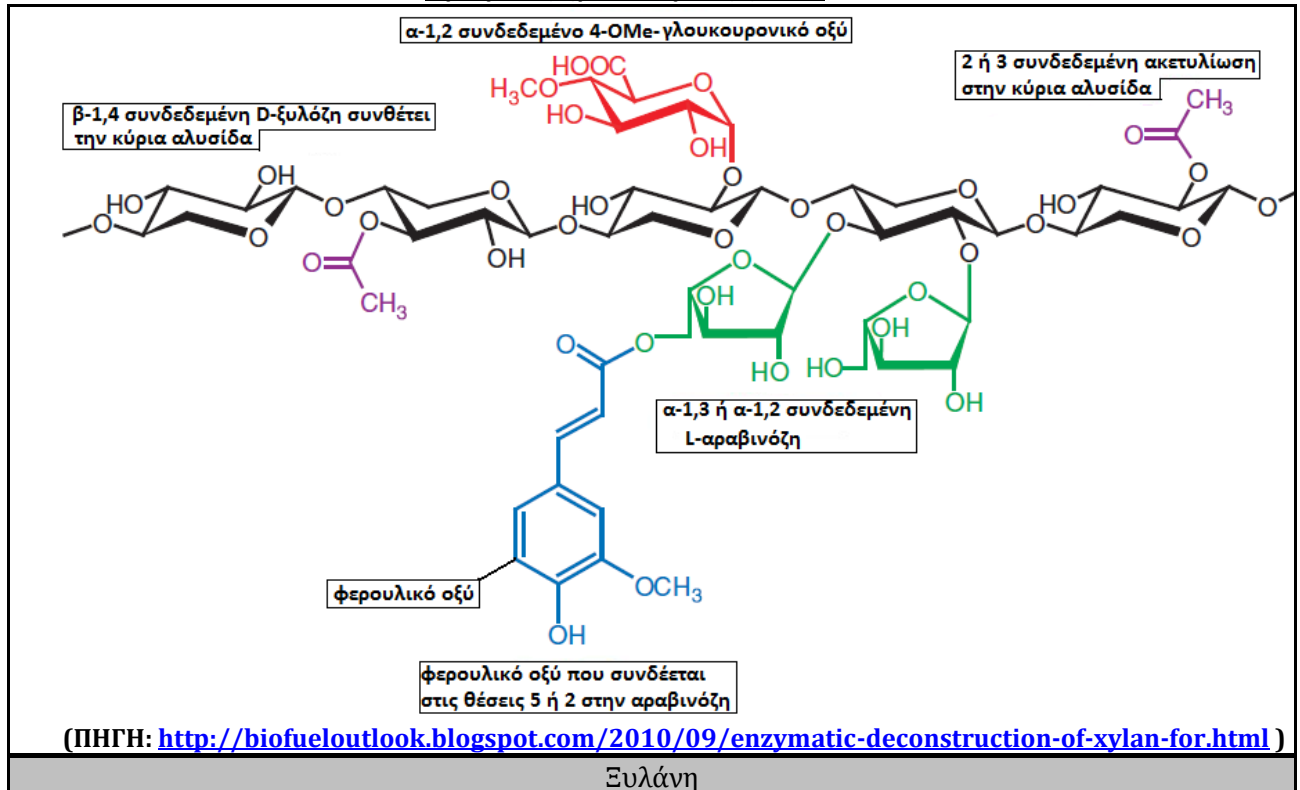
Η προβολή κατά Fischer, Haworth και ανακλίτρου της D-γλυκόζης αντίστοιχα. Η D-γλυκόζη διαθέτει δύο ανωμερή το α και το β σε ένα φαινόμενο που καλείται πολυστροφισμός. Η βάση της κυτταρίνης είναι το β ανωμερές που εικονίζεται. Στο α ανωμερές το υδροξύλιο στην θέση 1 βρίσκεται κάτω από το επίπεδο του δακτυλίου

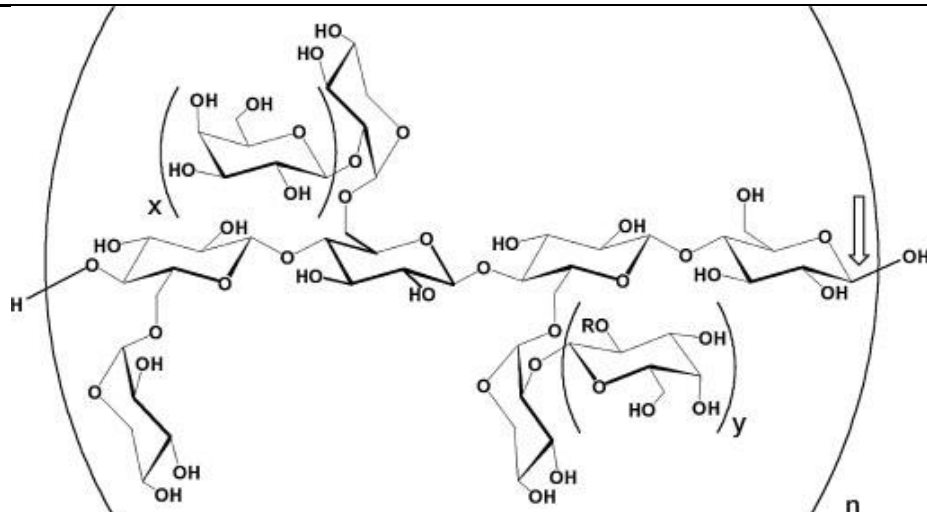


(ΠΗΓΗ: [http://www.bio.miami.edu/dana/226/226F07\\_3.html](http://www.bio.miami.edu/dana/226/226F07_3.html) )

Μια απλή προσέγγιση της διευσθέτησης της κυτταρίνης στο φυτικό κύτταρο

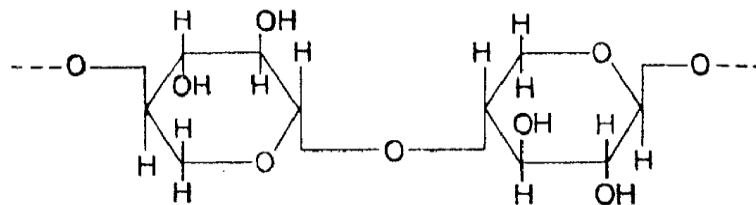
**Ορισμένες ημικυτταρίνες φυτών**





(ΠΗΓΗ: <http://glycob.oxfordjournals.org/content/16/12/1171.full.pdf+html> )

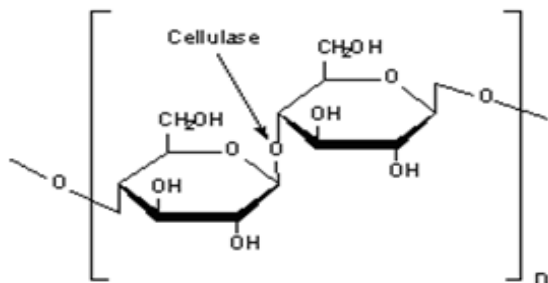
Γενική δομή ξυλονλυκάνης



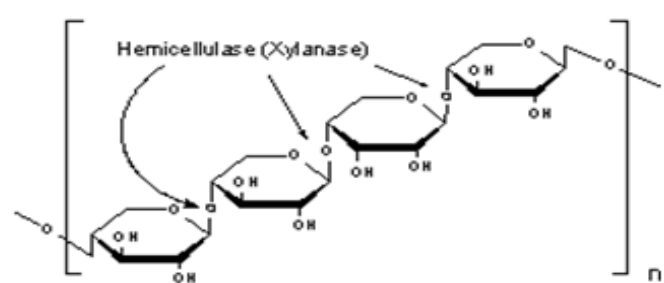
(ΠΗΓΗ: <http://www.iupac.org/publications/pac/pdf/1962/pdf/0501x0053.pdf> )

Σύμφωνα με τον Hurst η γενική δομή των ξυλάνων είναι η παραπάνω.

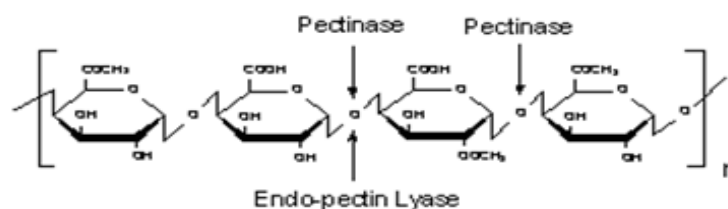
**κυτταρίνη**



**ημικυτταρίνη**



**πηκτίνη**



(ΠΗΓΗ: [http://www.bio.miami.edu/dana/226/226F07\\_3.html](http://www.bio.miami.edu/dana/226/226F07_3.html) )

Μερικές από τις διαφορές που εντοπίζονται στα συστατικά των τοιχωμάτων των κυττάρων

Στα φυτικά κύτταρα ή ρίζες, υπάρχουν και πολυσακχαρίτες αποθήκευσης. Ο πιο σημαντικός είναι το άμυλο ( $\alpha 1 \rightarrow 4$  γλυκοζιτικό πολυμερές) που συντίθεται από κυτταρικά οργανίδια στο κυτταρόπλασμα που καλούνται πλασμίδια. Το άμυλο μπορεί να διαχωρισθεί σε δύο συστατικά, την αμυλόζη (μια ευθύγραμμη  $\alpha 1 \rightarrow 4$  γλυκάνη) και την αμυλοπηκτίνη (μια  $\alpha 1 \rightarrow 4$  γλυκάνη με  $\alpha 1 \rightarrow 6$  διακλαδώσεις). Υπάρχουν και άλλοι τύποι αποθηκευτικών πολυσακχαριτών όπως μαννάνες,

γαλακτομαννάνες και γλυκομαννάνες που απαντώνται στα παχύτερα κυτταρικά τοιχώματα των ιστών αποθήκευσης στους φυτικούς σπόρους όλοι εκ των οποίων έχουν β1→4 κύριες αλυσίδες. Στις γαλακτομαννάνες υπολείμματα μονήρων μονάδων γαλακτόζης είναι α1→6 συνδεδεμένα με υπολείμματα μαννόζης στην κύρια αλυσίδα σαν διακλαδώσεις. Στις γλυκομαννάνες, τόσο η γλυκόζη όσο και η μαννόζη είναι β1→4 συνδεδεμένα με την ευθύγραμμη αλυσίδα. Παραδείγματα αυτών των μαννάνων περιλαμβάνουν μαννάνες φοινικόδεντρου, μαννάνες Κορηας (γλυκομαννάνη) και κόμμι χαρουπιών (γαλακτομαννάνη).

Στις μεμβράνες των φυτικών κυττάρων, υπάρχουν πολλές γλυκοπρωτεΐνες και πρωτεογλυκάνες. Ένας κύριος τύπος πρωτεογλυκάνης είναι η πρωτεΐνη αραβινογαλακτάνη. Το τμήμα γλυκάνης αυτής της πρωτεογλυκάνης ή αραβινογαλακτάνης αποτελείται από 90% της ολικής μάζας της και αποτελείται από αραβινόζη και γαλακτόζη μαζί με ουρονικό οξύ και άλλα σάκχαρα σαν μικρότερα συστατικά. Επιπλέον οι αραβινογαλακτάνες αποτελούνται κατά 70% από πολυσακχαρίτες στο σύστημα Golgi των φυτών.

#### ➤ ΟΛΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΩΝ ΧΥΜΟΥ ΑΛΟΗΣ

Πριν αντιμετωπίσουμε ξεχωριστά τους πολυσακχαρίτες στον χυμό, είναι χρήσιμο να έχουμε μια γενική θεώρηση της ολικής υδρογονανθρακικής σύστασης του χυμού. Τα πρωταρχικά σάκχαρα που βρίσκονται στον χυμό είναι η μαννόζη και η γλυκόζη, αποτελούσες πάνω από 70% των ολικών σακχάρων. Οι Waller et al το 1978 προσδιόρισαν την σύσταση του λυοφιλιωμένου χυμού της *Aloe vera* (L.) Burm.f. και βρήκαν 6 σάκχαρα (αραβινόζη, γαλακτόζη, γλυκόζη, μαννόζη, ραμνόζη και ξυλόζη), μεταξύ των οποίων οι μαννόζη και γλυκόζη αποτελούσαν το 85%, με λόγο γλυκόζη προς μαννόζη ίσο με 1:1,3. Οι Femenia et al το 1999 προσδιόρισαν την σακχαρική σύνθεση των αδιάλυτων υπολειμμάτων αλκοόλης (AIRs) προερχόμενα από τον χυμό της *Aloe vera* και βρήκαν 8 σάκχαρα (αραβινόζη, γαλακτόζη, γλυκόζη, μαννόζη, ραμνόζη, ξυλόζη, φουκόζη και ουρονικό οξύ), μεταξύ των οποίων οι μαννόζη και γλυκόζη αποτελούσαν το 73% με λόγο γλυκόζης προς μαννόζη 1:1,7. Στην τελευταία περίπτωση οι ελεύθεροι μονοσακχαρίτες πολύ πιθανόν να εξαιρούνται λόγω της διαλυτότητας τους και άρα η ανάλυση αντικατοπτρίζει περισσότερο την σύνθεση πολυσακχαριτών.

Οι μονοσακχαρίτες είναι ένα σημαντικό συστατικό του χυμού, αποτελώντας το 20% με 30% του ολικού ξηρού υλικού από τον υγρό χυμό της *Aloe vera* που παρασκευάστηκε με φυγοκέντριση ή εκβολή. Η γλυκόζη είναι ο κυρίαρχος μονοσακχαρίτης έως και 95% των ολικών μονοσακχαριτών. Αυτός είναι και ο πιθανός λόγος που υπάρχει λιγότερη γλυκόζη στα AIRs απ' ότι σ' ολόκληρο τον ζελέ.

#### IV. MANNANES

Οι μαννάνες αποτελούν ένα σημαντικό συστατικό για την οικογένεια των ημικυτταρίνων και μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τέσσερις υποοικογένειες:

- ευθύγραμμες μαννάνες
- γλυκομαννάνες
- γαλακτομαννάνες και
- γαλακτογλυκομαννάνες.

Καθένας απ' αυτούς τους πολυσακχαρίτες παρουσιάζει β1→4 συνδέσμους στην κύρια αλυσίδα και περιέχει μαννόζη ή συνδυασμό υπολειμμάτων μαννόζης και γλυκόζης. Επιπλέον, η κύρια αλυσίδα των μαννάνων μπορεί να έχει πλευρικές αλυσίδες γαλακτόζης η οποία να συνδέεται στην κύρια αλυσίδα με δεσμούς α,1-6.

Οι μαννάνες αποτελούν τα κύρια συστατικά του κλάσματος των ημικυτταρίνων στα μαλακά ξύλα ή στην κωνοφόρο ξυλεία και εμφανίζουν ευρεία διάδοση ανάμεσα στους φυτικούς ιστούς. Στα φυτά έχουν τριπλή λειτουργικότητα:

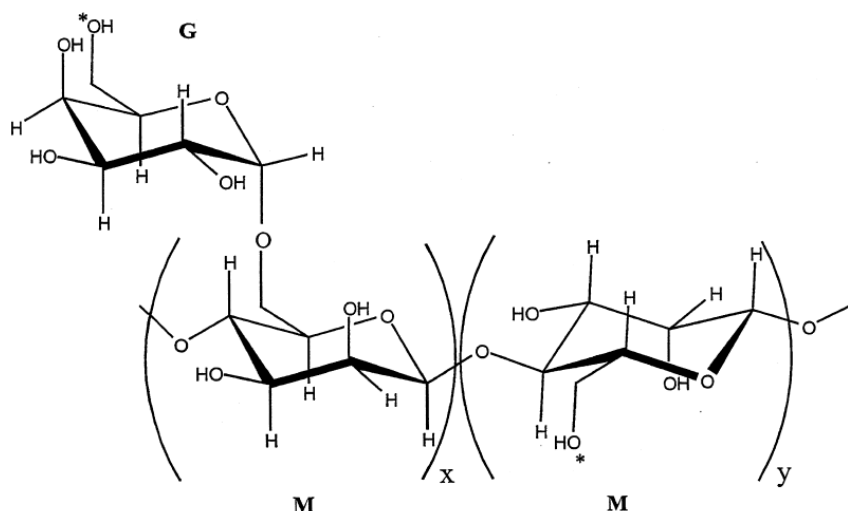
- Δομική λειτουργία, που δρουν σαν ημικυτταρίνες που συνδέουν την κυτταρίνη.
- Αποθηκευτική λειτουργία, σαν μη αμυλούχα υδρογονανθρακικά αποθέματα στα τοιχώματα των ενδοσπέρμιων, στα χυμοτόπια των σπόρων και στα χυμοτόπια των ιστών των λαχανικών.
- Λειτουργία σήματος, δηλαδή μόριο σηματοδότησης στην ανάπτυξη και εξέλιξη του φυτού.

Οι ευθύγραμμες μαννάνες είναι ομοπολυσακχαρίτες αποτελούμενοι από ευθύγραμμες αλυσίδες με 1,4-συνδεδεμένα β-D-μαννοπυρανοζικά υπολείμματα και περιέχουν λιγότερο από 5% γαλακτόζη. Μερικές απ' αυτές τις μαννάνες, ειδικά της *Aloe vera*, παρουσιάζουν ανοσοφαρμακολογικές και θεραπευτικές ιδιότητες. Αυτή η κατηγορία των μαννάνων αποτελούν βασικές δομικές μονάδες στα ξύλα και τους σπόρους πολλών άλλων φυτών όπως στα καρύδια και στους πράσινους σπόρους του καφέ. Σε μερικά είδη άλγεων, οι ευθύγραμμες μαννάνες φαίνεται να αντικαθιστούν την κυτταρίνη σαν την κύρια γλυκάνη του κυτταρικού τοιχώματος. Σ' αυτήν την ειδική περίπτωση απομονώνεται σαν α-κυτταρίνη. Στα πράσινα άλγη με το όνομα *Siphonales* περιέχεται μία β1→4 συνδεδεμένη μαννάνη με δομή παρόμοια με αυτήν της κυτταρίνης. Ωστόσο, η αλλαγή του -OH σε κάθε σάκχαρο στην αντίθετη μεριά του δακτυλίου δημιουργεί διαφορετικά σχέδια των δεσμών του υδρογόνου με συνέπεια ένα διαφορετικό σύνολο μηχανικών ιδιοτήτων και χαμηλότερη σταθερότητα από της κυτταρίνης.

Οι γαλακτομαννάνες των φυτών αποτελούνται από υδατοδιαλυτά 1,4-συνδεδεμένα β-D-μαννοπυρανοζικά υπολείμματα με πλευρικές αλυσίδες από 1,6-συνδεδεμένη α-D-γαλακτοπυρανοζική ομάδα επισυναπτόμενη στην κύρια αλυσίδα σε διάφορες αποδόσεις. Αυτό σημαίνει ότι με αύξηση των θέσεων διακλαδώσεων των D-γαλακτοπυρανοζιτών στο πολυμερές της κύριας αλυσίδας, που είναι υδρόφιλοι, αυξάνει και το ποσοστό γαλακτόζης και επομένως αυξάνεται η διαλυτότητα στο νερό. Οι ρεολογικές ιδιότητες λοιπόν των γαλακτομαννάνων, εμπεριεχομένων και της χρήσης του ως πυκνωτικό μέσο και πρόσθετο, έχουν ευρείες εφαρμογές στην βιομηχανία γενικότερα και στην βιομηχανία τροφίμων ειδικότερα. Διαφορές στην κατανομή των D-γαλακτόσυλο μονάδων ανάμεσα στην δομή των μαννάνων έχουν βρεθεί στις γαλακτομαννάνες από διαφορετικές πηγές. Οι αληθινές γαλακτομαννάνες είναι εκείνες οι μαννάνες που περιέχουν περισσότερο από 5% w/w των μονάδων D-γαλακτόζης. Οι γαλακτομαννάνες είναι κυρίως παρούσες στους σπόρους της οικογένειας των Leguminosae και εντοπίζονται στο ενδοσπερμικό τμήμα των σπόρων έχοντας πολλές φυσιολογικές λειτουργίες σε γενικότερο επίπεδο όπως:

- 1) Διατηρούν το απαραίτητο νερό για την ανάπτυξη του σπόρου και
- 2) Η παρουσία τους στους σπόρους σε περιοχές με υψηλές θερμοκρασίες αποτρέπει στην απόλυτη αφυδάτωση κάτι που θα ήταν καταστροφικό για την βλάστηση του σπόρου λόγω μετουσίωσης των πρωτεϊνών βλάστησης.





(ΠΗΓΗ: Specific modifications of galactomannans,  
M.R. Sierakowska,b, M. Milasa, J. Desbrie`resa, M. Rinaudoa)

Σχηματική αναπαράσταση ενός μορίου γαλακτομαννάνης.

Με G αναπαρίσταται η μονάδα γαλακτόζης και με M η μονάδα της μαννόζης, ενώ με το x οι μονάδες της γαλακτόζης και με y οι μονάδες της ελεύθερης μαννόζης. Οι διαθέσιμες θέσεις για χημική μετατροπή είναι  $\{M/G=(x+y)/x\}^*$ . Με  $-CH_2OH$  είναι η ατόφια γαλακτομαννάνη και με  $-CH_2OH$  ή  $COOH$  η οξειδωμένη γαλακτομαννάνη.

Οι μαννάνες είναι οι πιο ευρέως μελετώμενοι πολυσακχαρίτες από τις αλόες. Αυτό δικαιολογείται λόγω της συχνής απομόνωσής τους και ότι έχουν παρουσιάσει διάφορες βιολογικές επιδράσεις. Η μαννάνη από την *Aloe vera* είναι μερικώς ακετυλιωμένη β1→4 πολυμαννόζη. Μια μαννάνη με αυτά τα δύο πρωταρχικά χαρακτηριστικά:

- β1→4 σύνδεσμοι και
- ακετυλίωση

έχουν εντοπιστεί στα αναλυόμενα είδη αλόης. Σε μερικά παρασκευάσματα, η μαννάνη επίσης περιείχε ένα σημαντικό ποσό γλυκόζης και ως εκ τούτου καλείται γλυκομαννάνη. Η αλοεμαννάνη εμφανίζεται να είναι δομικά μοναδική ανάμεσα στις ευρέως γνωστές β1→4 μαννάνες των φυτών εμπεριεχόμενων της γαλακτομαννάνης, Κορηας μαννάνης και μαννάνης χαρουπιών και ως εκ τούτου κάνοντας την ένα συστατικό χαρακτηριστικό των ειδών της αλόης (και πιθανόν και άλλων μελών της οικογένειας των Λιλιάκων). Οι άλλες προαναφερθείσες μαννάνες είτε έχουν διακριτές είτε μη ακετυλιωμένες και διαλυτές πλευρικές αλυσίδες.

➤ **ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΣΥΝΔΕΣΜΟΙ**

Οι δομές των β1→4 αλοεμαννάνων όπως περιγράφονται στην βιβλιογραφία ποικίλουν σημαντικά ως προς τον βαθμό ακετυλίωσης (d.s. ή degree of acetylation substitution), την παρουσία γλυκόζης ή/και άλλων σακχάρων και την παρουσία διακλαδώσεων. Οι Paulsen et al το 1978, περιέγραψαν μια ακετυλιωμένη β1→4 γλυκομαννάνη με γλυκόζη προς μαννόζη 1:2,8 και βαθμό υποκατάστασης των ομάδων (d.s.) ίσο με 0,67 από την *Aloe plicatilis* (L.) Miller. Η υποκατάσταση με ακετυλομάδες συνέβη τυχαία ανάμεσα στις διαθέσιμες θέσεις. Διάφορες β1→4 ακετυλιωμένες γλυκομαννάνες με λόγο γλυκόζης προς μαννόζη από 1:0,6 έως 1:19 και d.s. έως και 0,78 απομονώθηκαν κάτω από διαφορετικές συνθήκες εκχύλισης από την *Aloe vera* από τους Gowda et al το 1979. Και στις δύο περιπτώσεις τα υπολείμματα γλυκόζης βρέθηκαν να είναι β1→4 συνδεδεμένα με τα υπολείμματα μαννόζης να βρίσκονται ενωμένα στην κύρια αλυσίδα χωρίς καθόλου διακλαδώσεις. Μία όμοια ακετυλιωμένη γλυκομαννάνη περιγράφηκε και στην *Aloe vahombe* που είχε λόγο γλυκόζης προς

μαννόζη 1:3 και d.s. ίσο με 0,33. Επίσης προτάθηκε ότι η ακετυλίωση πρώτα συμβαίνει στα υπολείμματα γλυκόζης. Αύτη η ομάδα ερευνητών πιο μετά απομόνωσε διαφορετικές γλυκομαννάνες υπό διαφορετικές συνθήκες από τα ίδια είδη αλόης που διέφεραν στον λόγο γλυκόζης προς μαννόζη (1:2 έως 1:4) και στην ακετυλίωση (d.s. από 0,17 έως και 0,57). Οι Wozniowski et al το 1990 απομόνωσαν μία γλυκομαννάνη από την *Aloe arborescens* Miller που είχε λόγο γλυκόζης προς μαννόζη ίσο με 1:19 και d.s. ίσο με 1,3.

Από την άλλη οι Mandal και Das (1980b) περιέγραψαν μία γλυκομαννάνη από την *Aloe vera*, που είχε λόγο γλυκόζης προς μαννόζη ίσο με 1:20, αλλά ήταν μη ακετυλιωμένη, αδιάλυτη και διακλαδισμένη. Οι Gowda et al το 1980 μετά από επαναλαμβανόμενα βήματα καθαρισμού, απομόνωσαν καθαρά παρασκευάσματα β1→4 μαννάνης που δεν περιείχε καθόλου γλυκόζη με d.s. ίσο με 0,81 έως και 0,87 τόσο από την *Aloe saponaria* (Ait.) Haw όσο και την *Aloe vanbalenii* Pillans. Μία άλλη ακετυλιωμένη β1→4 μαννάνη χωρίς γλυκόζη προσδιορίστηκε από τις *Aloe saponaria* και *Aloe arborescens* από τους Yagi et al εν έτη 1977, 1984 και 1986. Οι Haq και Hannan το 1981 απομόνωσαν μια γλυκογαλακτομαννάνη με λόγο γλυκόζης/μαννόζης/γαλακτόζης ίσο με 2:2:1 από την *Aloe vera*.

Διάφορες άλλες αναφορές περιέγραψαν την απομόνωση πολυσακχαριτών πλούσιων μαννόζης από αλόες, αλλά καμία ανάλυση συνδέσμων δεν πραγματοποιήθηκε. Οι δύο πολυσακχαρίτες που απομονώθηκαν από τους Hikino et al το 1980 από την *Aloe arborescens* φάνηκαν να είναι πολύ διαφορετικοί από τους άλλους. Ο ένας περιείχε γλυκόζη και μαννόζη με λόγο 1:0,3 και ο άλλος ραμνόζη, φουκόζη, αραβινόζη, ξυλόζη, μαννόζη, γαλακτόζη και γλυκόζη με λόγο 0,3:0,2:0,1:0,1:0,2:0,3 και οι δύο περιείχαν ένα μικρό ποσό πρωτεΐνης και ήταν ακετυλιωμένοι. Οι t'Hart et al το 1989 απομόνωσαν έναν πολυσακχαρίτη πλούσιο μαννόζης από την *Aloe vera* με χρωματογραφία ανιοντοεναλλαγής που διαιρέθηκε περαιτέρω σε δύο άλλα κλάσματα (B-I και B-II) με χρωματογραφία φιλτραρίσματος. Ο πολυσακχαρίτης απομονώθηκε σαν κλάσμα ενωμένος με DEAE-Sephacel σφαιρίδια. Ωστόσο, καθόλου ουρονικό οξύ ή άλλα που θα παρείχαν την βάση για τον ιοντικό χαρακτήρα δεν ανιχνεύτηκαν. Μία γλυκομαννάνη αποτελούμενη κυρίως από μαννόζη και γλυκόζη σε λόγο περίπου 1:1 απομονώθηκε από την *Aloe ferox* εκ των Mabusela et al το 1990.

### ➤ ΑΚΕΤΥΛΙΩΣΗ

Όλες οι μαννάνες ή γλυκομαννάνες που περιγράφησαν μέχρι εδώ είναι ακετυλιωμένες με μία και μόνο εξαίρεση. Διακυμάνσεις βρέθηκαν ως προς τον βαθμό ακετυλίωσης και τις θέσεις των ακετυλομάδων. Οι αναφερθείσες d.s. τιμές είχαν εύρος από 0,17 έως και 1,3. Οι Paulsen et al το 1978 βρήκαν ότι η ακετυλίωση συμβαίνει τυχαία ανάμεσα στις διαθέσιμες θέσεις, ενώ οι Manna και McAnalley το 1993 έδειξαν ότι η ακετυλίωση συμβαίνει στις θέσεις 2/3 και 6 με λόγο 1:1. Οι Radjabi et al το 1983 πρότειναν ότι η ακετυλίωση πρωταρχικά συμβαίνει στα υπολείμματα γλυκόζης.

### ➤ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΕΙΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΒΑΘΜΟΥ ΑΚΕΤΥΛΙΩΣΗΣ ΤΩΝ ΑΛΟΕ-MANNANΩΝ

Είναι ενδεικτικό ότι ανάμεσα σε όλες τις προαναφερθείσες μελέτες το πιο σταθερό χαρακτηριστικό των αλοεμαννάνων είναι η β1→4 συνδεσμολογία των κύριων αλυσίδων και η ακετυλίωσή τους. Είναι σημαντικό να σημειώσουμε ότι αυτά τα δύο χαρακτηριστικά διατηρούνται ανάμεσα στα είδη αλόης που αναλύθηκαν. Ωστόσο, σημαντικές διακυμάνσεις στην σύνθεση και βαθμό ακετυλίωσης υπάρχουν όπως περιγράφηκαν παραπάνω. Οι λόγοι για αυτές τις αποκλίσεις μπορεί να είναι πολλοί, συμπεριλαμβανομένων και διαφορών στα είδη αλόης, τις γεωγραφικές τοποθεσίες (χώρα και κλίμα) και στις αναλυτικές μεθόδους. Όπως απεικονίζεται στον πίνακα 1 φαίνεται καθαρά ότι τα είδη αλόης σίγουρα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε αυτές τις διακυμάνσεις. Καμία μαννάνη από τουλάχιστον δύο διαφορετικά είδη δείχνει ίδια χαρακτηριστικά. Επιπροσθέτως, ακόμα και μέσα στα ίδια τα είδη, οι μαννάνες που περιγράφονται από διάφορους ερευνητές μπορεί να διαφέρουν. Αυτό ξεκάθαρα οδηγεί σε έναν άλλο σημαντικό παράγοντα που μπορεί να οδηγήσει σε

διακυμάνσεις, όπως η φυσική παρουσία διαφορετικών ειδών μαννάνης ακόμα και στα ίδια είδη αλόης. Δύο διαφορετικοί τύποι μαννάνων έχουν προσδιοριστεί στις αλόες, ο ένας με γλυκόζη (πιθανόν και με άλλα σάκχαρα) και ο άλλος χωρίς γλυκόζη (μία καθαρή μαννάνη). Είναι συχνά διερωτώμενο το αν τα υπολείμματα γλυκόζης είναι απλώς από έναν μολυσματικό πολυσακχαρίτη ή από άλλα συστατικά. Ωστόσο η παρουσία της γλυκόζης στην αλυσίδα της μαννάνης ή της γλυκομαννάνης έχει ανισοτρόπως δειχθεί για τουλάχιστον μερικά είδη αλόης, και ισχυρά προτείνεται για άλλα (πίνακας). Μελέτες χρησιμοποιώντας διαδοχική εκχύλιση υπό αυξανόμενες συγκεντρώσεις αιθανόλης, ξεκάθαρα προτείνουν ότι διαφορετικά είδη μαννάνης είναι παρόντα παρόλο που ένας τύπος φαίνεται να είναι ο κυρίαρχος. Ως εκ τούτου είναι πολύ ενδιαφέρον να σημειώσουμε ότι ακολουθώντας την διαδοχική εκχύλιση με αυξανόμενη συγκέντρωση αιθανόλης το περιεχόμενο γλυκόζης σε έναν απομονωμένο πολυσακχαρίτη σταδιακά μειώνεται μαζί με την σταδιακή αύξηση του περιεχομένου μαννόζης και τελικώς μόνο η μαννόζη ή μαννάνη ήταν παρούσες στην περίπτωση των Gowda et al το 1979. Φαίνεται ότι η μαννάνη ή γλυκομαννάνη με χαμηλό περιεχόμενο γλυκόζης (λόγος γλυκόζης προς μαννόζη μικρότερο του 1:4) κατακρημνίζεται μόνο σε υψηλές συγκεντρώσεις αιθανόλης. Ο λόγος αυτής της παρατήρησης δεν είναι προφανής και μπορεί να σχετίζεται με τον βαθμό ακετυλίωσης και/ή το μέγεθος. Η μαννάνη ή γλυκομαννάνη με μικρό περιεχόμενο γλυκόζης είναι το κυρίαρχο κλάσμα σε όλες τις μελέτες οι οποίες αντιμετώπισαν τα ακόλουθα 4 είδη αλόης: *A. vera*, *A. saponaria*, *A. vanbalenii* και *A. vahombe*. Επομένως δεν αποτελεί έκπληξη ότι όταν οι πολυσακχαρίτες ή μαννάνες απομονώθηκαν ως ολόκληρα συστατικά ή περεταίρω καθαρισμένα με χρωματογραφία, μόνον οι μαννάνες είχαν καθόλου ή πολύ λίγα υπολείμματα μαννόζης.

Μία άλλη τάση ξεκάθαρα από τον πίνακα είναι ότι όσο μεγαλύτερο είναι το περιεχόμενο γλυκόζης τόσο χαμηλός είναι ο βαθμός ακετυλίωσης (d.s.). Άρα οι γλυκομαννάνες με υψηλό περιεχόμενο γλυκόζης έχουν μικρότερο d.s. απ' ότι οι μαννάνες ή γλυκομαννάνες με χαμηλό περιεχόμενο γλυκόζης. Αυτό προτείνει ότι η ακετυλίωση συμβαίνει πρώτα στα υπολείμματα μαννόζης ή διαφορετικά ότι οι μαννάνες ή γλυκομαννάνες με χαμηλό περιεχόμενο γλυκόζης είναι ακετυλιωμένες κατά προτίμηση. Αυτοί όλοι, και όχι μόνον, αποτελούν προτεινόμενες αιτιολογήσεις της παρατηρούμενης διασποράς στην τιμή του d.s. στα διαφορετικά παρασκευάσματα μαννάνης.

Όλες αυτές οι αναλύσεις μαζί προτείνουν ισχυρά ότι: (1) τόσο οι μαννάνες όσο και οι γλυκομαννάνες είναι παρούσες στα ίδια είδη αλόης και το πιο από τα δύο συστατικά διαχωρίζεται εξαρτάται από την μέθοδο εκχύλισης και (2) οι μαννάνες ή γλυκομαννάνες με χαμηλό περιεχόμενο γλυκόζης (λόγος γλυκόζης προς μαννόζη μικρότερο του 1:4) είναι οι κυρίαρχοι πολυσακχαρίτες και είναι βαριά ακετυλιωμένοι. Ενδείξεις επίσης προτείνουν ότι η διάκριση στην σύνθεση ανάμεσα στις μαννάνες και γλυκομαννάνες να είναι σταδιακή, δηλαδή το περιεχόμενο γλυκόζης μπορεί σταδιακά να αυξάνεται σταδιακά από το 0% (καθαρή μαννάνη) έως και το 50% ή περισσότερο.

#### ➤ ΜΟΡΙΑΚΟ ΒΑΡΟΣ

Μέχρι τώρα, τα μοριακά βάρη των αλοεμαννάνων προσδιορίστηκαν στις περισσότερες περιπτώσεις με χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους χρησιμοποιώντας ουδέτερους πολυσακχαρίτες με γνωστά μοριακά βάρη σαν πρότυπα. Ωστόσο άλλες μέθοδοι έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί, όπως η υπεφυγοκέντρωση ισορροπίας και η οσμομετρία. Προφανώς, οι μαννάνες που απομονώνονται από τον φρέσκο χυμό είναι πολύ μεγάλα μόρια με εκτιμώμενο μέγεθος μεγαλύτερο του  $1 \times 10^3$  Da. Σε πολλές αναφορές τα μεγέθη των απομονωμένων μαννάνων ήταν σημαντικά μικρότερα. Αυτό μπορεί να σχετιστεί με τις συνθήκες εκχύλισης και καθαρισμού καθώς και τις χρησιμοποιούμενες αναλυτικές μεθόδους. Στην περίπτωση των *t'Hart et al.* (1989) ο χυμός λυοφιλιώθηκε και αποθηκεύτηκε πριν της χρήσεως.

Αναφορά	Είδη αλόης	Περιγραφή κλάσματος	Σύνδεσμοι	Παρουσία γλυκόζης (γλυκόζη/μαννόζη)	Κλάδος	Ακετυλίωση (d.s.)
Roboz and Haagen-Smit (1948)	<b>vera</b>	-	-	Ναι (1:1)	-	-
Yagi <i>et al.</i> (1977)	arborescens	Μαννάνη	β1→4	Όχι	Όχι	Ναι (:)
Paulsen <i>et al.</i> (1978)	plicatilis	Γλυκομαννάνη	1→4	Ναι (1:2,8)	Όχι	0,67
Gowda <i>et al.</i> (1979)	<b>vera</b>	Γλυκομαννάνη	1→4	Ναι (1,5:1-1:19)		≤0,78
Mandal and Das (1980b)	<b>vera</b>	Γλυκομαννάνη	1→4	Ναι (1:20)	Ναι	Όχι
Gowda <i>et al.</i> (1980)	saponaria	Μαννάνη	-	Όχι	Όχι	0,87
	vanbalenii	Μαννάνη	-	Όχι	Όχι	0,81
Haq and Hannan (1981)	<b>vera</b>	Γλυκογαλακτομαννάνη	1→4	Ναι (2:2:1, Glc:Gal:Man)	Όχι	-
Radjabi <i>et al.</i> (1983) & Radjabi-Nassab <i>et al.</i> (1984)	vahombe	Γλυκομαννάνη	β1→4	Ναι (1:3)	Όχι	0,33
Yagi <i>et al.</i> (1984)	saponaria	Μαννάνη	β1→4	Όχι	Όχι	0,83
Vilkas and Radjabi-Nassab (1986)	vahombe	Γλυκομαννάνη	β1→4	Ναι (1:2-1:4)	-	0,17-0,57
Hikino <i>et al.</i> (1986)	arborescens	Αρμποράνη Β	-	Ναι (1:0,3)	-	0,26*
Yagi <i>et al.</i> (1986)	arborescens	Μαννάνη	β1→4	Όχι	-	0,43
t'Hart <i>et al.</i> (1989)	<b>vera</b>	Μαννάνη Β-I	-	Ναι (1:28)	-	-
		Μαννάνη Β-II	-	Ναι (1:21)	-	-
Wozniewski <i>et al.</i> (1990)	arborescens	Γλυκομαννάνη	β1→4	Ναι (1:19)	Όχι	1,3
Femenia <i>et al.</i> (1999)	<b>vera</b>	Μαννάνη (H <sub>2</sub> O, χυμός)	1→4	Ναι (1:4,6)	-	-

Σημειώσεις: το '-' υποδηλώνει ότι το χαρακτηριστικό δεν ανιχνεύτηκε και το \* ότι η τιμή ακετυλίωσης μετατράπηκε από το % περιεχόμενο (5,3) των ακετυλομάδων μαζί με ένα περιεχόμενο σε πρωτεΐνες του 10,4% (υποθέτοντας ότι το υπόλοιπο του παρασκευάσματος είναι υδατάνθρακας)

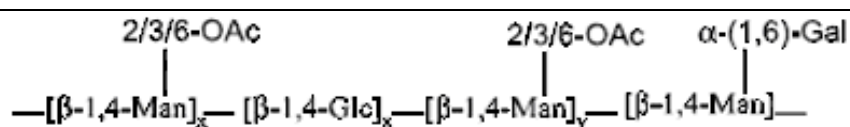
### ➤ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Η αλοεμαννάνη είναι έμφυτη αστάθειας και δύναται να υποστεί υποβάθμιση με ταχύ τρόπο. Η υποβάθμιση μπορεί να συντελεστεί από ανύψωση της θερμοκρασίας, αλλαγή του pH, βακτηριακή μόλυνση ή ένζυμα όπως μαννανάσες που μπορεί να είναι παρούσες στον χυμό. Τα βακτήρια είναι επίσης πηγές μαννανασών. Σε μερικά εμπορικά προϊόντα αλόης, η προετοιμασία του χυμού γίνεται με κυτταρίνη. Τα παρασκευάσματα κυτταρίνης, εξαρτώμενα από την πηγή και την καθαρότητα, συχνά μολύνονται με μαννανάσες. Άρα η παρούσα μαννανάση στα παρασκευάσματα κυτταρίνης μπορεί να προκαλέσει υποβάθμιση της μαννάνης. Το υψηλότερο pH μπορεί να προκαλέσει αποακετυλίωση που καθιστά την μαννάνη αδιάλυτη, καθώς η ακετυλίωση είναι παράγοντας κλειδί για να γίνει η μαννάνη διαλυτή. Αυτό είναι προφανές με τα κλάσματα A1a και A3 που περιγράφηκαν από τους Gowda *et al* το 1979 και Mandal *et al* (1980b), αντίστοιχα που ήταν μη ακετυλιωμένα και αδιάλυτα. Οι Gowda *et al* το 1979 παρατήρησαν περεταίρω ότι χειρισμός με αλκαλικά των ακετυλιωμένων γλυκομαννάνων προκαλεί την μαννάνη να γίνει αδιάλυτη και να χάσει την ικανότητα να σχηματίσει ένα ιξώδες διάλυμα. Παρόμοιες παρατηρήσεις έγιναν και από τους Vilkas και Radjabi-Nassab το 1986.

Όταν διαλυτοποιείται, η μαννάνη απομονώνεται από τον φρέσκο χυμό παράγοντας ένα πολύ ιξώδες διάλυμα. Αυτό παρατηρήθηκε πολύ νωρίς, μόλις το 1948, από τους Roboz και Haagen-Smit. Οι ρεολογικές μελέτες έδειξαν ότι η μαννάνη είναι η βάση της συμπεριφοράς της ψευδοπλαστικής ροής από τον υγρό ζελέ από τον χυμό. Αλλά μόλις η μαννάνη υποβαθμιστεί ο ζελέ γίνεται λιγότερο ιξώδες και εκδηλώνεται ιδιότητα νευτωνικής ροής.

### ➤ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗ

Ο McAnalley (1988 και 1990) περιέγραψαν μία ουσιαδώς μη υποβαθμισμένη β1→4 μαννάνη, την ακεμαννάνη από την Aloe vera και τις διεργασίες για την επίτευξη της μη υποβάθμισης. Η ακεμαννάνη (CarraVet Acemannan Immunostimulant) έχει πρόσφατα γίνει αποδεκτή από την Υπηρεσία Γεωργίας των ΗΠΑ (USDA-United States Department of Agriculture) σαν βιολογικό για τον χειρισμό του ινοσαρκώματος στις γάτες και στους σκύλους. Πολύ προσπάθεια έγινε για την μελέτη της χημείας και των λειτουργιών της ακεμαννάνη. Ο όρος ακεμαννάνη -acemannan- έχει συχνά χρησιμοποιηθεί για την περιγραφή γενικά μαννάνων από την Aloe vera.



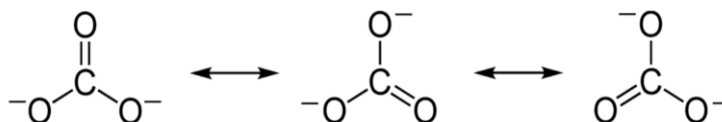
Η δομή της ακεμαννάνης

Παρόλο που διαφορετικά αποτελέσματα στην σύνθεση των πολυσακχαριτών του χυμού της αλόης έχουν περιγραφεί σε αναφορές, η συμφωνία ανάμεσα στους περισσότερους συγγραφείς είναι ότι τα μόρια ακετυλιωμένης γλυκομαννάνης είναι κυρίως υπεύθυνα για τις κολλώδεις ιδιότητες του ακατέργαστου χυμού. Βέβαια υπενθυμίζεται ότι καλύτερος όρος είναι «γλοιώδεις» ιδιότητες, αφού επακριβής μετάφραση του mucilage είναι «γλοιός».

Η ακεμαννάνη που βρέθηκε στην Aloe vera είναι γνωστή και σαν καρρυσίνη™. Διαθέτει μία κύρια αλυσίδα με β-(1→4)-D-μαννοσυλικά υπολείμματα ακετυλιωμένα στις θέσεις C2 και C3 εμφανίζοντας έναν λόγο μονομερούς μαννόζης προς ακετυλομάδα ίσο με 1:1 και περιέχοντας κάποιες πλευρικές αλυσίδες που αποτελούνται κυρίως από γαλακτόζη διασυνδεδεμένη στην θέση C6. Τα μοριακά βάρη αυτών των πολυσακχαριτών κυμαίνονται από 30 έως 40 kDa ή μεγαλύτερα και συνήθως αγγίζουν τα 1000 kDa στον φρέσκο ακατέργαστο χυμό αλόης. Οι επαναλαμβανόμενες μονάδες γλυκόζης και μαννόζης υπάρχουν σε έναν λόγο 1:3, αλλά άλλοι λόγοι όπως 1:6, 1:15 και 1:22 έχουν επίσης αναφερθεί. Αυτές οι ασυμφωνίες στους λόγους γλυκόζης προς μαννόζη έχουν εξηγηθεί από τις διαφορές μεταξύ των ειδών καθώς και από τον χειρισμό και τις διεργασίες επί του δείγματος ή του προϊόντος.

Σε μία μελέτη όπου οι σύνδεσμοι μεταξύ των μονομερών στην ακεμαννάνη αναλύθηκαν, η ακεμαννάνη έτυχε κατεργασίας με το ένζυμο ενδο-β-D-μαννανάση και τα κλάσματα μεσομερισμού των θέσεων C4 και C6 αναλύθηκαν εξονυχιστικά με χρήση C<sup>13</sup>-NMR. Αυτή η ανάλυση υπέδειξε ότι η ακεμαννάνη περιέχει μία και μόνο κύρια αλυσίδα με β-(1→4) μαννόζη, μαζί με β-(1→4) γλυκόζη προσαρμοσμένη στην κύρια αλυσίδα, και τις πλευρικές αλυσίδες της γαλακτόζης να βρίσκονται σε συνδεσμολογία α-(1→6).

Η διαμόρφωση του β-(1→4) γλυκοζιτικού δεσμού της ακεμαννάνης αποτελεί σημαντικό κομμάτι για την θεραπευτική επίδραση του ζελέ της Aloe vera, από την στιγμή που οι άνθρωποι αδυνατούν να διασπάσουν ενζυμικά αυτούς τους δεσμούς. Η ακεμαννάνη που απαντάται στις αλόες είναι δομικά μοναδική ανάμεσα στις άλλες μαννάνες των φυτών (οι οποίες έχουν διακριτές πλευρικές αλυσίδες ή είναι μη ακετυλιωμένες και αδιάλυτες), που έχει καταστήσει αυτήν την ένωση χαρακτηριστική για την ταυτοποίηση ενός φυτού ως αλόη. Αυτό βέβαια δεν αποτελεί αναγκαιότητα, αφού ενδέχεται στο μέλλον να εντοπιστεί μία αλόη με απουσία αυτού του μορίου.



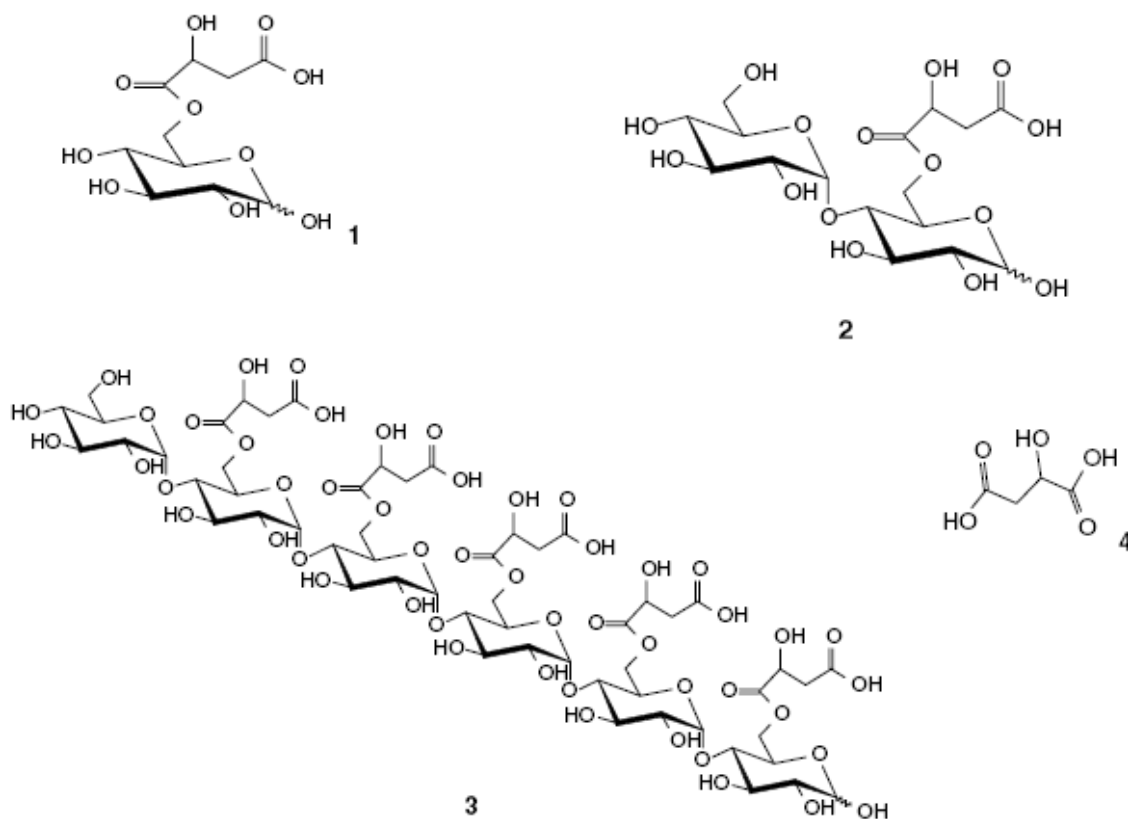
Το φαινόμενο συντονισμού καλείται διαφορετικά και φαινόμενο μεσομερισμού. Οφείλεται στην μετατόπιση ηλεκτρονίων τα οποία δεν μπορούν να αναπαρασταθούν με μία και μόνη δομή κατά Lewis. Η πραγματική δομή τους εντοπίζεται ανάμεσα στα διαφορετικά μεσομερίσματα ή δομές συντονισμού ή ισομερή. Η προκύπτουσα δομή καλείται υβρίδιο συντονισμού και αποτελεί δομή ισορροπίας των ισομερών.

(ΠΗΓΗ: Wikipedia)

## V. ΜΑΛΟΪΛΟ ΓΛΥΚΑΝΕΣ

Τρεις ακετυλιωμένοι υδατάνθρακες μαλικού οξέος έχουν απομονωθεί από τον ζελέ της Aloe vera και έχουν χαρακτηριστεί σαν 6-O-(1-L-μαλόϋλο)-α, β-D-Glcp (με τον όρο βερασυγλυκάνη Α), α-D-Glcp (1→4)-6-O-(1-L-μαλόϋλο)-α, β-D-Glcp (με τον όρο βερασυγλυκάνη Β) και α-D-Glcp-(1→4)-τέτρα-[6-O-(1-L-μαλόϋλο)-α-D-Glcp-(1→4)-6-O-(1-L-μαλόϋλο)-α, β-D-Glcp (με τον όρο βερασυγλυκάνη Γ).

Η βερασυγλυκάνη Α ( $C_{10}H_{16}O_{10}$ ), με μοριακό βάρος 296 Da είχε μόνο εντοπιστεί σε πολύ μικρές ποσότητες στον ζελέ της Aloe vera και ήταν πολύ ασταθής με υδρόλυση της εστερικής ομάδας [6-O-(1-L-μαλόϋλο)-Glcp] που συνέβη μόλις μετά από μία βδομάδα σε θερμοκρασία 7°C. Η βερασυγλυκάνη Β ( $C_{16}H_{26}O_{15}$ ) έχει μοριακό βάρος ίσο με 485 Da και pH ίσο με 3,8, ενώ η βερασυγλυκάνη Γ ( $C_{56}H_{82}O_{51}$ ) έχει μοριακό βάρος ίσο με 1570 Da και pH ίσο με 4,7.



Χημικές δομές των βερασυγλυκάνη Α(1), βερασυγλυκάνη Β(2), βερασυγλυκάνη Γ(3) και μαλικού οξέος(4).

## VI. ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΠΗΚΤΙΝΗΣ

### VII. ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

Η Aloe vera περιέχει πάνω από 95% νερό αλλά λιγότερο από 0,1% πρωτεΐνη. Παρόλο που το ποσό των ολικών πρωτεϊνών που είναι παρόν στην αλόη είναι σχετικά χαμηλό οι βιολογικές δράσεις έχουν μεγάλη σημασία λόγω των ενδείξεων των κλινικών εφαρμογών. Η επιφανειακή στοιβάδα των φύλλων της αλόης (η στοιβάδα ανάμεσα στον ζελέ και την εξωτερική επιδερμίδα, αναφερόμενο και ως φλοιός) είναι ο τόπος παραγωγής των υδατανθράκων, των λιπιδίων, των πρωτεϊνών και των άλλων μικρότερου μοριακού βάρους συστατικών που κατέχουν διάφορες βιολογικές δραστηριότητες. Ένα ευρεθέν συστατικό στον φλοιό είναι μία καρβοξυπεπτιδάση, μία γλυκοπρωτεΐνη με μοριακό βάρος είτε 28kDa είτε 56kDa. Αποδείχθηκε ότι αυτή η πρωτεΐνη είναι αποτελεσματική στην ανακούφιση πόνων από φλεγμονές. Έχει επίσης αναφερθεί ότι η λεκτίνη που εξήχθη από διάφορους τύπους αλόης, μαζί με την Aloe vera, κατέχουν ένα υψηλό επίπεδο φαρμακολογικών και φυσιολογικών δραστηριοτήτων όπως μιτωτικό ερέθισμα των λεμφοκυττάρων, ενεργοποίηση των συμπληρωμάτων σε εναλλακτικούς δρόμους, αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινική και αντιογκική δράση.

Οι χημικές δομές των φυτικών πρωτεϊνών δεν έχουν διασαφηνιστεί με ακρίβεια λόγω της δυσκολίας καθαρισμού τους και της ανομοιογένειας των λειτουργιών τους. Ειδικότερα είναι δύσκολο να εκχυλιστούν οι πρωτεΐνες από τις αλόες λόγω της παρουσίας φαινολικών συστατικών και των ιξωδών μυξοπολυσακχαριτών που καλούνται βλεννίνη (mucin). Ιδιότητα της βλεννίνης και των παραγώγων της είναι η δημιουργία ζελέ και επομένως αποτελούν συστατικά κλειδιά για πολλές ζελοειδής εκκρίσεις από τα φυτά επιτελώντας λειτουργίες όπως λίπανση και κυτταρική σηματοδότηση ως χημικά εμπόδια. Επιπροσθέτως είναι τεχνικά δύσκολο να διαχωριστούν οι πρωτεΐνες, λόγω του ότι πολλές πρωτεΐνες παρούσες στην αλόη είναι ενωμένες με σάκχαρα σαν γλυκοπρωτεΐνες. Ως εκ τούτου δεν είναι εύκολο να προσδιοριστεί η ακριβής χημική δομή τους. Παρόλες αυτές τις πτυχές το CAP πρόγραμμα επιχείρησε να διαχωρίσει πρωτεΐνες που περιείχε η αλόη βάσει των προηγούμενων ερευνητικών αναφορών. Επομένως, διάφορες πρωτεΐνες από τις αλόες καθαρίστηκαν και μερικώς χαρακτηρίστηκαν, όπως οι λεκτίνες, ένας αναστολέας πρωτεάσης, αλπρογένη και G1G1M1D12, που είναι ένα γλυκοπεπτιδικό κλάσμα που εκδηλώνει δραστηριότητα εξάπλωσης στα επιθηλιακά κύτταρα. Η τοξικότητα ή οι παράπλευρες αντιδράσεις των περισσότερων συνθετικών φαρμάκων τα οποία έχουν αναπτυχθεί ή αναπτύσσονται θέτει ένα σημαντικό πρόβλημα για την αντιμετώπιση ασθενειών σε πολλές περιπτώσεις. Ως εκ τούτου, συστηματικές προσεγγίσεις εξερευνώντας τα αποτελεσματικά συστατικά της αλόης μπορεί να είναι άκρως σημαντικές, και να έχουν κλινική αξία λόγω της μακράς ιστορίας του φυτού και των θεραπευτικών χρήσεών του στον κοινωνικό τομέα.

#### ➤ ΛΕΚΤΙΝΕΣ ΣΤΗΝ ΑΛΟΗ

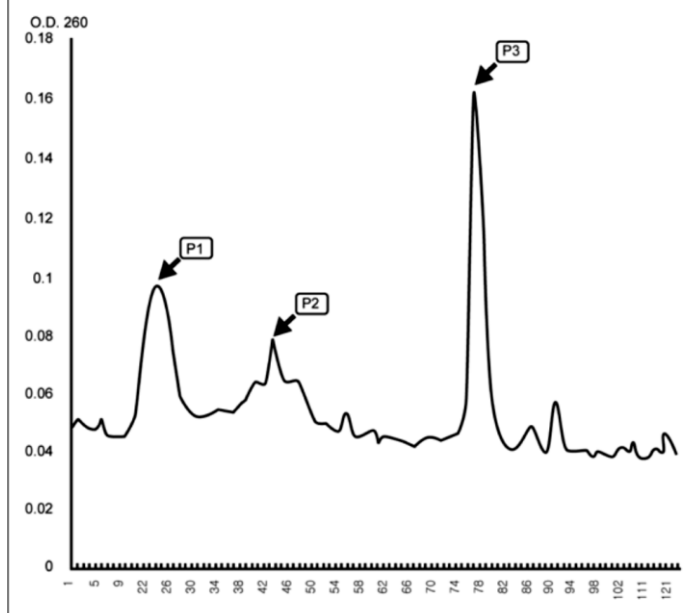
Οι λεκτίνες ασκούν μία ποικιλία φυσιολογικών λειτουργιών όπως συγκόλληση και διέγερση της μιτωτικής διαίρεσης των λεμφοκυττάρων διαμέσω σχηματισμού ειδικού συμπλόκου σακχάρων. Επίσης έχουν και άλλες φυσιολογικές λειτουργίες όπως αντικαρκινική και αντιογκική. Οι λεκτίνες αναγνωρίζουν και συνθέτουν σύμπλοκα με μόρια μόνο- ή ολιγοσακχαριτών παρόντα στην επιφάνεια των διάφορων κυττάρων όπως αιμοφόρα, ινοβλάστες ή σπερματοζωάρια για την συγκόλλησή τους ή για την δημιουργία συστάδων. Αυτό επιτρέπει στα κύτταρα να αναγνωρίζουν ξένα κύτταρα και ακόμη να διεγείρουν τα μακροφάγα για ενδοκυττάρωση. Ακόμη, η διέγερση μη διαιρούμενων λεμφοκυττάρων στο στάδιο της ανάπτυξης και της εξάπλωσης μπορεί να επιτευχθεί ενεργοποιώντας ειδικές θέσεις ξένων αντιγόνων σε θέσεις υποδοχέων στην επιφάνεια των κυττάρων. Παρομοίως, οι λεκτίνες μπορούν να δράσουν σαν παράγοντες μίτωσης για την διέγερση της εξάπλωσης των λεμφοκυττάρων και την ανάπτυξή τους. Στην πραγματικότητα, αυτός ο τύπος

επίδρασης στην μίτωση μπορεί να παρατηρηθεί σε διάφορα κύτταρα, γεγονός που σημαίνει ότι οι γλυκοπρωτεΐνες ή τα γλυκολιπίδια στην επιφάνεια των κυττάρων μπορεί να δρουν σαν μεσολαβητές της μετάδοσης του σήματος κατά την διάρκεια της εξάπλωσης των κυττάρων και της διαφοροποίησής τους.

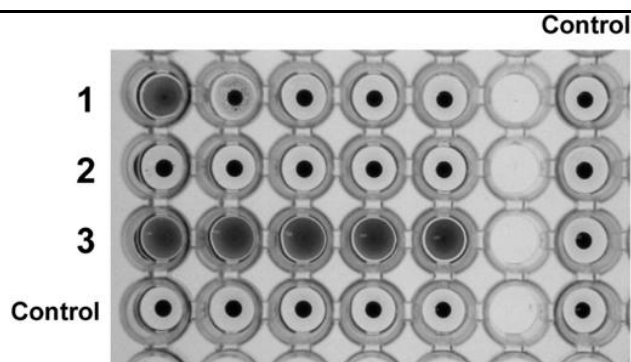
Δομικές διαφορές στην κυτταρική επιφάνεια μπορούν να παρατηρηθούν μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και των κανονικών κυττάρων ή κατά την διάρκεια διαφοροποίησης των κυττάρων. Στην ουσία αυτές οι προαναφερθείσες αλλαγές στην σύνθεση των αλυσίδων των σακχάρων των γλυκοπρωτεϊνών ή των γλυκολιπιδίων ή δομικές αλλαγές μπορούν να αναγνωριστούν από λεκτίνες οι οποίες ωθούν την συγκόλληση.

Για τον καθαρισμό των λεκτινών από την Aloe vera, φρέσκα φύλλα οδηγήθηκαν σε μίξερ και φυγοκεντρίστηκαν σε χαμηλές στροφές για την απομάκρυνση όλων των αδιάλυτων συστατικών. Η χρήση άνθρακα για εκχύλιση απομάκρυνε τα φαινολικά συστατικά και χρωστικές αποτελεσματικά, γεγονός το οποίο απέτρεψε την αλλαγή του χρώματος σε βαθύ καφέ. Ταυτοποιήθηκε ότι τουλάχιστον το 60% της δραστηριότητας των λεκτινών παρέμεινε σε ένα κλάσμα 0-30% με κατακρήμνιση θειϊκού αμμωνίου. Ωστόσο, περιείχε επίσης ιξώδη υλικά, πολύ πιθανώς οφειλομένων σε υδατάνθρακες της οικογένειας της βλεννίνης, υποστρώματα που έκαναν τον καθαρισμό της λεκτίνης πολύ δύσκολο. Ως εκ τούτου, το 55-80% του κλάσματος του θειϊκού αμμωνίου επιλέχθηκε για περεταίρω καθαρισμό των λεκτινών για την παράκαμψη του προβλήματος. Τότε είναι που εφαρμόστηκε μία σειρά από χρωματογραφίες στήλης για τον καθαρισμό της λεκτίνης όπως DEAD ανιοντοανταλλαγής, Con A Sepharose και Sephacryl HR S-300 φιλτραρίσματος ζελέ. Τελικά τρεις κορυφές που εκφράζουν δραστηριότητα λεκτίνης εντοπίστηκαν με την χρήση ανάλυσης αιμοσυγκόλλησης (παρακάτω σχήματα). Λόγω του ότι η λεκτίνη απομονώθηκε σαν ένα μόριο μέχρι την χρωματογραφία στήλης φιλτραρίσματος ζελέ, το μερικώς καθαρισμένο κλάσμα προσδιορίστηκε σε όρους ιδιαιτερότητας-εξειδίκευσης σακχάρων στην περίπλοκη δομή του συσσωματώματος. Σαν αποτέλεσμα η δραστηριότητα της αιμοσυγκόλλησης της α-D-γλυκόζης ήταν μεγαλύτερη από αυτό της φρουκτόζης ή της Ν-ακέτυλο γλουκοσαμίνης έτσι ώστε η ρητίνη συγγένειας δημιουργήθηκε με την σύνδεση γλυκόζης στην Sepharose CL-4B ρητίνη. Χρησιμοποιώντας αυτήν την χρωματογραφία ρητίνης συγγένειας, η λεκτίνη τελικώς καθαρίστηκε και το μοριακό βάρος της προσδιορίστηκε περνώντας μέσα από στήλη φιλτραρίσματος ζελέ Sephacryl S-100 HR με ορό αλβουμίνης βοοειδών (BSA) και οβαλβουμίνη (OA) σαν ελεγκτές-control-. Το μοριακό του βάρος προσδιορίστηκε σαν 55 Da και δύο ζώνες με 26 και 28 kDa σε μάζα προσδιορίστηκαν με SDS-PAGE (παρακάτω σχήμα 3). Ως εκ τούτου η λεκτίνη που απομονώθηκε από την Aloe vera ταυτοποιήθηκε σαν γλυκοπρωτεΐνη αποτελούμενη από δύο υπομονάδες σαν ετεροδιμερές με pH ίσο με 5,1.

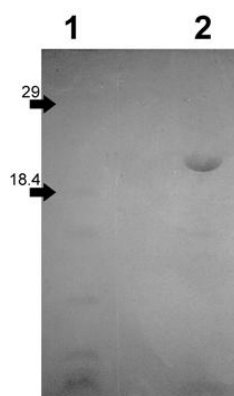




Η καμπύλη έκλουσης του κλάσματος των αλόε λεκτίνων με Sephacryl S-100 HR φιλτράρισμα ζελέ. Το κλάσμα της αλόε λεκτίνης παρασκευάστηκε με στήλη Con A Sepharose δια εκλούσεως με αιθυλενογλυκόλη.



Οπτική ανάλυση σε τρυβλία μικροτιτλοδότησης των κορυφών 1 με 3 που καθαρίστηκαν με Sephacryl S-100 HR φιλτράρισμα ζελέ, με χρήση ερυθροκυττάρων κουνελιού. Κάθε φρέαρ περιείχε 0,05mL εναιώρημα ερυθροκυττάρων και το πρώτο φρέαρ περιείχε 0,05mL του διαλύματος κορυφών του χρωματογραφήματος, μαζί με σειριακές διπλάσιες διαλυτοποιήσεις σε παρακείμενα φρέαρ. Το δείγμα ελέγχου περιείχε μόνον εναιώρημα ερυθροκυττάρων κουνελιού και 20 mM Tris-Cl, pH=7.4



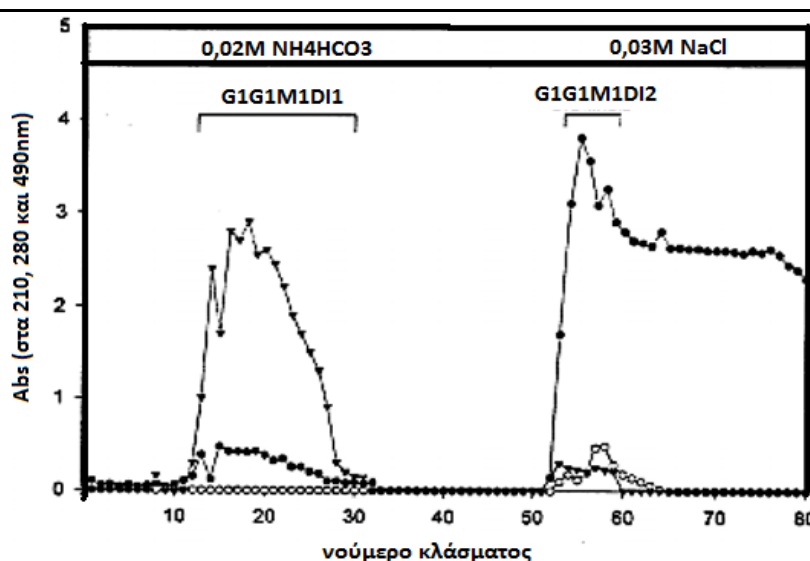
Το σχέδιο της SDS-PAGE στο οποίο 16.5% της αλόε λεκτίνης καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης συγγένειας γλυκόζης. Τα βέλη στις περιοχές 1 και 2 υποδεικνύουν το μέγεθος του σημειωτή και της αλόε λεκτίνης, αντίστοιχα.

➤ **ΓΛΥΚΟΠΡΩΤΕΪΝΙΚΟ ΚΛΑΣΜΑ: G1G1M1D12**

Η αλόη είναι γνωστή σαν σημαντικό παραδοσιακό φάρμακο σε πολλές χώρες και έχει ευρέως χρησιμοποιηθεί για λόγους υγείας, ιατρικούς και καλλυντικούς. Μερικοί άνθρωποι διατηρούν ένα ή λίγα έστω φυτά στο σπίτι για την παροχή μία εύκολα διαθέσιμης πηγής ζελέ για την επούλωση πληγών, εγκαυμάτων και άλλων τραυμάτων. Τα χημικά συστατικά των ειδών της αλόης έχουν ερευνηθεί και κατηγοριοποιηθεί σε διάφορες ομάδες και τα αρωματικά παράγωγά τους έχει αναφερθεί να διαθέτουν ιδιότητες όπως επούλωση πληγών, αντικαρκινική, αντιμικροβιακή, ανοσορρυθμιστική, πεπτική, καθαρτική και τέλος ελεγκτικές δραστηριότητες των γαστρικών υγρών.

Σαν μέρος των χημικών μελετών των βιολογικά ενεργών μεταβολιτών από την αλόη, έχει ερευνηθεί η κλασματοποίηση (καθοδηγούμενη στενά και από βιοαναλύσεις) και απομόνωση βιοενεργών συστατικών από την λυοφιλιωμένη αλόη.

Ο λυοφιλιωμένος ζελέ της αλόης χρησιμοποιήθηκε σαν πρώτη ύλη από την Nam Yang Aloe Co. Ο ζελέ της αλόης (25g περιγράφηκε σαν κλάσμα G1) διαλυτοποιήθηκε σε 200 mL απιονισμένο νερό ενώ προστέθηκαν τέσσερις όγκοι 95% αιθανόλης. Το διάλυμα αφέθηκε να ηρεμήσει για 24 ώρες στους 4°C. Το καθαρό κιτρινωπό υπερκείμενο αποχύθηκε και το κατακρήμνισμα φυγοκεντρίστηκε για 30 λεπτά στους 4°C (13000×g). Το υπερκείμενο δια εξατμίσεως και λυοφιλίωσης έδωσε ένα μίγμα από μικρά και μεσαίου μεγέθους μόρια (G1G1, 14,5g). Ένα γραμμάριο του G1G1 οδηγήθηκε σε στήλη Amberlite XAD-2 (250 mL ρητίνης 2,5×2,5 cm). Η στήλη εκλούθηκε με απιονισμένο νερό (500 mL), 50% αq MeOH (200 mL) και MeOH-ακετόνη (1:1, 400 mL) διαδοχικά. Το έκλουσμα με 50% MeOH συμπυκνώθηκε και λυοφιλιώθηκε για να προκύψει μία σκόνη βαθέως γκρι χρώματος (G1G1M1, 53 mg), η οποία ήταν ενεργή σε ανάλυση πρόσληψης θυμιδίνης. Κατόπιν το G1G1M1 διαλυτοποιήθηκε σε απιονισμένο νερό, και διαλυτοποιήθηκε για 3 μέρες (m.w. 5000 cut) και λυοφιλιώθηκε (G1G1M1D, 23 mg). Αυτό το κλάσμα (G1G1M1D, 23 mg) διαλυτοποιήθηκε σε 0,02 M NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> και οδηγήθηκε σε στήλη ανιοντοεναλλαγής (2,5×20 cm) διεθυλοαμινοεθυλίου (DEAE)-Toyopearl 650M. Η στήλη εξισορροπήθηκε και εκλούθηκε με 0,02M NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> (600 mL) και κατόπιν με 0,3 M NaCl (600 mL). Κλάσματα των 15 mL συλλέχθηκαν και αναλύθηκαν με UV (210 και 280 nm) με την μέθοδο του φαινολο-θειικού οξέος να δίνει δύο κλάσματα G1G1M1D11 και G1G1M1D12 σύμφωνα με το παρακάτω σχέδιο έκλουσης. Κάθε κλάσμα συμπυκνώθηκε, διαλυτοποιήθηκε και λυοφιλιώθηκε. Οι αποδόσεις των G1G1M1D11 και G1G1M1D12 ήταν αντίστοιχα 7,8 mg και 2,7 mg αντίστοιχα.



Το προφίλ του G1G1M1D με (DEAE)-Toyopearl 650M. Το δείγμα διαλυτοποιήθηκε σε 0,02M NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> και η στήλη εκλούθηκε με 0,02M NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> και κατόπιν με 0,3 M NaCl στους 4°C. Κάθε κλάσμα ήταν 15 mL. (γεμάτοι κύκλοι→210 nm, άδειοι κύκλοι→280 nm και τρίγωνα→490 nm)

Ανάμεσα των G1G1M1D1 και G1G1M1D2 το πρώτο δεν παρουσίασε καμία δραστηριότητα σε ανάλυση πρόσληψης θυμιδίνης, αλλά η κύρια δραστηριότητα βρέθηκε στο δεύτερο κλάσμα (παρακάτω πίνακας). Το G1G1M1D2 ήταν ένα βαθύ γκρι άμορφο στερεό, ελεύθερα διαλυτοποιήσιμο σε νερό αλλά ήταν μόνο μερικώς διαλυτοποιήσιμο σε αλκοόλη και αδιάλυτο δε οργανικούς διαλύτες. Βρέθηκε να είναι ομογενές σε ηλεκτροφόρηση. Στοιχειακή ανάλυση του G1G1M1D2 (σε %) προσδιόρισε τα ακόλουθα: C 35,8, H 5,2 και O 56,5. Επίσης παρουσίασε θετικές αντιδράσεις με 1% Ce(SO<sub>4</sub>) σε 10% αq H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> σε TLC (ζελέ από σίλικα) και με φθαλική ανιλίνη σε TLC (κυτταρίνη). Επίσης παρουσίασε μία ζώνη με το αντιδραστήριο περιοδικό οξύ κατά Schiff και με το αντιδραστήριο Coomassie σε ηλεκτροφόρηση (20% SDS-PAGE). Τα παραπάνω αντιδραστήρια αποτελούν ειδικά αντιδραστήρια ανίχνευσης υδατανθράκων και πρωτεϊνών αντίστοιχα. Ακόμη τα φάσματα IR και <sup>13</sup>C και <sup>1</sup>H NMR έδειξαν σημάδια που αντιστοιχούν σε υδατάνθρακες.

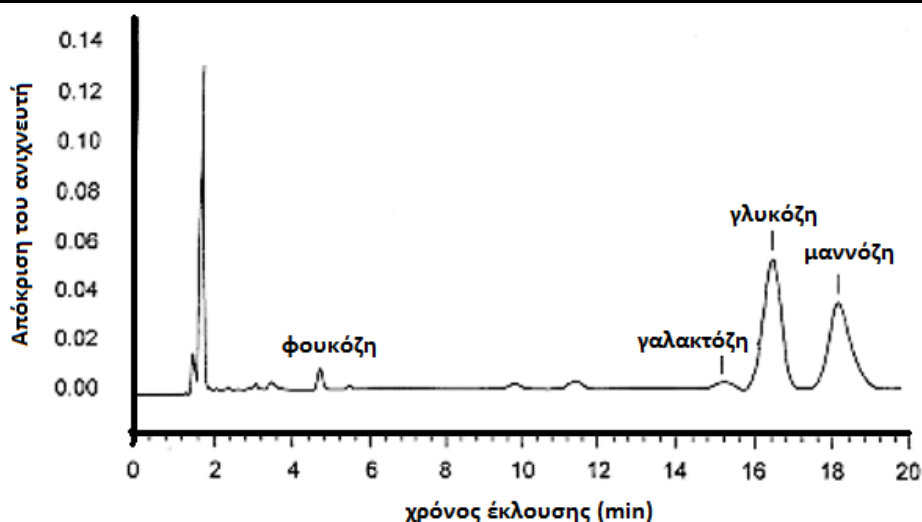
#### Πρόσληψη θυμιδίνης και περιεχόμενο σε υδατάνθρακες και πρωτεΐνες των ενεργών κλασμάτων καθαριζόμενων από τον ζελέ (G1) της Aloe vera

Δείγμα	Πρόσληψη θυμιδίνης*	Υδατάνθρακες**	Πρωτεΐνες**
G1	210	47,9	2,6
G1G1	270	50,7	3,9
G1G1GM1	320	62,6	11,8
G1G1GM1D2	645	20,9	32,6

\*: Σχετική δραστηριότητα (%) σε σχέση με το δείγμα ελέγχου(που λαμβάνεται σαν 100%) σε [<sup>1</sup>H] ανάλυση θυμιδίνης,

\*\* : Παρουσιαζόμενο σαν ποσοστό και προσδιοριζόμενο με τις μεθόδους φαινολο-θεικού οξέος και Lowry, για υδατάνθρακες και πρωτεΐνες, αντίστοιχα.

Τα παραπάνω στοιχεία οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το G1G1M1D2 ήταν ένα γλυκοπεπτίδιο, που περιείχε 32,6% της ολικής πρωτεΐνης σαν αλβουμίνη αβγού και 20,9% του ολικού υδατάνθρακα σαν μαννόζη (παραπάνω πίνακας). Το μοριακό βάρος του ήταν 5500 daltons, υπολογισμένο με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή SDS. Μία μονάδα πεπτιδίου του G1G1M1D2 προσδιορίστηκε με υποβάθμιση με NaIO<sub>4</sub> και μία υδατανθρακική με πέψη με προνάση E (pronase E), μονάδες που επιβεβαιώθηκαν με ηλεκτροφόρηση. Η υδατανθρακική πλευρά προτάθηκε να περιέχει φουκόζη, γαλακτόζη, γλυκόζη και μαννόζη (παρακάτω σχήμα) με μοριακό λόγο (%) αυτών των σακχάρων που φαίνεται στον παρακάτω πίνακα.



HPLC χρωματογράφημα του προϊόντος όξινης υδρόλυσης που προκύπτει από την υδατανθρακική πλευρά του G1G1M1D2. Η στήλη (CarboPak PA1, 4×250 mm) εκλούθησε με H<sub>2</sub>O-0,2 M NaOH (92:8) σε θερμοκρασία δωματίου και ρυθμό ροής 1,0 mL/min.

## Σύνθεση σε μονοσακχαρίτες του G1G1M1D12

Μονοσακχαρίτες	Σύνθεση (γραμμομοριακός λόγος, %)
Φουκόζη	0,5
Γαλακτόζη	2,4
Γλυκόζη	48,8
μαννόζη	48,3

Για τον προσδιορισμό της σύνθεσης σε αμινοξέα και του ποσοστού αυτών, το υδρόλυμα με HCl της πεπτιδικής πλευράς του G1G1M1D12 αναλύθηκε με αναλυτή αμινοξέων. Δεκαπέντε είδη αμινοξέων ανιχνεύτηκαν, με το γλουταμικό οξύ και την γλυκίνη να αποτελούν το 41,2 γραμμομοριακό ποσοστό των ολικών ανιχνεύσιμων αμινοξέων. Αυτές οι παρατηρήσεις ενισχύουν το γεγονός ότι το G1G1M1D12 αποτελεί γλυκοπεπτίδιο, το οποίο μάλιστα εκδήλωσε 6,45 φορές μεγαλύτερη δραστηριότητα από το δείγμα ελέγχου της ανάλυσης πρόσληψης θυμιδίνης, ενώ φανέρωσε αξιοπρόσεκτες δράσεις για την επούλωση πληγών στα πειράματα που χρησιμοποιούν SCC 13 (ή squamous cell carcinoma 13) κύτταρα.

Αυτό το αποτέλεσμα προτείνει ότι αυτό το γλυκοπεπτίδιο διαθέτει δραστηριότητα εξάπλωσης των δερματικών κυττάρων.

## Σύνθεση σε αμινοξέα του G1G1M1D12

Αμινοξέα	Σύνθεση (%)	Αμινοξέα	Σύνθεση
Asp	12,68	Ile	2,98
Thr	0,72	Leu	8,50
Ser	0,94	Tyr	1,70
Glu	22,70	Phe	2,47
Gly	18,47	Lys	2,54
Ala	10,96	Arg	2,16
Val	8,75	His	1.18
Met	0,62		

## ➤ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΑΣΗΣ

Οι αναστολείς πρωτεΐνωσης της οικογένειας της σερίνης είναι παρόντες σε όλη την ποικιλία των φυτών και περιέχονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στους αποθηκευτικούς ιστούς ενός φυτού. Ένα παράδειγμα των ποικίλων λειτουργιών τους είναι η προστασία των φυτών από τα έντομα συνθέτοντας παρεμποδιστές πρωτεΐνωσης ενάντια, για παράδειγμα, στα ένζυμα πέψης όπως η τρυψίνη στα έντομα έτσι ώστε να μειωθεί η αξία του φυτού σαν καταναλωτικό φαγητό σε περίπτωση διείσδυσης του εντόμου στο φυτό. Ονομαστικά η παραγωγή των προκείμενων παρεμποδιστών θεωρείται σαν μια αυτοάμυνα του φυτού που καταστέλλει τα ένζυμα πέψης του επιτιθέμενου εντόμου. Σε ορισμένες σοβαρές καταστάσεις το έντομο μπορεί να σκοτωθεί από την προηγούμενη δραστηριότητα. Επιπροσθέτως ο παρεμποδιστής τρυψίνης που απομονώνεται από πολλά φυτά έχει αναφερθεί να παρουσιάζει αντικαρκινική δραστηριότητα σε ζώα σε *in vitro* πειράματα. Σε αυτήν την μελέτη ο παρεμποδιστής με την επωνυμία 'τρυψίνη' μείωσε τον σχηματισμό των ελεύθερων ριζών οξυγόνου, κατέστειλε καρκίνους όπως του παχέος εντέρου, του πρωκτού και των πνευμόνων που είχαν επιτευχθεί από χημικά, μείωσε τις αυθόρμητες ανωμαλίες των χρωμοσωμάτων και επίσης προλάμβανε την διείσδυση και μετάσταση του καρκίνου.

Ένα ενδιαφέρον χαρακτηριστικό αυτών των παρεμποδιστών είναι η σταθερότητά τους σε υψηλές θερμοκρασίες του μαγειρέματος και σε πολύ όξινα περιβάλλοντα όπως στο ανθρώπινο στομάχι και στο στομάχι των ζώων. Στην πραγματικότητα, άνθρωποι που καταναλώνουν αυτά τα φαγητά είναι λιγότερο πιθανόν να εμφανίσουν καρκίνους στο παχύ έντερο, στο στήθος, στον προστάτη ή στο δέρμα απ' αυτούς που δεν καταναλώνουν. Σε πειράματα με χρήση ποντικών, έχει ταυτοποιηθεί ότι οι αναστολείς πρωτεΐνωσης των οικογενειών της σερίνης, του ασπαρτικού οξέος ή της κυστεΐνης

είναι παρόντες στο στομάχι. Η έκκριση αυτών των παρεμποδιστών έχει αναφερθεί να επηρεάζει την υποβάθμιση των βλεννογόνων του στομάχου. Αντιθέτως, αυτοί οι παρεμποδιστές διατηρούν μία ισορροπία ανάμεσά τους σε όρους ενεργοποίησης, έκκρισης και παρεμπόδισης των δραστηριοτήτων τους έτσι ώστε να προστατεύουν το στομάχι από καρκίνους. Ακόμη, οι παρεμποδιστές πρωτεΐνάσης της οικογένειας της σερίνης και οι παρεμποδιστές τους μπορεί να διαδραματίζουν έναν σημαντικό ρόλο στην πρόληψη του εμφυσήματος, της πνευμονίας, της αρθρίτιδας και των φλεγμονικών νόσων του παχέος εντέρου. Αντικρίζοντας λοιπόν τις χρήσιμες ιδιότητες των αναστολέων πρωτεΐνάσης της οικογένειας της σερίνης, έχουν γίνει προσπάθειες για τον προσδιορισμό τους στις αλόες.

Ο AVPI (Aloe vera proteinase inhibitor) έχει προσδιοριστεί με την ακόλουθη διαδικασία. Φρέσκα φύλλα από την Aloe vera μιλκάρονται εξονυχιστικά με ένα Waring blender και τότε υποβάλλονται σε κατακρήμνιση με 25% θειικό αμμώνιο. Αυτό το κλάσμα τοποθετήθηκε σε λουτρό βραστού νερού για 10 λεπτά και τότε υποβλήθηκαν σε μία σειρά από χρωματογραφίες στήλης όπως Sephacryl S-100 HR, QAE-Sephadex A-25 ανιοντοανταλλαγής, φαίνυλο-Sepharose CL-4B υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις και HPLC Protein Pak 125 φιλτράρισμα ζελέ για να προκύψει ο AVPI (παρακάτω πίνακας).

Τότε η δραστηριότητα παρεμπόδισης ενάντια στην τρυψίνη συγκρίθηκε με κλάσματα που προσδιορίστηκαν με χρωματογραφία στήλης φαίνυλο-Sepharose CL-4B και παρεμποδιστές τρυψίνης σόγιας με χρήση FTIC-labeled ανάλυσης καζεΐνης. Σαν αποτέλεσμα η ικανότητα παρεμπόδισης του κλάσματος που εκλούθηκε με 20 mM ρυθμιστικού οξικού νατρίου (pH=5,0) (παρακάτω πίνακας). Αυτό το κλάσμα υποβλήθηκε σε 12,5% SDS-PAGE και μία κύρια ζώνη φανερώθηκε στα 16 kDa και μία ασθενής στα 10 kDa.

#### Διαδικασία καθαρισμού του πρωτεϊνικού παρεμποδιστή από την Aloe vera (AVPI)

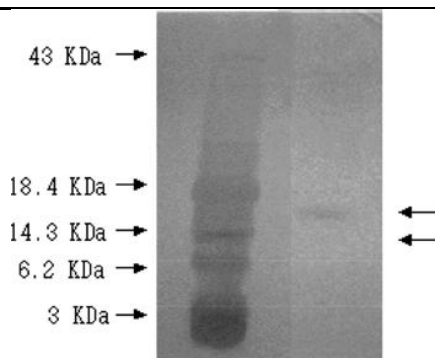
<b>Βήμα 1<sup>ο</sup>:</b> Εκχύλιση με 50 mM ρυθμιστικού οξικού νατρίου (pH=5,0), 5Mm EDTA 14.4 mM β-μερκαπτοαιθανόλη ⇒ φυγοκέντριση στις 11000×g για 30 min	<b>Βήμα 7<sup>ο</sup>:</b> Φιλτράρισμα ζελέ με Sephacryl S-100 HR ⇒ FTIC-labeled ανάλυση καζεΐνης + φιλτράρισμα w/ νιτροκυτταρίνη
<b>Βήμα 2<sup>ο</sup>:</b> Κλασματοποίηση θειικού αμμωνίου 25-40%, 40-80% ⇒ φυγοκέντριση στις 11000×g για 10 min	<b>Βήμα 8<sup>ο</sup>:</b> Χρωματογραφία ανιοντοανταλλαγής QAE-Sephadex ⇒έκλουση με 2M NaCl
<b>Βήμα 3<sup>ο</sup>:</b> Διάλυση του 25-40% κλάσματος σε 20 mM (pH=5,0)	<b>Βήμα 9<sup>ο</sup>:</b> Υδροφοβικής αλληλεπίδρασης χρωματογραφία
<b>Βήμα 4<sup>ο</sup>:</b> Υπερφυγοκέντριση στις 11000×g για 2 hr ⇒ φιλτράρισμα w/ GF/F	<b>Βήμα 10<sup>ο</sup>:</b> έκλουση με 20 mM ρυθμιστικού οξικού νατρίου+ FTIC-labeled ανάλυση καζεΐνης
<b>Βήμα 5<sup>ο</sup>:</b> Θέρμανση στους 80°C για 10 min ⇒ απομάκρυνση των μετουσιωτικών συστατικών	<b>Βήμα 11<sup>ο</sup>:</b> HPLC (Protein Pak 125)
<b>Βήμα 6<sup>ο</sup>:</b> Αφαλάτωση με Sephadex G-25 ⇒FTIC-labeled ανάλυση καζεΐνης	<b>Βήμα 12<sup>ο</sup>:</b> Παραλαβή του AVPI

#### Αποτελέσματα της FTIC-labeled ανάλυσης καζεΐνης για κλάσματα από την χρωματογραφία υδροφοβικής παρεμπόδισης και του Παρεμποδιστής τρυψίνης από την σόγια

Δείγμα	έκλουσμα 1M θειικού αμμωνίου (50 µg/mL)	έκλουσμα 20mM οξικού νατρίου (50 µg/mL)	Έκλουσμα 50% εθυλενικής γλυκόλης (50 µg/mL)	Παρεμποδιστής τρυψίνης από σόγια (500 µg/mL)
% Παρεμπόδιση	10,4	46,3	34,6	48,8

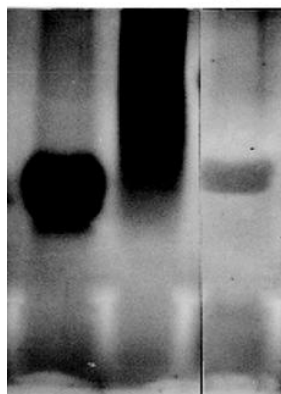
Σημείωση: Το αρνητικό δείγμα ελέγχου έχει 20 mM ρυθμιστικού οξικού νατρίου επιπλέον, αντί του δείγματος του παρεμποδιστή.

Η δραστηριότητα παρεμπόδισης της πρωτεΐνάσης προσδιορίστηκε στο κλασματοποιημένο τμήμα 12,5% της SDS-PAGE με χρήση αντίστροφης ζυμογραφίας (παρακάτω σχήμα). Επειδή το υπόστρωμα (κολλαγόνο) της τρυψίνης είναι ενσωματωμένο στον ζελέ οι κλασματοποιημένες πρωτεΐνες μαζί με το κολλαγόνο του ζελέ θα μπορούσαν να υποβαθμιστούν μετά από επώαση στο διάλυμα της τρυψίνης. Εάν οι παρεμποδιστές της πρωτεΐνάσης είναι παρόντες, οι ζώνες που περιέχουν την πρωτεΐνη της οποίας δεν έχει γίνει η πέψη μετά από κατεργασία με τρυψίνη παραμένουν σκούρες. Όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα οι ζώνες παρεμπόδισης της τρυψίνης από σόγια και AVPI (όχι καθαρές αλλά κηλιδωμένες) έδειξαν σκούρες ζώνες με χρώση με άργυρο όπου η τρυψίνη έδειξε μη καθαρό πρότυπο χρώσης.



Το σχέδιο ζωνών των παρεμποδιστών πρωτεΐνάσης από την *Aloe vera* διαχωριζόμενοι στο 12,5% της SDS-PAGE

STI AVPI Trypsin



Αντίστροφη ζυμογραφία του AVPI (150  $\mu$ g του παρεμποδιστή τρυψίνης από σόγια, 100  $\mu$ g από τους παρεμποδιστές πρωτεΐνάσης από την *Aloe vera*, 150  $\mu$ g της τρυψίνης)

Αυτό το σχέδιο χρώσης υποδηλώνει ότι ο AVPI κατέχει δραστηριότητα παρεμπόδισης πρωτεΐνάσης παρόλο που οι θέσεις των πρωτεϊνικών ζωνών ήταν αμαυρισμένη. Οι δύο πρωτεϊνικές ζώνες που ανιχνεύτηκαν στο 12,5% SDS-PAGE δεν μπορούσαν να διαχωριστούν με την παραδοσιακή χρωματογραφία φιλτραρίσματος πηκτής, έτσι ώστε η HPLC να καταστεί η πιο εφαρμόσιμη μέθοδος για διαχωρισμό (παρακάτω σχήμα). Οι δύο κορυφές που παρουσιάζονται στο HPLC σχήμα εξετάστηκαν για παρεμπόδιση πρωτεΐνάσης με την μύρια κορυφή των 16 kDa να επιδεικνύει αυτήν την παρεμπόδιση. Αυτός ο καθαρισμένος AVPI έδειξε μία παρόμοια καμπύλη παρεμπόδισης σαν αυτές από άλλα ένζυμα παρεμποδιστές. Δηλαδή, η δραστηριότητα της παρεμπόδισης ήταν 5% περισσότερη ενάντια στην χυμοτρυψίνη, η οποία είναι ένα άλλο μέλος των πρωτεϊνικών σερίνης από αυτήν ενάντια στην τρυψίνη (παρακάτω πίνακας). Ο AVPI που απομονώθηκε από την *Aloe vera* θεωρείται να είναι ένας παρεμποδιστής πρωτεΐνάσης σερίνης ο οποίος είναι σταθερός στην θέρμανση και στην οξύτητα και έχει pH=8,6.

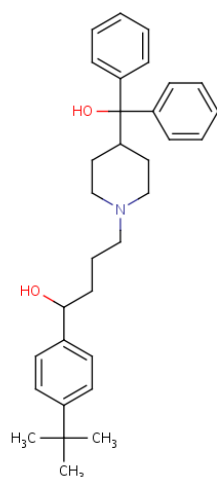
### Σύγκριση της δραστηριότητας παρεμπόδισης ενάντια στην χυμοτρυψίνη και την τρυψίνη

Ένζυμο	Τρυψίνη	Χυμοτρυψίνη
% παρεμπόδιση	80,2	83,9

#### ➤ ΑΛΠΡΟΓΕΝΗ: Αντιαλλεργική γλυκοπρωτεΐνη

Αλλεργικές ασθένειες απαντώνται σε 15-20% του παγκόσμιου πληθυσμού. Για παράδειγμα στην Κορέα ο αριθμός των ανθρώπων με αλλεργίες αυξάνεται τάχιστα. Οι επίσης αποκαλούμενες «ασθένειες του πολιτισμού», οι αλλεργίες εξαπλώνονται πολύ γρήγορα σε παγκόσμια κλίμακα και θέτουν ένα τεράστιο πρόβλημα για τον 21<sup>ο</sup> αιώνα. Με την βελτίωση των συνθηκών διαβίωσης, οι οικοδομικοί χώροι διατηρούν μια σταθερή θερμοκρασία και επίπεδο υγρασίας που συνεισφέρει σε αυξημένη καλλιέργεια μυκήτων, ακάρεων και σωματιδίων σκόνης. Επιπροσθέτως, η αυξημένη χρήση συνθετικών υφασμάτων και πλαστικών όπως τα νάιλον και οι πολυεστέρες παράγουν σκόνη η οποία παράγεται κατά την διάρκεια παραγωγής τους. Μαζί με την γύρη και τις τρίχες των αλόγων προκαλούν αλλεργικές αντιδράσεις εισβάλλοντας στο αναπνευστικό σύστημα. Άλλες αλλεργίες προκαλούνται από τα φαγητά, την επαφή με τα καλλυντικά, τα απορρυπαντικά ή μέταλλα, από αναφυλαξία με φάρμακα όπως η πενικιλίνη, ενώ υπάρχουν και φυσικές αλλεργίες από τις χαμηλές ή τις υψηλές θερμοκρασίες, την πίεση ή την έκθεση σε φως. Οι περισσότερες αλλεργίες φανερώνουν σημάδια όπως βήχας και δερματικά εξανθήματα και προκαλούν αναπνευστικά προβλήματα και φλεγμονώδεις ασθένειες. Συγκεκριμένα, το άσθμα θεωρείται να είναι μία από τις πιο επικίνδυνες αλλεργικές νόσους. Οι αλλεργίες, από άποψη μηχανισμού, είναι ασθένειες του ανοσοποιητικού συστήματος και προκαλούνται από σε υψηλή συχνότητα από διάφορους παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η υγρασία, η περιοχή, η εποχή, η περιβαλλοντική μόλυνση, η σωματική άσκηση και η επαγγελματική θέση, ενώ καμία απόλυτη θεραπεία δεν έχει αναπτυχθεί. Ως εκ τούτου η ανάπτυξη ενός αποτελεσματικού φαρμάκου ενάντια στις αλλεργίες θα ωφελούσε την ευημερία του πολιτισμού μας, καθώς θα είχε ένα τεράστιο θετικό αντίκρυσμα στην οικονομία, στις βιομηχανίες και στην ευεξία των πολιτών.

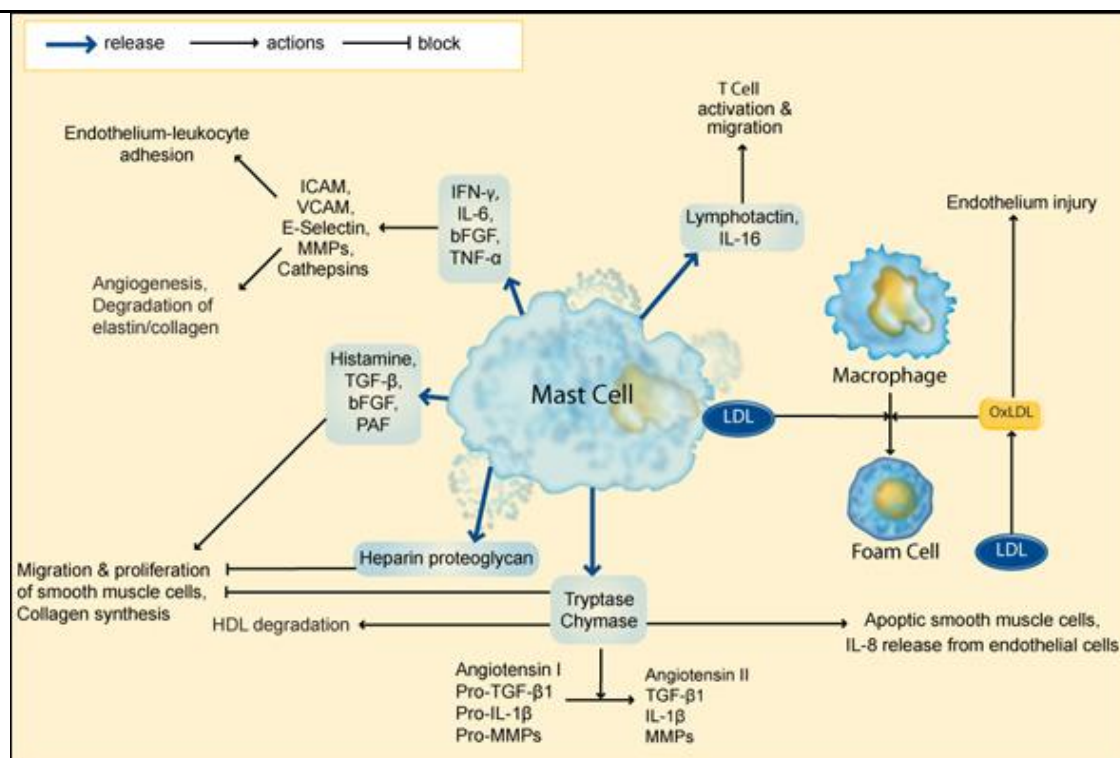
Τα περισσότερα αντιαλλεργικά φάρμακα για την ανακούφιση από τα συμπτώματα της αλλεργίας όπως τα εξανθήματα ή ο κνησμός είναι αντι-ισταμίνες που παράγονται με οργανική σύνθεση και σε σοβαρές καταστάσεις στεροειδή αλλά κανένα απ' αυτά δεν είναι γνωστό να είναι αποτελεσματικό φάρμακο κατά των αλλεργιών. Η τερφεναδίνη, η τρίτη γενιά αντι-ισταμινικών φαρμάκων σε πολλές χώρες ενάντια στα αλλεργικά συμπτώματα όπως δερματικά προβλήματα, πλέον θεωρείται να προκαλεί κυκλοφορικά προβλήματα όπως καρδιακή ανεπάρκεια όταν χρησιμοποιείται με μαζί με αντιβιοτικά ή αντιμικροβιακούς παράγοντες. Τα στεροειδή επίσης χρησιμοποιούνται για την απομάκρυνση των φλεγμονών αλλά οι μακροπρόθεσμες παρενέργειές τους δεν μπορούν να αγνοηθούν.



Η χημική δομή της τερφεναδίνης  
(ΠΗΓΗ: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00342> )

Τα περισσότερα αλλεργικά συμπτώματα προκαλούνται από διαμεσολαβητές (ισταμίνες, λευκοτριένια, προσταγλανδίνες, PAF ή TNF κ.τ.λ.) που απελευθερώνονται από τα σιτευτικά κύτταρα ή/και τα βασεόφιλα που ενεργοποιούνται από τις αντιδράσεις αντιγόνου-αντισώματος. Ωστόσο, είναι δύσκολο να εξαχθεί ένα ικανοποιητικό ποσό βασεόφιλων από το ανθρώπινο ή το ζωικό αίμα και ακόμη πιο δύσκολο να παραχθούν νέα βασεόφιλα (κυρίως την στιγμή της εκδήλωσης σοβαρής αλλεργίας το ποσό). Ως εκ τούτου τα σιτευτικά κύτταρα είναι κοινώς χρησιμοποιήσιμα για τον έλεγχο της αντίδρασης υπερευαισθητοποίησης της αλλεργίας σε όρους απελευθέρωσης των διαμεσολαβητών σε ενεργοποίηση των κυττάρων, παρόλο που υπάρχουν δομικές διαφορές ανάμεσα στα βασεόφιλα και τα σιτευτικά κύτταρα. Γενικά, η αντιαλλεργική επίδραση έχει εξεταστεί για να αναλυθεί η παρεμπόδιση της ελευθέρωσης ισταμίνων από τα σιτευτικά κύτταρα της κοιλιακής χώρας του ποντικού. Ωστόσο αυτό το σύστημα μελέτης της αλλεργίας δεν θεωρείται αποτελεσματικό για δύο λόγους: το σύστημα του ποντικού είναι μακριά απ' αυτό του ανθρώπου και τα σιτευτικά κύτταρα της κοιλιακής χώρας είναι γνωστό να σχετίζονται με φαγητά και έτσι δεν είναι κατάλληλο για να ελέγχουμε ενάντια στα συμπτώματα μέσω του βρόγχου και των πνευμόνων. Επιπλέον, τα σιτευτικά κύτταρα από διάφορους ιστούς φανερώνουν ετερογένεια. Εν συνεχεία, η παρεμπόδιση της απελευθέρωσης ισταμίνων είναι προς το παρόν χρησιμοποιούμενη για την ανάπτυξη αντιαλλεργικών φαρμάκων, ενώ η παρεμπόδιση της απελευθέρωσης λευκοτριενίων επίσης εγγυάται την συνέχιση της επιστημονικής έρευνας λόγω του ότι είναι 1000 φορές πιο ισχυρή απ' αυτήν των ισταμίνων.





Ορισμένες από τις λειτουργίες ενός σιτευτικού κυττάρου στην περίπτωση της αθηροσκλήρωσης.  
(ΠΗΓΗ: <http://www.abcam.com/index.html?pageconfig=resource&rid=12011&pid=10694>)

#### ...και λίγα λόγια για τα σιτευτικά κύτταρα:

Τα σιτευτικά κύτταρα (σ.κ.) είναι ιστικά κύτταρα που κατανέμονται ευρέως στους ιστούς των θηλαστικών. Ανευρίσκονται στις βλεννογόνιες και τις ορογόνιες επιφάνειες, στο λεμφικό και το συνδετικό ιστό και σχετίζονται με τα νεύρα, τα αιμοφόρα αγγεία και τους όγκους. Η μόνιμη παραμονή τους στους ιστούς τα διακρίνει από τα βασεόφιλα, τα οποία είναι λευκά αιμοσφαίρια μετακινούμενα στους ιστούς επί φλεγμονής. Επιπλέον, τα σ.κ. παρουσιάζουν αντιγόνα επιφανείας της μεμβράνης κοινά με τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα, γεγονός ενδεικτικό ότι τα σ.κ. και τα βασεόφιλα δεν προέρχονται από τα ίδια προγονικά κύτταρα.

#### Τα σ.κ. παρουσιάζουν μεγάλη ετερογένεια.

Ιστορικά η ταξινόμησή τους έχει γίνει με βάση τις φαινοτυπικές διαφορές (μέγεθος, περιεχόμενο σε ισταμίνη, παραγωγή πρωτεογλυκάνης και ουδέτερης πρωτεάσης) σε σ.κ. του συνδετικού ιστού, ιδιαίτερα του δέρματος και της περιτοναϊκής κοιλότητας και σε σ.κ. των βλεννογόνων, ιδιαίτερα του εντέρου. Οι πρόδρομες μορφές των σ.κ. προέρχονται από το μυελό των οστών και μεταφέρονται με το αίμα στον τελικό ιστό εναπόθεσής τους, όπου και ωριμάζουν σε αναγνωρίσιμα σ.κ. υπό την επίδραση τοπικών κυτταροκινών και κυρίως υπό την επίδραση του παράγοντα του αρχέγονου κυττάρου (stem cell factor, SCF). Ο SCF δρα επίσης χημειοπροσελκυστικά για τα σ.κ., προάγει την απελευθέρωση μεσολαβητών από αυτά και πυροδοτεί την ενεργοποίησή τους κατά τη διεργασία της φλεγμονής.

Η διαίρεση και η δέσμευση των προγονικών κυττάρων στο μυελό των οστών ελέγχεται από την παρουσία της IL-4 και των συμπλεγμάτων IgE.

Τα σ.κ. παράγουν ευρύ φάσμα μεσολαβητών της φλεγμονής, που προκαλούν άμεσες και μακροχρόνιες επιδράσεις στα όργανα στόχους. Οι μεσολαβητές αυτοί διακρίνονται σε:

#### A) Πρωτογενείς μεσολαβητές

Πρόκειται για τις προερχόμενες από τα σ.κ. ουσίες που εμπλέκονται στην αντίδραση άμεσης υπερευαισθησίας. Σε αυτές συγκαταλέγονται η ισταμίνη, η προσταγλανδίνη D2, οι λευκοτριένες, καθώς και ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων PAF.

#### B) Επαγωγείς της χρόνιας φλεγμονής

Η ενεργοποίηση των σ.κ. έχει συσχετιστεί με την εισροή στο μικροπεριβάλλον των κυττάρων της φλεγμονής, αρχικά των ουδετερόφιλων και κατόπιν των ηωσινόφιλων. Επιπλέον, διεγείρεται η παραγωγή της ειδικής για το αλλεργιογόνο IgE από τα Β λεμφοκύτταρα. Σημαντικό ρόλο στην παραπάνω διαδικασία παίζουν οι κυτταροκίνες IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, και ο TNFα.

Γ) Πρωτεογλυκάνες και ένζυμα

Οι πρωτεογλυκάνες των σ.κ. του πνεύμονα και του δέρματος του ανθρώπου αποτελούνται κατά 65% περίπου από ηπαρίνη και κατά 35% από θειική χονδροϊτίνη.

Στα ένζυμα συγκαταλέγονται η τρυπτάση, η χυμάση, η καρβοξυπεπτιδάση και οι όξινες υδρολάσες.

### **ΣΙΤΕΥΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗ**

Αγγειογένεση, δηλαδή σχηματισμός νέων αγγείων από προϋπάρχοντα, υπό φυσιολογικές συνθήκες λαμβάνει χώρα κατά την ανάπτυξη του πλακούντα και του εμβρύου, κατά την ανάπλαση του ενδομητρίου μετά την έμμηνο ρύση και την επούλωση του τραύματος. Κυρίως, όμως, αγγειογένεση απαντάται σε παθολογικές καταστάσεις, όπως οι νεοπλασίες, η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια και διάφορες νόσοι (π.χ. ψωρίαση).

Στις ημέρες μας υπάρχουν αρκετές ενδείξεις για την εμπλοκή των σ.κ. στην αγγειογένεση, όπως η κατανομή τους κατά μήκος των αιμοφόρων αγγείων, για τη ρύθμιση της αύξησης των τελευταίων και τον έλεγχο της κυκλοφορίας των κυττάρων στους ιστούς. Διάφορες μελέτες αναδεικνύουν τη συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των αγγείων και της πυκνότητας των συσσωρευμένων σ.κ. Η αποκοκκίωση των σ.κ. από μόνη της είναι ικανή να επάγει τη νεοαγγείωση στο μεσεντέριο ποντικών και στη χοριοαλλαντοϊκή μεμβράνη των εμβρύων όρνιθος. Η εμπλοκή αυτή των σ.κ. στην αγγειογένεση γίνεται φανερή και από μελέτες σε ποντίκια με έλλειψη σ.κ. Σε αυτά, οι πειραματικούς προκαλούμενοι όγκοι εμφανίζουν μικρότερη αγγειογένεση, ενώ η τοπική ένεση σ.κ. συνεπάγεται την αποκατάσταση της αγγειογενετικής δραστηριότητας

Η αγγειογένεση αρχίζει με τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων, τη μετανάστευση μέσω της διασπασμένης βασικής μεμβράνης του αγγείου και την τοποθέτηση των κυττάρων σε σειρά στην αποδομημένη από πρωτεάσες μεσοκυττάρια ουσία, ώστε να σχηματίσουν τριχοειδικούς ή σωληνώδεις σχηματισμούς. Αυτές οι δομές δημιουργούν ένα δίκτυο αναστομώνσεων, το οποίο υπόκειται σε σημαντική αναδιάταξη πριν δημιουργηθούν τα πλήρως λειτουργούντα τριχοειδή. Η διαδικασία της αγγειογένεσης ρυθμίζεται από αναρίθμητους παράγοντες, κυρίως από αυξητικούς αγγειογενετικούς παράγοντες, ιντεγκρίνες και συστατικά της βασικής μεμβράνης.

(ΠΗΓΗ: [http://www.iatrikionline.gr/deltio\\_50a/04/04%20i%20emploki.htm](http://www.iatrikionline.gr/deltio_50a/04/04%20i%20emploki.htm))

Επομένως, το ινδικό χοιρίδιο (Guinea pig) επιλέχθηκε σαν ζώο μοντέλο λόγω της ομοιότητάς του στην αντίδραση υπερευαισθησίας με τους ανθρώπους. Η γλυκοπρωτεΐνη που παρεμποδίζει την απελευθέρωση ισταμίνων, λευκοτριενίων και/ή TNF έχει επιτυχώς απομονωθεί από την αλόη δια χρήσεως σιτευτικών κυττάρων πνευμόνων ινδικού χοιριδίου και ονομάστηκε «**αλπρογένη**». Η διαδικασία απομόνωσης απεικονίζεται στο παρακάτω σχήμα. Περιληπτικά, με μία σειρά από χρωματογραφίες προέκυψε ένα κλάσμα με την επωνυμία NY945. Στο παρακάτω σχήμα με την χρωματογραφία στήλης Phenyl-Sepharose παρατηρήθηκε η απομάκρυνση των περισσότερων μη ενεργών πρωτεϊνών. Το τελικό επιθυμητό συστατικό απομονώθηκε τελικώς με χρωματογραφία στήλης φιλτραρίσματος πηκτής Superdex 75 και χρωματογραφία στήλης ανιοντοανταλλαγής Mono Q.

Το μοριακό βάρος του NY945 βρέθηκε να είναι 7 kDa σε 16,5% SDS-PAGE (παρακάτω σχήμα). Ωστόσο δύο κορυφές που προσδιορίστηκαν με DEAE-Sepharcel χρωματογραφία στήλης ανιοντοανταλλαγής καθαρίστηκαν ξεχωριστά με διαδοχικές χρωματογραφίες στήλης συγγένειας με ConA Sepharose, Phenyl-Sepharose CL-4B υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις και Superdex 75 φιλτραρίσματος πηκτής και ονομάστηκαν αλπρογένη I και II αντίστοιχα. Η αλπρογένη I ταυτοποιήθηκε ότι περιέχει δύο υπομονάδες των 8 και 12 kDa στο 16,5% της SDS-PAGE ενώ η αλπρογένη II περιείχε δύο διαφορετικά κλάσματα 7 και 8 kDa σε μοριακό βάρος. Ως εκ τούτου τόσο

η αλπρογένη I όσο και η II είναι παρόντες σαν ετεροδιμερή. Παρολαυτά τα μοριακά βάρη των δύο αυτών κλασμάτων μετρήθηκαν να είναι 11,93 και 11,92 kDa αντίστοιχα, μέτρηση που ήταν διαφορετική από την ήδη εκτιμημένη από την ηλεκτροφόρηση πηκτικής. Αυτή η διαφορά μπορεί να εξηγηθεί από την παρουσία σακχάρων στην πολυπεπτιδική αλυσίδα η οποία επηρεάζει τον ρυθμό μετανάστευσης με την SDS-PAGE.

#### Περίληψη της διαδικασίας καθαρισμού του κλάσματος της Αλπρογένης από την *Aloe vera*<sup>1</sup>.

Διαδικασία	Ολική πρωτεΐνη (mg) <sup>2</sup>	Ολική δραστικότητα (U) <sup>3</sup>	IC <sub>50</sub> <sup>4</sup>	Καθαρισμός (φορές)	Ανάκτηση (%)
25-55% (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ppt.	Μη ανιχνεύσιμη	-	-	-	-
Sephadex G-25	10000	10000	1 mg	-	100
DEAE Sephacel (WIP)	160	1600	100 µg	10	16
Phenyl Sepharose	30	1000	30 µg	33	10
Mono Q	2	400	5 µg	198	4
Superdex 75	0,4	200	2 µg	396	2

φρέσκια *Aloe vera* (10kg)

ανάμιξη με 0,1 M ρυθμιστικό φωσφορικού νατρίου (pH=8,0)  
14,4 mM β-μερκαπτοαιθανόλη  
1% πολυβινυλοπυρρολιδόνη (PVP)  
1 mM EDTA

25-55% (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ppt.

Sephadex G-25 (απομάκρυνση αλάτων)

DEAE Sephacel

WIP

Phenyl-Sepharose CL-4B  
1M-0M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

NY645G

Mono Q

NY645Q

Superdex 75

**Αλπρογένη**

Κλάσμα I αλπρογένης

Κλάσμα II αλπρογένης

ConA Separose

ConA Separose

Phenyl-Sepharose

Phenyl-Sepharose

Superdex 75

Superdex 75

Αλπρογένη I

Αλπρογένη II

Διαδικασία για τον καθαρισμό της αλπρογένης από την *Aloe vera*.

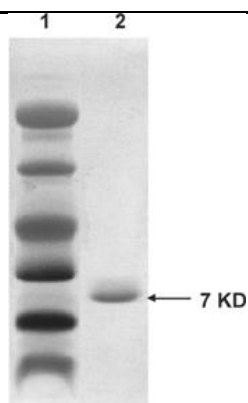
Η αλπρογένη παρεμποδίζει ισχυρά την απελευθέρωση ισταμίνων και λευκοτριενίων κατά την διάρκεια ενεργοποίησης των σιτευτικών κυττάρων από συγκεκριμένες αντιδράσεις αντισώματος-αντιγόνου. Οι παρεμποδιστικές επιδράσεις της απελευθέρωσης των διαμεσολαβητών από την αλπρογένη είναι ένα είδος αντιφλεγμονώδους δράσης που απαντάται στα εκχυλίσματα της *Aloe vera*.

Περίληψη της διαδικασίας καθαρισμού της Αλπρογένης I, II από την Aloe vera<sup>1</sup>.

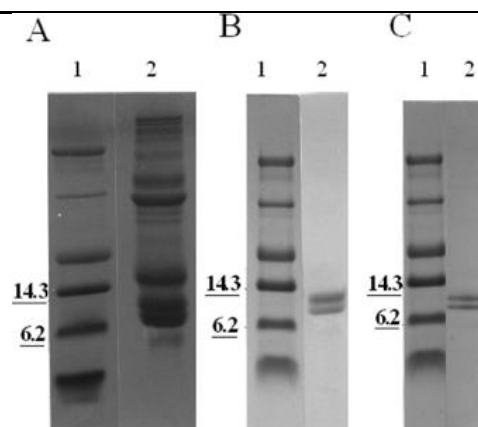


Διαδικασία	Ολική πρωτεΐνη (mg) <sup>2</sup>	Ολική δραστηριότητα (U) <sup>3</sup>	IC <sub>50</sub> <sup>4</sup>	Καθαρισμός (φορές)	Ανάκτηση (%)
25-55% (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ppt.	μη ανιχνεύσιμη	-	-	-	-
Sephadex G-25	10000	10000	1 mg	-	100
DEAE Sephacel	800	8000	100 μg	12,5	80
Phenyl Sepharose	-	-	-	-	-
Αλπρογένη I	0,4	200	2 μg	2472	2,0
Αλπρογένη II	1,2	600	2 μg	2472	6,0
Superdex 75	-	-	-	-	-
Αλπρογένη I	0,24	160	1,5 μg	6170	1,6
Αλπρογένη II	0,54	360	1,5 μg	6170	3,6

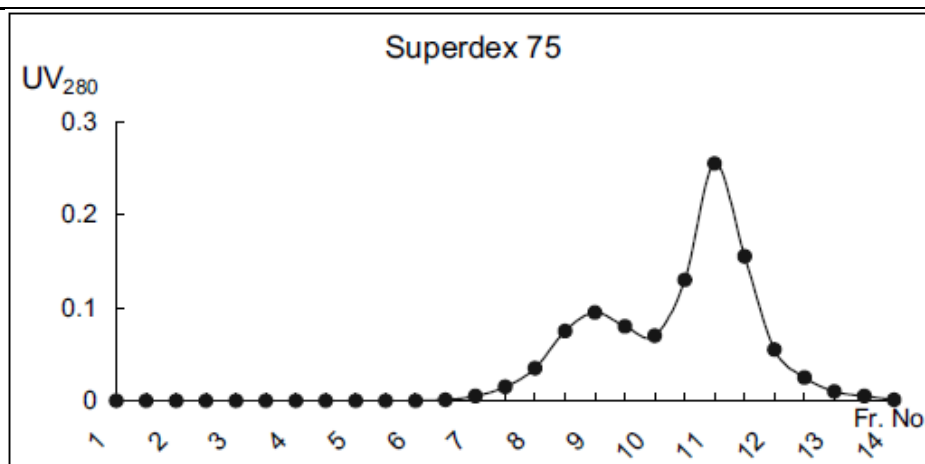
- 1) Τα σιτευτικά κύτταρα καθαρίστηκαν με πέψη ενζύμου και με μία ασυνεχή φυγοκέντρηση πεδίου πυκνότητας Percoll. Τα σιτευτικά κύτταρα ( $0,4 \times 10^6$ ) που ευαισθητοποιήθηκαν με anti-OVA «προκαλέστηκαν» με OVA (0,1μg/mL). Οι πρωτεΐνες του κάθε βήματος καθαρισμού προστέθηκαν 5 λεπτά πριν την πρόκληση με το αντιγόνο.
- 2) Η συγκέντρωση πρωτεϊνών προσδιορίστηκε με την Bradford μέθοδο.
- 3) Η μονάδα U είναι το ποσό της πρωτεΐνης που παρεμποδίζει το 50% της απελευθέρωσης ισταμίνης από τα σιτευτικά κύτταρα ( $0,4 \times 10^6$ ) που ενεργοποιήθηκαν με OVA και anti-OVA σύμπλοκα, σε σύγκριση με την OVA πρόκληση από μόνη της.
- 4) Η τιμή IC<sub>50</sub> αναπαράσταθηκε σαν το ποσό της πρωτεΐνης που είναι ικανό να παρεμποδίζει το 50% της απελευθέρωσης ισταμίνης σε ένα διάλυμα σιτευτικών κυττάρων ( $0,4 \times 10^6$ ) που ενεργοποιήθηκαν με OVA και anti-OVA σύμπλοκα, σε σύγκριση με την OVA πρόκληση από μόνη της.



Η πρωτεϊνική ανάλυση της αλπρογένης που αναπαριστά το 16,5% της SDS-PAGE. Η ηλεκτροφόρηση πηκτής επετεύχθη μέσω 16,5% (w/v) πηκτής πολυακρυλαμίδης που περιείχε 0,1% SDS. Η γραμμή 1 είναι το μέγεθος του σημειωτή, και η γραμμή δύο είναι η αλπρογένη.



Η ανάλυση πρωτεΐνης της NY945 και των αλπρογενών με 16,5% SDS-PAGE. Η ηλεκτροφόρηση πηκτής έγινε μέσω 16,5% (w/v) πηκτής πολυακρυλαμίδης που περιείχε 0,1% SDS. A= (γραμμή 1→σημειωτής μεγέθους πρωτεΐνης)+(γραμμή 2→ NY945), B=(γραμμή 1→ σημειωτής μεγέθους πρωτεΐνης)+(γραμμή 2→ αλπρογένη I) C=(γραμμή 1→σημειωτής μεγέθους πρωτεΐνης)+(γραμμή 2→ αλπρογένη II)



Ένα προφίλ χρωματογραφίας φιλτραρίσματος πηκτής της Αλπρογένης σε Superdex 75 10/30. Ο εκτιμώμενος όγκος της Αλπρογένης είναι 10,1 mL.

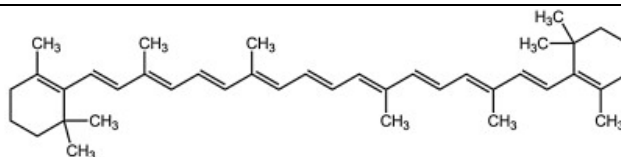
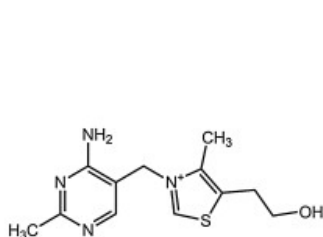
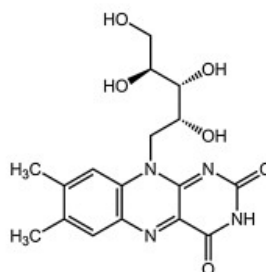
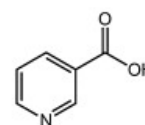
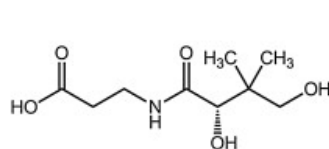
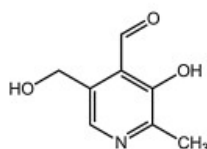
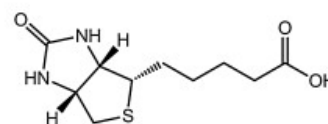
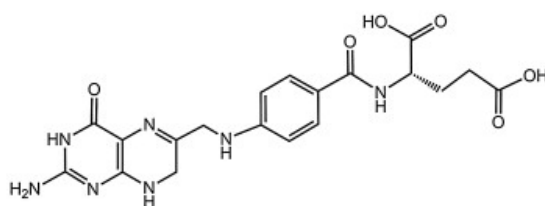
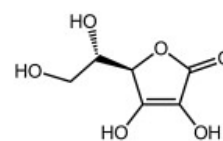
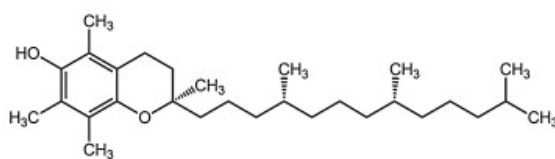
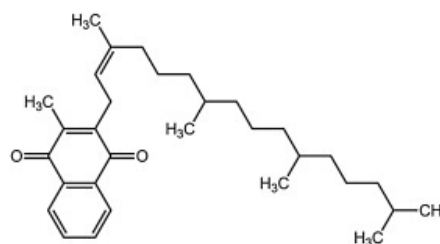
## V. ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ

### ➤ ΓΕΝΙΚΑ

Οι προερχόμενες από τα φυτά βιταμίνες έχουν τύχει σημαντικού ενδιαφέροντος λόγω της επίδρασης τους στην ανθρώπινη υγεία. Είναι απαραίτητες για τον μεταβολισμό λόγω της οξειδοαναγωγικής τους χημείας και του ρόλου τους σαν ενζυματικοί συμπαραγόντες, όχι μόνο στα ζώα αλλά επίσης και στα φυτά. Διάφορες βιταμίνες έχουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, εμπεριεχόμενων και των υδατοδιαλυτών (βιταμίνες Β και C) και των λιποδιαλυτών (βιταμίνες Α, Ε και Κ) συστατικών. Ο αριθμός των ανθρώπων που λαμβάνουν συμπληρώματα βιταμινών αυξάνεται λόγω της ευρείας γνώσης τους για τα οφέλη. Στις ΗΠΑ υπολογίζεται ότι ένα ποσοστό ανάμεσα στο 51% και 61% του πληθυσμού καταναλώνουν συμπληρώματα βιταμινών (δεδομένα έως 1999). Οι γηραιότεροι δείχθηκε ότι αυξάνονται σημαντικά στις αναπτυγμένες κοινωνίες. Αυτή η ομάδα είναι ιδιαίτερως ευαίσθητη στην έλλειψη βιταμινών, λόγω σχετιζόμενων με την ηλικία μικρότερων απορροφήσεων, μικρότερης πρόσληψης τροφής και αυξημένης χρήσης φαρμάκων.

### ✓ Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΒΙΤΑΜΙΝΩΝ

Οι βιταμίνες είναι συστατικά που δεν μπορεί να συνθέσει ο άνθρωπος και επομένως απαιτείται να τις λαμβάνει από την διαίτά του. Έχουν μια σύνθετη βιοχημεία και διαδραματίζουν βασικό ρόλο στην ανθρώπινη διατροφή και υγεία. Η έλλειψη βιταμινών προκαλεί ασθένειες που μπορεί να αποβούν σοβαρές ή και ακόμα θανατηφόρες για την ανθρώπινη υγεία. Για παράδειγμα η έλλειψη βιταμίνης Α αποτελεί ένα βασικό πρόβλημα υγείας σε πολλές χώρες με ελλείψεις τροφίμων, και εκτιμάται ότι 125 με 130 εκατομμύρια μικρά παιδιά βρίσκονται αυτήν την στιγμή σε κίνδυνο νοσηρότητας και θανάτου από μολυσματικές ασθένειες. Ευρέως γνωστές ασθένειες του ανθρώπου σχετιζόμενες με έλλειψη βιταμινών περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, τύφλωση (βιταμίνη Α), πολυνευρίτιδα (βιταμίνη Β<sub>1</sub>), πελλάγρα (βιταμίνη Β<sub>3</sub>), αναιμία (βιταμίνη Β<sub>6</sub>), σκορβούτο (βιταμίνη C), και ραχίτιδα (βιταμίνη D). Στις χώρες του ανεπτυγμένου κόσμου, τέτοιες ελλείψεις, είναι σπάνιες και οφείλονται σε επαρκή και πλήρη διατροφή και/ή σε τεχνητή προσθήκη βιταμινών στα τρόφιμα, με μία διαδικασία που καλείται εμπλουτισμός. Για παράδειγμα η ανεπάρκεια του φολικού οξέος (βιταμίνη Β<sub>9</sub>) που συχνά παρατηρείται κατά την εγκυμοσύνη αποφεύγεται με την χρήση συμπληρωμάτων, και ως εκ τούτου αποφεύγοντας νευρωνικές διαταραχές στο έμβryo.

**β-καροτένιο (προ-βιταμίνη Α)****Θειαμίνη (βιταμίνη Β1)****Ριβοφλαβίνη (βιταμίνη Β2)****Νιασίνη (βιταμίνη Β3)****Παντοθεικό οξύ (βιταμίνη Β5)****Πυριδοξάλη (βιταμίνη Β6)****Βιοτίνη (βιταμίνη Β7)****Διϋδροφολικό (βιταμίνη Β9)****Ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C)****α-τοκοφερόλη (βιταμίνη Ε)****φυλλοκινόνη (βιταμίνη Κ1)**

TRENDS in Plant Science

Εναλλακτικά, οι βιταμίνες σε φαγητά προερχόμενα από φυτά μπορούν επίσης να βελτιστοποιηθούν με βάση τις συνθήκες ανάπτυξης, την συμβατική αναπαραγωγή φυτών ή την χρήση διαγονιδιακών τεχνικών, τεχνική γνωστή και σαν βιοεμπλουτισμός. Τα φυτά περιέχουν ένα μεγάλο εύρος βιταμινών που είναι απαραίτητες όχι μόνο για τον ίδιο τον μεταβολισμό του ανθρώπου αλλά και των φυτών. Οι αντιοξειδωτικές βιταμίνες που έχουν τραβήξει την μεγαλύτερη προσοχή είναι τα καροτενοειδή (προ-βιταμίνη Α), το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) και οι τοκοχρωμανόλες (βιταμίνη Ε, συμπεριλαμβανομένων και των τοκοφερολών και τοκοτριενολών). Τελευταία έχει δειχθεί ότι και η βιταμίνη Β ενδέχεται να έχει αντιοξειδωτικό ρόλο στα φυτά.

➤ **ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ ΚΑΙ Aloe vera**

Οι βιταμίνες, αποτελούν κάθε υδατοδιαλυτό ή λιποδιαλυτό οργανικό υπόστρωμα απαραίτητο σε ελάχιστες ποσότητες για την κανονική ανάπτυξη και δραστηριότητα και που δεν θα μπορούσε να συντεθεί σε έναν οργανισμό για τον οποίο είναι ζωτικές και μπορούν να αποκτηθούν μόνον φυσικά από φυτά και ζώα. Σύμφωνα με τους Seongwon Choi και Myung-Hee Chung, βιταμίνες οι οποίες έχουν παρατηρηθεί στην Aloe vera είναι οι B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, C, β-καροτένιο, χολίνη, φολικό οξύ και α-τοκοφερόλη. Σε αυτήν την σύσταση συμφωνούν και άλλες μελέτες. Μερικοί (Kojo Eshun και Qian He) αναφέρουν την ύπαρξη της βιταμίνης B<sub>12</sub>, αλλά μόνο σε ίχνη, και δεδομένου ότι έχει παρατηρηθεί να προέρχεται μόνον από ζωικές πηγές. Αλλού επεκτείνουν αυτήν την λίστα (<http://aloeverabenefits.com/what-vitamins-are-in-aloe-vera/>) προσθέτοντας και τις B<sub>3</sub> και B<sub>5</sub>.

*(Παρακάτω γίνεται μία αναφορά και σε άλλα είδη αλόης για λόγους σύγκρισης των συστατικών με την Aloe vera στο γενικότερο γένος των φυτών που περιέχουν το όνομα Aloe.)*

Η **Aloe arborescens**, είναι ένα άλλο είδος πολύ διαδεδομένο στις καλλιέργειες και χρησιμοποιείται φαρμακευτικά, ειδικά στην μακρινή ανατολή. Μία μερικώς ακετυλιωμένη μαννάνη απομονώθηκε από τον ζελέ του φυτού σαν ένα μοναδικό συστατικό κατακρημνιζόμενο με ακετόνη και έχοντας μοριακό βάρος 15000 daltons. Διαχωρισμοί των πολυσακχαριτών απέδωσαν τρία κλάσματα, Α, Β και Γ. Το κλάσμα Α ήταν μία 1→6 συνδεδεμένη γλυκάνη με μοριακό βάρος 15000 daltons. Το κλάσμα Β περιείχε αραβινόζη και γλυκόζη σε λόγο γραμμομορίων 3:2 με 2→6 συνδέσμους, με μοριακό βάρος 30000 daltons. Το κλάσμα Γ ήταν μία 1→4 συνδεδεμένη ακετυλιωμένη μαννάνη εμπεριέχοντας 10% ακετυλομάδες με μοριακό βάρος 40000 daltons. Οι ακετυλομάδες εντοπίστηκαν στους άνθρακες C2 ή C3 και C6, επιβεβαιώνοντας την δομή της ακεμαννάνης. Εν τω μεταξύ, ένας οξικός πολυσακχαρίτης μοριακού βάρους  $3,6 \times 10^3$  daltons, απομονώθηκε με κλασματική κατακρήμνιση συμπλόκων χαλκού και δείχθηκε να αποτελείται από 1→3 και 1→4 συνδέσμους γλυκόζης και γλουκουρονικού οξέος με λόγο γραμμομορίων 9:1. Ο τελευταίος πολυσακχαρίτης συνοδεύτηκε από μία μη προσδιορισμένη γλυκάνη.

Σε άλλη μελέτη με χρωματογραφία ανιοντοεναλλαγής, προέκυψαν δύο κλάσματα ονομαζόμενα αρμποράνη Α και αρμποράνη Β, που λέγεται ότι μειώνουν το κλάσμα γλυκόζης στα ποντίκια. Και τα δύο κλάσματα περιείχαν πρωτεΐνες 2,5% και 10,4% αντίστοιχα, παρόλο που δεν ήταν βέβαιο αν ήταν ενωμένες με τους πολυσακχαρίτες των κλασμάτων. Η αρμποράνη Α περιείχε ονομαστικά γαλακτόζη, γλυκόζη και ραμνόζη με γραμμομοριακούς λόγους 10:3:3 και ίχνη φουκόζης, αραβινόζης, ξυλόζης και μαννόζης με 16,7% Ο-ακετυλομάδες και με μοριακό βάρος  $1,2 \times 10^4$  daltons. Η αρμποράνη Β περιείχε μόνον γλυκόζη και μαννόζη σε μοριακό λόγο 10:3 με 5,3% Ο-ακετυλομάδες και με μοριακό βάρος  $5,7 \times 10^4$  daltons. Μία άλλη προετοιμασία χρησιμοποιώντας διαχωρισμό με ανιοντοεναλλακτικό ζελέ οδήγησε σε τρία πολυσακχαρικά κλάσματα. Το οξικό κλάσμα με μοριακό βάρος  $5 \times 10^4$  daltons περιείχε αραβινόζη και γαλακτόζη σε μοριακό λόγο 1:1 με ίχνη ραμνόζης και γλυκόζης και 6% γλουκουρονικό οξύ. Τα άλλα δύο ουδέτερα κλάσματα είχαν μοριακά βάρη  $1,2 \times 10^4$  και  $1 \times 10^6$  daltons και με μοριακό λόγο μαννόζης-γλυκόζης ίσο με 95:5 με 1→4 συνδέσμους. Και τα δύο κλάσματα περιείχαν Ο-ακετυλομάδες εντοπιζόμενες στους άνθρακες C6 και C2,3.

Η **Aloe saponaria** είναι ένα άλλο είδος αλόης με φημισμένες θεραπευτικές ιδιότητες και ο ζελές του απέδωσε τρεις πολυσακχαρίτες διαχωριζόμενους με κλασματική κατακρήμνιση. Το κύριο συστατικό του ήταν σε ποσοστό 77% η ακετυλική μαννάνη. Ένα από τα μικρότερα συστατικά ήταν μία πολυγλυκάνη και άλλα όπως η μαννόζη, γλυκόζη και γαλακτόζη με λόγο 5:4:1. Σε άλλη περίπτωση ένας πολυσακχαρίτης της Aloe saponaria απομονώθηκε σαν κύριο συστατικό του ζελέ σε ποσοστό 70%. Εδώ το υλικό του οποίου είχε γίνει η συγκομιδή νωρίτερα απέδωσε μία 1→4 συνδεδεμένη μαννάνη με ακετυλομάδες (18%) στον άνθρακα 6 και με μοριακό βάρος  $1,5 \times 10^4$  daltons, ενώ το υλικό που συλλέχθηκε αργότερα είχε 1→4 συνδεδεμένη ακετυλική μαννάνη με 5% γλυκοζικές μονάδες και μοριακό βάρος  $6,6 \times 10^4$  daltons.

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι ανοσοενυχυτικές ιδιότητες που είχαν αναφερθεί από τον ζελέ ενός ενδημικού Μαδαγασκάρης, **Aloe vaombe**, Decorse et Poiss (που λαθεμένα απαντάται σαν *Aloe vahombe* σε διάφορα κείμενα) και συγκεκριμένα ενός πολυσακχαρίτη που απομονώθηκε με κατακρήμνιση αιθανόλης. Περεταίρω καθαρισμός με φιλτράρισμα του ζελέ απέδωσε ένα κλάσμα με λόγο γλυκόζης προς μαννόζη ίσο με 1:3 και μία ακετυλομάδα για κάθε μονάδα γλυκόζης. Επιπλέον, κρίσιμος διαχωρισμός με διάφορες μεθόδους διαχώρισε αυτό το κλάσμα των  $1 \times 10^5$  dalton, σε τρεις άλλες ακετυλιωμένες γλυκομαννάνες με MB έως  $2,5 \times 10^3$  daltons, έως  $2 \times 10^4$  daltons και άνω των  $10^5$  daltons. Το τελευταίο κλάσμα περιείχε επίσης και πρωτεΐνες.

Μία πολύ διακοσμητική αλόη με φύλλα σχήματος λουρίδας, η **Aloe plicatilis Mill.** περιείχε μία ακετυλιωμένη γλυκομαννάνη με μοριακό βάρος  $1,2 \times 10^4$  dalton, και γραμμομοριακό λόγο γλυκόζης προς μαννόζη 1:2,8. Από την άλλη μία καθαρή ακετυλική μαννάνη ήταν το κύριο συστατικό του ζελέ της **Aloe vanbalenii**. Οι μικρότεροι πολυσακχαρίτες ήταν μία γλυκάνη και μία γαλακτομαννάνη. Μια διαφορετική παράταξη συστατικών αναφέρθηκε από τον ζελέ της **Aloe ferox Mill.** όπου 14 διακριτοί πολυσακχαρίτες ξεχώρισαν, οι περισσότεροι εκ των οποίων ήταν αραβινογαλακτάνες ή ραμνογαλακτουρονάνες.

Η εικόνα που αναδύεται από τα έξι είδη αλόης που έχουν μελετηθεί μέχρι τώρα είναι, ένας αριθμός από πολυσακχαρίτες με την μαννόζη να είναι το κυρίαρχο συστατικό μονομερές και τα μοριακά βάρη να ποικίλουν από  $10^3$  έως  $10^6$  daltons. Το συστατικό με τις περισσότερες ευρεσιτεχνίες και με μεγάλο αριθμό αναφερόμενων θεραπευτικών δραστηριοτήτων είναι η ακεμαννάνη η οποία είναι μια ακετυλιωμένη μαννάνη με  $8 \times 10^4$  daltons ως προς το μέγεθος.

## 6. ΑΖΩΤΟΥΧΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Ανάλυση αζώτου των εκχυλισμάτων του φύλλου και των ακατέργαστων ή μερικά καθαρισμένων ζελέ αλόης πάντοτε απέδιδε θετικά αποτελέσματα. Ως εκ τούτου οι Rowe και Parks (1941) ανέφεραν 1,39% ξηρό βάρος αζώτου στους εξωτερικούς ιστούς του φύλλου της *Aloe vera* αλλά χωρίς καμία περιγραφή για τον ζελέ. Μία άλλη πιο πρόσφατη αναφορά για τον ζελέ της *Aloe vera* ήταν σχετικά με ποσοστό πρωτεΐνης στο παρέγχυμα του φύλλου ίσο με 2,9% κατά ξηρό βάρος. Σε επόμενη ανάλυση το πρωτεϊνικό περιεχόμενο υπολογίστηκε σε 0,01% του χυμού της αλόης και αναγνωρίστηκε η υδροξύπρολίνη, η ιστιδίνη και η κυστίνη σαν ελεύθερα οξέα. Οι Waller et al (1978) αναγνώρισαν 17 κοινά αμινοξέα σε ελεύθερη κατάσταση απ' τα οποία η αργινίνη ήταν η πιο άφθονη. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και αλλού από τον Kahn (1983), με την αργινίνη να είναι ειδικά σημειωμένη μαζί με το γλουταμικό οξύ.

Στην *Aloe ferox*, απ' την άλλη, η ασπαργίνη αναφέρθηκε ως το πιο άφθονο συστατικό, ακολουθούμενο από την γλουταμίνη, αλανίνη και ιστιδίνη. Οι αλανίνη, προλίνη, λυσίνη και γλουταμικό οξύ ήταν προεξέχοντα στα φύλλα της *Aloe arborescens* συνοδευόμενα και από άλλα ελεύθερα πρωτεϊνών αμινοξέα. Αλλού το ασπαρτικό οξύ, γλουταμικό οξύ και σερίνη σημειώθηκαν στον ζελέ της *Aloe vera*.

Δραστηριότητα λεκτινών αναφέρθηκε σε μερικά παρασκευάσματα αλόης. Δύο τέτοια υποστρώματα διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία Sephadex από ολόκληρα τα φύλλα της *Aloe arborescens* και τους δόθηκαν οι κωδικοί P-2 και S-1. Και τα δύο αναγνωρίστηκαν σαν γλυκοπρωτεΐνες με 18% και 50% ουδέτερους υδατάνθρακες και μοριακά βάρη  $1,8 \times 10^4$  daltons και  $2,4 \times 10^4$  daltons. Ορίστηκαν αντίστοιχα σαν αλοκτίνη Α και αλοκτίνη Β. Ένα ξεχωριστό παρασκεύασμα απομονώθηκε το ίδιο χρονικό διάστημα και ονομάστηκε ATF 1011 ενώ μετέπειτα δήχθηκε να ενεργοποιεί τα Τ κύτταρα. Σε άλλη περίπτωση με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμίδης επιβεβαίωσε τα μοριακά βάρη και επέκτεινε το εύρος των βιολογικών δραστηριοτήτων. Επίσης έγινε η περιγραφή, του διαχωρισμού πρωτεϊνικού κλάσματος από τον φρέσκο χυμό των φύλλων της *Aloe arborescens* με χρωματογραφίες DEAE κυτταρίνης και Sepharose 6B. Πέρα από τα αναμενόμενα αμινοξέα το υδρολυόμενο πρωτεϊνικό κλάσμα περιείχε σε λόγους



2:2:1:1:4:1 γλυκόζη, μαννόζη, γαλακτόζη, γλυκοσαμίνη, γαλακτοσαμίνη και N-ακετυλογλουκοσαμίνη. Δύο γλυκοπρωτεΐνες απομονώθηκαν με κατακρήμνιση θειικού αμμωνίου και με τις δύο να περιέχουν μαννόζη, αραβινόζη, γαλακτόζη και γλυκοσαμίνη. Οι εξωτερικοί πράσινοι ιστοί απέδωσαν διάφορες πρωτεΐνες διαχωριζόμενες με DEAE κυτταρίνη από τις οποίες η μία είχε δραστηριότητα λεκτίνης και μοριακό βάρος  $3,5 \times 10^4$  daltons.

Λεκτίνες επίσης αναφέρθηκαν και από τον ζελέ της *Aloe vera*. Ηλεκτροφόρηση σε πηκτική πολυακρυλαμίδης αποκάλυψε το λιγότερο 23 πολυπεπτίδια από το ώριμο φύλλο, από τα οποία τα 13 εμφανίστηκαν στον ζελέ. Ένα απ' αυτά είχε μοριακό βάρος  $1,8 \times 10^4$  daltons και ομοιάζε με την αλοκτίνη Α που αναφέρθηκε ανωτέρω, ενώ έξι άλλα παρουσιάστηκαν κοινά με αυτό το είδος –της *Aloe vera*- και στην *Aloe arborescens* η οποία από μόνη της είχε συνολικά 9 πολυπεπτίδια. Στην ίδια κατεύθυνση, 11 πολυπεπτίδια σημειώθηκαν στην *Aloe saponaria* αντικατοπτρίζοντας αυτά που παρατηρήθηκαν στην *Aloe vera*. Αλλού ένα κλάσμα γλυκοπρωτεΐνης προωθώντας την εξάπλωση των κυττάρων *in vitro* δείχθηκε να περιέχει μία μόνη ολότητα μοριακού βάρους  $2,9 \times 10^4$  daltons, ενώ περιείχε 11% υδατάνθρακες.

Ένας διαφορετικός τύπος πρωτεΐνης απομονώθηκε από τα φύλλα της *Aloe arborescens*. Υπερδιήθηση των εκχυλισμάτων απέδωσε ένα κλάσμα με μοριακό βάρος πάνω από  $1,0 \times 10^5$  daltons που κατείχε δραστηριότητα βραδυκινάσης και χαρακτηρίστηκε σαν καρβοξυπεπτιδάση και ειδικότερα σαν καρβοξυπεπτιδάση σερίνης. Σε ξεχωριστή μελέτη δύο γλυκοπρωτεϊνικά κλάσματα διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία Sepharose, ένα εκ των οποίων έδειξε να έχει επίσης δραστηριότητα βραδυκινάσης. Με μοριακό βάρος  $4,0 \times 10^4$  daltons και με κοινές όλες τις άλλες ιδιότητες φανερώθηκε και μία άλλη γλυκοπρωτεΐνη περιγραφόμενη με το όνομα γλυκοπρωτεΐνη Α. Οι τελευταίοι συγγραφείς είχαν διεκπεραιώσει την μελέτη της βραδυκινάσης από την *Aloe saponaria* που περιείχε κυρίως μαννόζη σαν υδατανθρακικό μέρος.

Τέλος ένας αριθμός ενζύμων εκμειεύτηκε και διαχωρίστηκε με ηλεκτροφόρηση ζελέ αμύλου για χρήση στην γενετική σηματοδότηση για προσδιορισμό υβριδίων ανάμεσα στην *Aloe arborescens* και την *Aloe ferox*.

## 7. ΑΛΛΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Πολλές αναλύσεις έχουν γίνει σχετικά με τις αλόες για αναζήτηση συστατικών τα οποία μπορεί να είναι υπεύθυνα για ωφέλιμες ιδιότητες και διάφορα οργανικά συστατικά επιπρόσθετα αυτών που περιγράφηκαν ανωτέρω αναφέρθηκαν από καιρό σε καιρό. Για μία λεπτομερή μελέτη της σύστασης των διαφόρων κλασμάτων του φυτού της *Aloe arborescens* αυτά ερευνήθηκαν όπως φαίνεται στον πίνακα. Μια άλλη, πιο λεπτομερής ανάλυση της *Aloe vera* μέχρι αυτήν την στιγμή αποκάλυψε ένα περιεχόμενο λιπιδίων του 5% του ξηρού βάρους του ζελέ (Femenia et al, 1999). Η κοινή στερόλη φυτών, β-σιτοστερόλη βρέθηκε στα φύλλα της *Aloe vera*, μαζί με μικρές ποσότητες χοληστερόλης, καμπεστρόλης και λουπεόλης. Επίσης παρατηρούμενος ήταν ένας αριθμός μη προσδιορισμένων πτητικών, αναγνωριζόμενων με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας. Ένας ακόμη προσδιορισμός της β-σιτοστερόλης έγινε στα φύλλα της *Aloe arborescens* αλλά και στα φύλλα της *Aloe vera*. Τότε βρέθηκαν επίσης και ο γλυκοζίτης της σιτοστερόλης και ο εστέρας του παλμιτικού οξέος στα φύλλα της *Aloe vera* μαζί πάλι με την λουπεόλη. Μία μεταγενέστερη μελέτη έδειξε β-σιτοστερόλη και μια ποικιλία με n-αλκάνια στον ζελέ της *Aloe vera* με το n-οκταδεκάνιο να υπερσιχύει καθώς και τα λιπαρά οξέα και οι μεθυλεστέρες τους. Το κύριο συστατικό ενός αποστάγματος ατμού με μεθανόλη της *Aloe arborescens* ήταν 3-υδροξύ-μεθυλο-φουράνιο. Αργότερα μια πιο ήπια απόσταξη ατμού έδωσε έναν αριθμό από πτητικά των οποίων τα κύρια συστατικά ήταν (Z)-3-εξανόλη και (Z)-3-εξανάλη, ενώ εκχύλιση υπερκείμενης φάσης απέδωσε (Z)-3-εξανόλη και (E)-3-εξανάλη. Επίσης τα οξέα κιτρικό, μαλικό και φορμικό βρέθηκαν σε διάφορες αλόες, με το μαλικό οξύ να αποτελεί το 1,3% της πρώτης ύλης. Το μαλικό οξύ χρησιμοποιήθηκε σαν

ένα δεύτερο σημάδι επικύρωσης του ζελέ που προσφέρεται στην αγορά και προέρχεται από την αλόη. Πρωτύτερα, μία εκτενής μελέτη των κήρων του φύλλου και του περιάνθιου σε 63 είδη αλόης έδειξε ότι το κύριο συστατικό σε πολλά δείγματα ήταν το hentriacontane, ένα μόριο με 31 άτομα άνθρακα και 10.660.307.791 συντακτικά ισομερή! Παρουσία και άλλων υδατανθράκων είχε ταξινομική συσχέτιση. Ένα εκχύλισμα ολόκληρου του φυτού της *Aloe vera* απέδωσε 0,7% μη πολικά λιπίδια από τα οποία τα κύρια συστατικά ήταν η στιγμαστερόλη (18,4% του δείγματος) και το στεατικός εστέρας της (21,3%) με μικρότερα ποσά χοληστερόλης (12,5%), μεθυλο-ελαϊκού εστέρα (7,1%), τριολεΐνης (2%) και ολεϊκού οξέος (2%). Τα πολικά λιπίδια (0,9%) περιείχαν κυρίως φωσφατιδικό οξύ (47,3% του δείγματος) με μερικά 6-δεοξύ-6-σουλφο-D-γλυκοπυρανοζικά διγλυκερίδια (16,8%), φωσφατυδιλοχολίνη (12,1%) και φωσφατιδυλενολαμίνη (12%). Υδρόλυση του λιπιδικού κλάσματος απέδωσε κυρίως γ-λινολεϊκό οξύ (42% του κλάσματος), με μικρότερη ποσότητα αραχιδονικού οξέος (3,1%) τα οποία μαζί εικάστηκαν σαν πρόδρομοι των προσταγλανδινών. Μία άλλη ανάλυση του ζελέ της *Aloe vera* με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας έκανε αισθητή την παρουσία στερολών, σαπωνίνων, τριτερπενοϊδών και ναφθακινονών. Τα απλά σάκχαρα, γλυκόζη, φρουκτόζη και σουκρόζη είναι παρόντα σε μεγάλες ποσότητες στο νέκταρ των αλόων και μία έρευνα 82 ειδών αλόης αποκάλυψε 2 ομάδες στις οποίες η σουκρόζη βρέθηκε είτε σε πολύ υψηλά είτε σε πολύ χαμηλά επίπεδα.

Όπως τα οργανικά υποστρώματα που περιγράφηκαν παραπάνω υπάρχει φυσικά και η ανόργανη σύσταση σε κάθε φυτό. Μία άλλη αναφορά έδωσε περιεχόμενο τέφρας του καθαρού ζελέ σε 12,9% σε ξηρό βάρος. 20 χρόνια αργότερα μια ανάλυση της *Aloe vera* σε ξήρανση υπό κατάψυξη του χυμού της αποκάλυψε υψηλά επίπεδα χλωρίου (12,2%) μαζί με κάλιο (6,6%) και ασβέστιο (4,7%). Ανάλυση της *Aloe arborescens* στον αποτεφρωμένο χυμό του ολόκληρου φύλλου έδειξε κάλιο (57%), σαν κύριο μεταλλικό συστατικό, μαζί με νάτριο (32%), μαγγάνιο (9%), μαγνήσιο (2%) και ασβέστιο (1%). Ασβέστιο και μαγνήσιο γαλακτικού οξέος βρέθηκαν στα φρέσκα φύλλα της *Aloe arborescens* μαζί με άλλα 11 μεταλλικά κατιόντα. Το ασβέστιο (0,3%) ήταν το κύριο συστατικό δείγματος *Aloe vera* ζελέ, ενώ μεταγενέστερη μελέτη σε ξήρανση υπό κατάψυξη έδωσε ασβέστιο (3,5%) ακολουθούμενο από μαγνήσιο (0,7%) και νάτριο (0,2%). Η λεπτομερής ανάλυση των Femenia et al, (1999) έδωσε κάλιο (3,7%) και ασβέστιο (3,6%) βασιζόμενα στον λυοφιλιωμένο ζελέ. Είναι αξιοσημείωτο ότι βρήκαν επίσης ένα σχετικά υψηλό ποσοστό ασβεστίου (3,3%) στους αδιάλυτους στην αλκοόλη πολυσακχαρίτες.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### Άρθρα

1. Alexander Farkas, *Aloe polysaccharide composition and its preparation*, 26-Dec-1967, United States Patent 3360511
2. Gaurhari Mandal, Amalendu Das, *Structure of the glucomannan isolated from the leaves of *Aloe barbadensis* Miller*, Carbohydrate Research Volume 87, Issue 2, 15 December 1980, Pages 249-256
3. D. Channe Gowda, Belkavadi Neelisiddaiah, Yernool V. Anjaneyalu, *Structural studies of polysaccharides from *Aloe vera**, Carbohydrate Research Volume 72, July 1979, Pages 201-205

### Βιβλία

1. Reynolds, T.,. *Aloe chemistry*. In: Reynolds, T. (Editor). *Aloes: the genus Aloe*. 2004 CRC Press, Boca Raton, Florida, United States

Κεφάλαιο 3

Ε.Μ.Π. 2011

## ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

### Η ανάλυση του ζελέ του χυμού της αλόης και των παραγώγων της

#### 1. Περίληψη

Είναι πιστευτό για διάφορα χρόνια ότι πολλές από τις ωφέλιμες επιδράσεις των εκχυλισμάτων του φύλλου αλόης έγκεινται στους υδατάνθρακες. Τα χοντρά και σαρκώδη φύλλα περιέχουν όμως τόσο υδατάνθρακες κυτταρικού τοιχώματος όπως κυτταρίνες και ημικυτταρίνες, καθώς και υδατάνθρακες αποθήκευσης όπως ακετυλιωμένες μαννάνες, αραβινάνες και αραβινογαλακτάνες. Όπως όλα τα κύτταρα επίσης περιέχουν πολλές διάφορες γλυκοπρωτεΐνες. Η ακετυλιωμένη μαννάνη είναι ο πρωταρχικός πολυσακχαρίτης του χυμού (του εσωτερικού δηλαδή κλάσματος του φύλλου) και έχει ευρέως μελετηθεί. Έχει αποδειχθεί να διαθέτει πολλές θεραπευτικές ιδιότητες όπως διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος. Η γενική δομή της μαννάνης ( $\beta 1 \rightarrow 4$  διασυνδεδεμένα μόρια μαννόζης και ακετυλίωση τους) έχει καλώς προσδιορισθεί, παρόλο που πολλά δομικά χαρακτηριστικά όπως ο βαθμός ακετυλίωσης, το περιεχόμενο γλυκόζης και το μοριακό βάρος απομένουν για προσδιορισμό, ειδικά δε σε σχέση με τις λειτουργικές ιδιότητες, τις συνθήκες εκχύλισης και τις ώρες συγκομιδής. Υπάρχουν επίσης δύο τύποι μαννάνων στον χυμό, μία καθαρή και μία γλυκομαννάνη. Λίγες πληροφορίες είναι διαθέσιμες σχετικά με τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται για την μετατροπή ή σύνθεση της μαννάνης ή άλλων υδατανθράκων αλόης. Η αλόε-μαννάνη είναι πράγματι μοναδικός πολυσακχαρίτης. Μελλοντικές μελέτες στις σχέσεις δομής ιδιοτήτων θα αποδώσουν σίγουρα περισσότερο φως στις χημικές και δομικές ιδιότητες.

#### 2. Εισαγωγή

Η Aloe vera (L.) Burm. f. έχει μακριά ιστορία σαν φαρμακευτικό φυτό. Το φύλλο της Aloe vera αποτελείται από 2 μέρη, τον εσωτερικό «καθαρό» χυμό και την εξωτερική πράσινη επιδερμίδα. Πολλά από τα ωφέλιμα χαρακτηριστικά αυτού του φυτού αποδίδονται στον χυμό του, όπως η ανοσοδιέγερση και η αντιφλεγμονώδης δράση. Οι χημικές και βιολογικές ιδιότητες του χυμού έχουν περιγραφεί σε πολλές αναφορές. Η χρήση των εκχυλισμάτων του χυμού της αλόης στις δυτικές κοινωνίες αυξάνεται σε δημοσιότητα καθημερινώς. Επί του παρόντος, είναι η βάση για πολλά προϊόντα που χρησιμοποιούνται από τους ανθρώπους και τα ζώα για μία ποικιλία λόγων όπως ανοσοδιέγερση, θεραπεία πληγών, κοσμητικές χρήσεις και θρεπτικής αξία χρήσεις. Ως εκ τούτου η ανάλυση και η κατανόηση της χημικής σύνθεσης είναι σημαντικής αξίας, όχι μόνο για τους βαθύτερους μηχανισμούς των λειτουργιών της ή των βιολογικών επιδράσεών της, αλλά επίσης και για την τυποποίηση του προϊόντος και την ανάπτυξη νέων προϊόντων. Πράγματι, μέθοδοι με τις οποίες ο χυμός κατεργάζεται μπορεί να διαφέρουν ανάμεσα στους διάφορους κατασκευαστές. Τέτοια απόκλιση πιθανόν έχει αποτελέσματα στην τελική προετοιμασία ή στο προϊόν που οδηγεί σε διαφορετική χημική εικόνα και επομένως σε διαφορετικές λειτουργικές ιδιότητες.

Υπάρχουν πάνω από 400 είδη αναγνωριζόμενης αλόης. Ανάμεσα σ' αυτά η Aloe vera (L.) Burm. f. (Aloe barbadensis Miller) είναι η πιο ευρέως γνωστή και χρησιμοποιήσιμη παγκοσμίως. Ωστόσο, άλλα είδη όπως η Aloe arborescens Miller, Aloe saponaria (Ait.) Haw και Aloe ferox Miller έχουν τύχει τοπικής δημοσιότητας στην Ασία και στην Αφρική. Στην επιστημονική βιβλιογραφία είναι αυτά τα είδη αλόης που έχουν μελετηθεί και αναλυθεί, παρόλο που και άλλα είδη έχουν επίσης εξεταστεί. Η χημική σύστασή του χυμού ή του υγρού ζελέ έχουν επίσης εξετασθεί και περιγραφεί σε διάφορες αναφορές και περιλήψεις. Διάφορες αναλυτικές μέθοδοι έχουν περιγραφεί και χρησιμοποιηθεί για να

προσδιορίσουν και να απομονώσουν μεμονωμένα συστατικά. Μερικά παραδείγματα των συστατικών που έχουν προσδιορισθεί στον χυμό αλόης και έχουν απομονωθεί φαίνονται στον πίνακα 1.

**Πίνακας 1:** Παραδείγματα των συστατικών που έχουν προσδιορισθεί στον χυμό της αλόης.

Υδατάνθρακες	Μαννάνες: Καθαρές μαννάνες Γλυκομαννάνες Γλυκογαλακτομαννάνες Γαλακτάνη Υπόστρωμα πηκτίνης Αραβινογαλακτάνες Χυλάνες
Πρωτεΐνες	Λεκτίνες: Αλοκτίνη Α (18 kDa) και Β (24 kDa) ATF1011 (40 kDa) Ένζυμα: Φωσφοενολοπυρουβική καρβοξυλάση Δισμουτάση του υπεροξειδίου Καρβοξύπεπτιδάση
Λιπίδια	Στεροειδή χοληστερόλη καμπεστερόλη β-σιτοστερόλη Τριτορπενοειδή (λουπεόλη) Γ-λινολεϊκό οξύ Αραχιδονικό οξύ
Μικρά οργανικά συστατικά	Μαλικό οξύ (malic acid ή malate) Ανθρακινόνες C-γλυκοζίτες της ανθρόνης (όπως αλοΐνες Α και Β) Χρωμόνες (όπως η αλοεσίνη) Βιταμίνες Ελεύθερα σάκχαρα Ελεύθερα αμινοξέα

Στην ενότητα αυτή δεν θα επικεντρωθούμε στην ποσοτική θεώρηση των συστατικών, αλλά στις μεθόδους που έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανάλυσή τους. Αναζητήσαμε να συμπεριλάβουμε μία ή περισσότερες αναφορές για κάθε μέθοδο ανάλυσης των συστατικών του χυμού, έτσι ώστε ο ενδιαφερόμενος αναγνώστης να βρει εύκολα πως εφαρμόστηκε η μέθοδος. Είναι πάντοτε ελπιδοφόρο όταν χειριζόμενοι ένα θέμα από σκοπιάς αναλυτικής, μία ποσοτική αναφορά για μερικά συστατικά στο θέμα να μπορεί να καθιερωθεί ή απλά να εντοπιστεί. Δυστυχώς, τέτοια πληροφορία φαίνεται περιορισμένη σχετικά με τον χυμό της αλόης. Αυτό δεν οφείλεται στην έλλειψη προσπάθειας, αλλά στις διακυμάνσεις της αρχικής κατεργασίας χυμού ή απλά στην έλλειψη περιγραφής αυτής της διαδικασίας και των χρησιμοποιούμενων αναλυτικών μεθόδων, το οποίο και οδηγεί σε δύσκολη σύγκριση των δεδομένων. Φυσικά, περεταίρω περιπλοκή της κατάστασης είναι η φυσική διακύμανση στην γεωγραφική θέση, την κλιματική αλλαγή και το είδος του φυτού. Ωστόσο, πολλές προσπάθειες έχουν γίνει για την παραγωγή τέτοιων πληροφοριών. Μερικές απ' αυτές φαίνονται στον πίνακα 2.

**Πίνακας 2:** Οι ποσότητες μερικών από τα κύρια συστατικά του χυμού της αλόης

	Ποσότητα (% σε ξηρό βάρος)		Αναφορές
	Ανέπαφος χυμός	Υγρός ζελές	
<b>Ολικοί πολυσακχαρίτες</b>	-	10-20	Yaron, 1993
	30	-	Roboz and Haagen-Smit, 1948
<b>Ολικά διαλυτά σάκχαρα</b>	16,48±0,18	26,81±0,56	Femenia, 1999
	-	23-30	Yaron, 1993
	6,5	-	Rowe and Park, 1941
	25,5	-	Roboz and Haagen-Smit, 1948
<b>Ολική πρωτεΐνη</b>	7,26±0,33	8,92±0,62	Femenia, 1999
	2,78	-	Roboz and Haagen-Smit, 1948
<b>Ολικά λιπίδια</b>	4,21±0,12	5,13±0,23	Femenia, 1999
	4,76	-	
<b>Μαλικό οξύ</b>	5,4±0,85 – 8,7±3,0	-	Paez <i>et al.</i> , 2000
<b>Ca</b>	5,34 ± 0,14	3,58 ± 0,42	Femenia, 1999
<b>Na</b>	1,98 ± 0,15	3,66 ± 0,07	Femenia, 1999
<b>K</b>	3,06 ± 0,18	4,06 ± 0,21	Femenia, 1999
<b>Τέφρα (ashes)</b>	15,37 ± 0,32	23,61 ± 0,71	Femenia, 1999
	13,1	-	Rowe and Parks, 1991
	8,63	-	Roboz and Haagen-Smit, 1948

Είναι αλήθεια ότι για όλες τις χημικές αναλύσεις του ζωντανού ιστού, μία κατανόηση της δομής του είναι βασική. Επομένως θα αρχίσουμε με μία περιγραφή του φυτού και του χυμού προτού αντιμετωπίσουμε τις διάφορες αναλυτικές μεθόδους.

### 3. Το φυτό

Είναι σημαντικό να ενισχύσουμε το γεγονός ότι οι αλόες είναι ξερόφυτα, γλοιώδη φυτά προσαρμοσμένα να ζούνε σε περιοχές με χαμηλή διαθεσιμότητα νερού, και χαρακτηρίζονται από την κατοχή μεγάλου όγκου αποθηκευτικού ιστού για το νερό. Παρόλο που δεν συζητείται ευρέως στην βιβλιογραφία, ο χυμός των αλόων είναι πολύ πιθανόν να αποτελεί τον αποθηκευτικό ιστό νερού του φυτού. Ένα άλλο χαρακτηριστικό των γλοιωδών όπως οι αλόες είναι η κατοχή του μεταβολισμού κρασσουλάκεου οξέος CAM, ενός επιπρόσθετου φωτοσυνθετικού δρόμου που περιέχει το μαλικό οξύ. Σε αντίθεση με άλλα φυτά, τα CAM φυτά προσλαμβάνουν διοξείδιο του άνθρακα το βράδυ, το οποίο χρησιμοποιείται για την σύνθεση μαλικού οξέος. Έτσι τις πρώτες πρωινές ώρες, το περιεχόμενο μαλικού οξέος είναι κατά πολύ υψηλότερο στους CAM ιστούς του φυτού. Κατά την διάρκεια της μέρας, το μαλικό οξύ αποκαρβοξυλιώνεται και το διοξείδιο του άνθρακα μετατρέπεται σε υδατάνθρακες. Ο CAM συμβαίνει στα αλόες όπου λειτουργεί πρώτα στον εξωτερικό πράσινο επιδερμικό ιστό όπου εδρεύουν οι χλωροπλάστες. Η ημερήσια διακύμανση του περιεχόμενου του μαλικού οξέος παρατηρείται επομένως στον εξωτερικό πράσινο χώρο του φύλλου. Μηλικό οξύ είναι επίσης παρόν στον χυμό παρόλο που το περιεχόμενό του δεν φανερώνει ημερήσιες αλλαγές.

### 4. Ο χυμός

Το εσωτερικό μέρος του φύλλου, ελεύθερο πράσινων επιδερμικών ιστών, ή αλλιώς χυμός είναι ένας «καθαρός», μαλακός με υγρασία και γλιστερός ιστός. Έχει περιγραφεί χρησιμοποιώντας διάφορους άλλους όρους όπως γλοιώδης ιστός, κολλώδης ζελές, κολλώδης πηκτή, εσωτερικός ζελές και παρέγχυμα φύλλου. Εδώ θα χρησιμοποιήσουμε τον όρο «χυμός». Ο όρος ζελές –ή αλλιώς gel- συχνά

χρησιμοποιείται, αλλά δεν είναι ακριβής περιγραφή επειδή απαιτεί ομογενή ολότητα. Επιπροσθέτως ο όρος «ζελέ» είναι επίσης συγχυτικός λόγω του ότι είτε η αναφορά σε άθικτο χυμό ή στο ιξώδες υγρό του ζελέ που παρασκευάζεται ταυτίζεται με ουσία μη ολικώς καθαρή ή ομογενή.

Ο χυμός αποτελείται από μεγάλα μεσοφυλλικά κύτταρα. Οι αγγειακές δέσμες είναι σωληνοειδής δομές που εντοπίζονται στον χυμό, αλλά κοντά στους πράσινους επιδερμικούς ιστούς. Ο αριθμός αυτών των δεσμών ποικίλει από το μέγεθος των φύλλων. Αποτελούν σύστημα αγωγής του φύλλου υπεύθυνο για την μεταφορά των θρεπτικών συστατικών. Το μη ιξώδες κίτρινο υγρό που ρέει ελεύθερα από φρέσκα κομμένα φύλλα προέρχεται από τα περικυκλικά κύτταρα σχετιζόμενα με αυτές τις αγγειακές δέσμες.

Κυτταρικά τοιχώματα και κυτταρικές μεμβράνες μπορούν να παρατηρηθούν στον χυμό, παρόλο που τα άθικτα κυτταρικά οργανίδια όπως ο πυρήνας, οι χλωροπλάστες και τα μιτοχόνδρια δεν εντοπίζονται συνήθως. Τα μόνα οργανίδια που παρατηρούνται στον ώριμο χυμό των μεσοφυλλικών κυττάρων είναι διασταλμένα ή εκφυλισμένα πλαστίδια. Αυτά μπορεί να είναι η πηγή των γλοιωδών πολυσακχαριτών κατά την διάρκεια του πρώτου σταδίου ανάπτυξης των μεσοφυλλικών κυττάρων. Ως εκ τούτου, αντιθέτως από τους κολλώδεις ιστούς στα εύχυμα φυτά, ο χυμός της αλόης δεν περιέχει χλωροπλάστες και δεν εμπλέκεται στον CAM. Αυτό είναι σύμφωνο με το γεγονός ότι η φωτοσυνθετική δραστηριότητα συμβαίνει μόνο στον επιδερμικό ιστό όπου και είναι τοποθετημένοι οι χλωροπλάστες.

Ένας ιξώδης διαφανής υγρός ζελέ ή «κόλλα» περιέχεται μέσα στον χυμό των μεσοφυλλικών κυττάρων. Ένα κύριο συστατικό του υγρού ζελέ είναι η ουδέτερη ακετυλιωμένη β1→4 μαννάνη. Έτσι ο χυμός της Aloe vera καθίσταται μοναδικός στο ότι ο πολυσακχαρίτης που βρίσκεται στο κολλώδες περιεχόμενο του φύλλου είναι ουδέτερος. Άλλοι γλοιώδεις πολυσακχαρίτες απαντώνται σε άλλα φυτά και είναι κυρίως όξινοι.

### ➤ **Ανάλυση του χυμού και των συστατικών του**

Στην ανάλυση του χυμού, είναι σημαντικό να συνειδητοποιήσουμε ότι αντιμετωπίζουμε ένα υλικό από ζωντανό φυτό του οποίου οι ιδιότητες μπορούν να επηρεαστούν από πολλούς παράγοντες, όπως η γεωγραφική τοποθεσία, οι κλιματικές συνθήκες, η αλλαγή των εποχών και η γενετική του εκάστοτε φυτού. Για παράδειγμα, διαφορές στο επίπεδο ύδρευσης μπορούν να φέρουν ως αποτέλεσμα σημαντικές διαφορές στην ολική ποσότητα των σακχάρων και πολυσακχαριτών. Επιπροσθέτως υπάρχουν πολλά διαφορετικά είδη αλόης και άρα διακυμάνσεις στην χημική σύνθεση θα πρέπει να αναμένονται. Αυτή η κατάσταση απαιτεί αναλυτικές μεθόδους που να είναι καλά τυποποιημένες και βαθμονομημένες προτού κάποιος είναι σίγουρος εάν όποιες διαφορές ή ομοιότητες είναι αληθινές ή όχι. Ανάμεσα στα συστατικά που έχουν προσδιοριστεί μέχρι τώρα στον χυμό της αλόης ο πολυσακχαρίτης ειδικότερα της μαννάνης έχει ευρέως μελετηθεί. Στα πρόσφατα χρόνια, μεγάλη προσπάθεια έχει επίσης γίνει για την απομόνωση και χαρακτηρισμό των πρωτεϊνών του χυμού, ειδικότερα των λεκτινών.

### ➤ **Κατεργασία του χυμού**

Ο χυμός αποτελείται κυρίως από νερό με την ξηρή ύλη να αντιπροσωπεύει μόνο το 1% περίπου του ολικού βάρους. Η συγκομιδή και κατεργασία του χυμού αποτελεί το πρώτο βήμα όλων των αναλυτικών διαδικασιών. Φρέσκα φύλλα Aloe vera αφήνονται συνήθως έτσι ώστε να διαρρεύσει το κιτρινωπό υγρό πριν από την αφαίρεση του πράσινου επιδερμικού ιστού τους με ένα κοφτερό λεπίδι. Ο «καθαρός» χυμός –καλύτερα διαυγής χυμός- ομογενοποιείται χρησιμοποιώντας έναν αναδευτήρα ή ένα polytron. Αυτό το ομογενοποιημένο παρασκεύασμα χυμού είναι πολύ ιξώδες και έχει από pH 4 – 4,5. Συχνά περνάει μέσα από ένα φίλτρο ή φυγόκεντρο και το φιλτραρισμένο υγρό ή το υπερκείμενο της

φυγοκέντρισης είναι το αρχικό υλικό για τις διάφορες αναλύσεις. Εδώ θα αναφερθούμε σ' αυτό το τελευταίο σαν υγρό παρασκεύασμα ζελέ το οποίο, προτού γίνει οποιαδήποτε άλλη κατεργασία, είναι συχνά λυοφιλιωμένο.

Εναλλακτικά, νερό, αλάτι, ακετόνη, αιθανόλη, μεθανόλη ή άλλοι διαλύτες μπορεί να προστεθούν στον ομογενοποιημένο χυμό για εκχύλιση πριν από το φιλτράρισμα ή την φυγοκέντρωση.

### ➤ Φυσική εμφάνιση

Το υγρό παρασκεύασμα του ζελέ είναι ένα ιξώδες «διάλυμα» -πιο σωστά κολλώδες μίγμα- το οποίο εξαρτημένου του μεγέθους των πόρων του φίλτρου ή της δύναμης φυγοκέντρωσης, μπορεί να είναι καθαρό ή πολύ συννεφώδες. Η εμφάνιση ενός κιτρινωπού ή καφεδοειδούς χρώματος υποδηλώνει ότι έχει μολυνθεί με ανθρακινόνες από τον επιδερμικό ιστό ή ότι έχει υποστεί μια διαδικασία σε μη έγκυρο χρόνο και η οξειδωση των φαινόλων έχει αρχίσει να συμβαίνει. Οι ανθρακινόνες, κανονικά έχουν ένα κιτρινωπό χρώμα και είναι ευαίσθητες στον αέρα και στο φως. Υπό εκθέσεως στον περιβάλλοντα αέρα, θα μετατραπούν σταδιακά από ροζ σε καφέ. Είναι δύσκολο να εξολοθρευτούν συνολικά οι ανθρακινόνες από τα παρασκευάσματα του χυμού όπως έχει αποδειχθεί από τους Yamaguchi et al (1993).

## 5. Γενικές αναλυτικές μέθοδοι

Χαμηλής και υψηλής πίεσης χρωματογραφία (LPLC και HPLC) , βασικές μέθοδοι διαχωρισμού, είναι ευρέως χρησιμοποιήσιμες για κλασματοποίηση, καθαρισμό και προσδιορισμό μεγέθους. Η LPLC αναφέρεται επίσης και ως διείσδυση ζελέ –gel permeation- ή χρωματογραφία φιλτραρίσματος ζελέ. Από την στιγμή που ο διαχωρισμός βασίζεται στο μέγεθος των μορίων, αναφέρονται συλλογικά όλες οι παραπάνω μέθοδοι σαν χρωματογραφία αποκλεισμού. Οι ανιχνευτές που χρησιμοποιούνται είναι συνήθως UV/Vis φασματόμετρα και/ή διαθλασίμετρα. Μπορούν επίσης να συζευχθούν με φασματόμετρα μάζας (MS) και σκέδαση φωτός για την αύξηση της αναλυτικής ισχύος και για να επιτραπεί τα συστατικά να είναι γρήγορα προσδιορίσιμα.

Χρωματογραφία ιοντοεναλλαγής είναι η διαχωριστική τεχνική βασιζόμενη στο φορτίο των μορίων. Είναι χρήσιμη για τον διαχωρισμό φορτισμένων μορίων από τα ουδέτερα μόρια. Η αέριος χρωματογραφία (GC) είναι μία άλλη ευρέως εφαρμοσμένη τεχνική. Η κινητή φάση είναι αέριο αντί για υγρό όπως στις LPLC και HPLC. Είναι κατάλληλη για την ανάλυση πτητικών συστατικών. Για παράδειγμα οι ακέτυλο- ή μέθυλο- ομάδες στους πολυσακχαρίτες μπορούν να μετρηθούν με αυτήν την μέθοδο ακολουθώντας σαπωνοποίηση. Άλλες κοινές χρησιμοποιούμενες αναλυτικές μέθοδοι περιλαμβάνουν φασματοσκοπίες ειδικής στροφής υπέρυθρου (IR) και μαγνητικού πυρηνικού συντονισμού (NMR). Αυτές οι μέθοδοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευση της δομής ενός συστατικού ή για τον προσδιορισμό ενός συστατικού βασιζόμενοι σε ειδικές μοναδικές «υπογραφές» κάθε χημικού δεσμού ή ομάδας παρούσας στο συστατικό.

Άλλες αναλυτικές μέθοδοι που έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση του χυμού αλόης και των παραγώγων εμπεριέχουν ανάλυση στοιχείων, σύνθεσης αμινοξέων, περιεχόμενου τέφρας, περιεχόμενου υγρασίας και περιεχόμενου βαρέων μετάλλων. Περιγραφή αυτών των μεθόδων μπορεί να βρεθεί σε πολλές δημοσιεύσεις όπως AOAC (Official methods of analysis). Πολλές αναλύσεις μπορούν να επιτευχθούν με αυτοματοποιημένα όργανα. Παραδείγματα της χρήσης αυτών των μεθόδων στην ανάλυση του χυμού και των παραγώγων του μπορούν να βρεθούν σε διάφορες μελέτες.



## 6. Ειδικές αναλυτικές μέθοδοι

### ➤ Υδατάνθρακες

Οι βασικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανάλυση υδατανθράκων έχουν περιγραφεί από τον Roybt (1998). Το βιβλίο των Charlin και Kennedy (1994) είναι μια καλή πηγή για την περιγραφή βήμα-βήμα των κοινών χρησιμοποιούμενων μεθόδων.

#### **Ολικοί υδατάνθρακες**

Διάφορες χημικές αναλύσεις έχουν χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του περιεχομένου ολικών υδατανθράκων και ουρονικού οξέος στα διάφορα παρασκευάσματα χυμού ή παρασκευάσματα απομονωμένων πολυσακχαριτών. Η πιο κοινή χρησιμοποιούμενη μέθοδος είναι η ανάλυση του φαινολοθειικού οξέος για περιεχόμενο ολικών υδατανθράκων και η μέθοδος m-υδροξυφαινυλίου για περιεχόμενο ουρονικού οξέος. Αυτές οι αναλύσεις έχουν ευρέως εφαρμοσθεί για την ανάλυση παρασκευασμάτων χυμού. Η μέτρηση ολικών υδατανθράκων μπορεί επίσης να επιτευχθεί με HPLC και με την πρόσφατα αναπτυγμένη ΗΡΑΕ-PAD (υψηλής απόδοσης ανιοντοανταλλαγή- παλμικού αμπερομετρικού ανιχνευτή) για ανάλυση μεμονωμένων σακχάρων ακολουθούμενη υδρόλυσης. Ανάλυση της ολικής σύνθεσης σακχάρων είναι συχνά επιθυμητή και εξυπηρετεί σαν καλή τακτική ανίχνευσης της αξιοπιστίας του χυμού ή των προϊόντων που προέρχονται απ' αυτόν.

#### **Μονοσακχαρίτες**

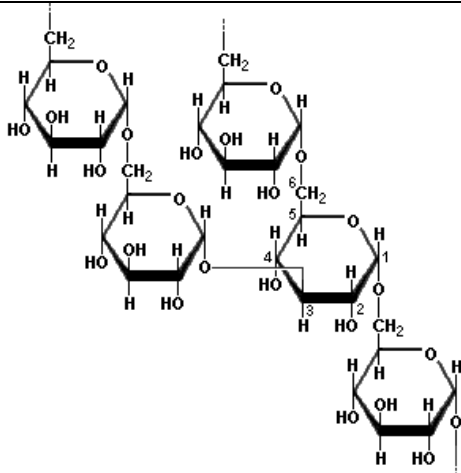
Για τον εντοπισμό ελευθέρων ή διαλυτοποιημένων μονοσακχαριτών τα δείγματα δεν υπόκεινται σε υδρόλυση. Αντιθέτως, τα δείγματα μπορούν κατευθείαν να διοχετευτούν σε HPLC ή TLC ακολουθούμενου φιλτραρίσματος ή διαλυτοποίησης. Οι Femenia et al το 1999, χρησιμοποίησαν την HPLC μέθοδο για την μέτρηση ολικών διαλυτών σακχάρων σε διάφορα παρασκευάσματα φύλλου αλόης. Η γλυκόζη είναι ο κυρίαρχος μονοσακχαρίτης που βρέθηκε στον χυμό αντιπροσωπεύοντας το 95% των ολικών διαλυτών μονοσακχαριτών.

### ➤ Απομόνωση και καθαρισμός πολυσακχαριτών

Οι πολυσακχαρίτες, κυρίως η μαννάνη, έχουν απομονωθεί από τον χυμό με διάφορες μεθόδους όπως αυτές της κατακρήμνισης αλκοόλης και της άμεσης κλασματοποίησης με χρωματογραφία. Συχνά η εκχύλιση εφαρμόζεται απευθείας στον ομογενοποιημένο χυμό με ζεστό νερό ή αλκοόλη πριν ή μετά το φιλτράρισμα ή το βήμα της φυγοκέντρισης. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι διαφορετικές συνθήκες εκχύλισης μπορούν να οδηγήσουν σε ένα πολύ διαφορετικό παρασκεύασμα πολυσακχαριτών. Μετά την εκχύλιση οι πολυσακχαρίτες μπορούν να καθαριστούν παραπέρα με χρωματογραφία. Σε συνήθεις περιπτώσεις η διείσδυση ζελέ με μέσα όπως Sephadex, Sepharose ή Sephacryl χρησιμοποιείται γι' αυτόν τον σκοπό. Ένα διαθλασίμετρο χρησιμοποιείται συνήθως σαν ανιχνευτής. Εάν ένας ανιχνευτής δεν είναι διαθέσιμος, τα κλάσματα μπορούν να ελέγχονται με αναλύσεις υδατανθράκων για τον εντοπισμό κορυφής πολυσακχαριτών. Η HPLC είναι η πιο συχνή μέθοδος για αναλυτικούς σκοπούς όπως ο προσδιορισμός μεγέθους και η ποιοτική ανάλυση. Χρωματογραφία ιοντοεναλλαγής επίσης χρησιμοποιείται για την ανάλυση πολυσακχαριτών από την Aloe vera. Η πιο συνήθης ομάδα μέσων για χρωματογραφία ιοντοεναλλαγής είναι η DEAE-Sephacel ή DEAE-Sepharose.

### ➤ Προσδιορισμός μοριακού βάρους

Τα μοριακά βάρη των αλόε-μαννάνων έχουν περιγραφεί σε πολλές περιπτώσεις με χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους χρησιμοποιώντας ουδέτερους πολυσακχαρίτες, όπως η δεξτράνη, με γνωστά μοριακά βάρη σαν πρότυπα. Άλλες μέθοδοι έχουν επίσης έχουν χρησιμοποιηθεί όπως η υπερφυγοκέντριση ισορροπίας και η οσμομετρία. Τα αποτελέσματα που προκύπτουν απ' αυτές τις μεθόδους είναι πάντοτε σχετικά και όχι απόλυτα. Προφανώς η μαννάνη που απομακρύνεται από φρέσκο χυμό είναι ένα πολύ μεγάλο μόριο με εκτιμώμενο μέγεθος να είναι  $>1 \times 10^3$  kDa. Χρήση περισσότερο προχωρημένων μεθόδων όπως σκέδαση φωτός για προσδιορισμό μοριακού βάρους δεν έχει παρατηρηθεί στις πρόσφατες αναφορές.



### Η χημική δομή της δεξτράνης

Η δεξτράνη είναι ένας πολυσακχαρίτης παρόμοιος με την αμυλοπηκτίνη, αλλά οι κύριες αλυσίδες είναι ενωμένες με  $\alpha 1 \rightarrow 6$  γλυκοζιτικούς δεσμούς και οι διακλαδώσεις με  $\alpha 1 \rightarrow 3$ . Η δεξτράνη είναι ένα προϊόν βακτηρίων του στόματος που προσκολλάται στα δόντια, και δημιουργεί μία επίστρωση που καλείται πλάκα. Επίσης χρησιμοποιείται ευρέως σε γλυκίσματα, σε βερνίκια, σαν πρόσθετο τροφίμων και ως παράγοντας αύξησης του όγκου του πλάσματος.

ΠΗΓΗ:

<http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates1.html>

### ➤ Προσδιορισμός σύστασης σακχάρων

Η σύνθεση σε σάκχαρα προσδιορίζεται με GC-MS ανάλυση των σακχάρων που παράγονται σαν οξικές αλδιτόλες ή τριμεθυλοπυριτικοί αιθέρες ακολουθούμενης υδρόλυσης. Η μέθοδος οξικής αλδιτόλης επιτρέπει την ανάλυση ουδέτερων σακχάρων μόνο, και η μέθοδος τριμεθυλοπυριτικού αιθέρα επιτρέπει την ανάλυση όλων των σακχάρων όπως του ουρονικού οξέος και των αμινοσακχάρων. Αυτές οι δύο μέθοδοι έχουν χρησιμοποιηθεί ευρύτατα για την ανάλυση υδατανθράκων αλόης. Πολυσακχαρίτες όπως η μαννάνη πρώτα υδρολύθηκαν με τριφθοροακετικό οξύ ή υδροχλωρικό οξύ και μεμονωμένα υπολείμματα σακχάρων παράχθηκαν σαν τριμεθυλοπυριτικοί αιθέρες ή οξικές αλδιτόλες. Τα παραγόμενα σάκχαρα αναλύθηκαν τότε με GC-MS. Ωστόσο οι συνθήκες για όξινη υδρόλυση ποικίλουν ανάμεσα στις διάφορες αναφορές και το ολικό περιεχόμενο υδατανθράκων σπάνια αναφέρεται. Οι συνθήκες υδρόλυσης προσδιορίζουν το πόσο αποτελεσματικά ένας πολυσακχαρίτης θα υποβαθμιστεί σε επιμέρους μονοσακχαρίτες, για παράδειγμα το απελευθερωμένο ποσό μονοσακχαριτών, το οποίο με την σειρά του επηρεάζει το αποτέλεσμα της ανάλυσης σύνθεσης. Μέχρι τώρα καμία προσπάθεια δεν έχει καταγραφεί για την αξιολόγηση των συνθηκών υδρόλυσης για την μαννάνη και την επίδρασή στην σύνθεση που παρατηρείται με GC-MS ανάλυση.

Χρωματογραφία χάρτου (Paper Chromatography) και χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (Thin Layer Chromatography) έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση σύνθεσης των πολυσακχαριτών της αλόης. Περεταίρω διαχωρισμός σε χάρτο κυτταρίνης ή πιάτο διοξειδίου του πυριτίου –κοινώς silica gel- τα σάκχαρα εντοπίζονται με ανάπτυξη χρώματος μετά από ψεκασμό του χάρτου με ένα μίγμα από χημικά αντιδραστήρια. Τα πλεονεκτήματα απ' αυτές τις μεθόδους είναι η απλότητά τους και η

απαίτηση φθηνού εξοπλισμού, αλλά η αδυναμία είναι ότι τα αποτελέσματα είναι πολύ δύσκολο να ποσοτικοποιηθούν λόγω του γεγονότος ότι διαφορετικά σάκχαρα αποδίδουν διαφορετικά χρώματα στην αντίδρασή τους με αντιδραστήρια εντοπισμού.

#### ➤ Προσδιορισμός συνδέσμου σακχάρων

Η σύνδεση σακχάρων συνήθως προσδιορίζεται με ανάλυση μεθυλίωσης. Έχει ευρύτερα χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του γλυκοζιτικού δεσμού των πολυσακχαριτών αλόης, ειδικότερα των μαννάνων. Οι πολυσακχαρίτες είναι συνήθως μεθυλιωμένοι με την μέθοδο Hakomori. Ακολουθώντας όξινη υδρόλυση οι μεθυλιωμένοι μονοσακχαρίτες αναλύονται με GC-MS. Η συνδεσμολογία των μονοσακχαριτών μπορεί να προσδιοριστεί επίσης με την χρήση ενζυματικής μεθόδου.

#### ➤ Σχηματισμός γλυκοζιτικού δεσμού

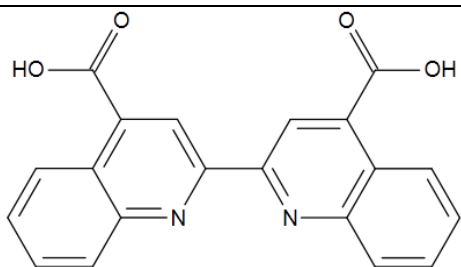
Η ειδική στροφή έχει χρησιμοποιηθεί ευρύτατα για τον προσδιορισμό της διαμόρφωσης του γλυκοζιτικού δεσμού στους πολυσακχαρίτες της αλόης και ειδικότερα της μαννάνης. Μετράται χρησιμοποιώντας ένα πολωσίμετρο. Ένας πολυσακχαρίτης παράγει μια θετική στρέψη εάν είναι κυρίως συνδεδεμένος με α-διαμόρφωση ή αρνητική στρέψη εάν έχει β-διαμόρφωση. Μία πιο ακριβής μέθοδος είναι η  $^{13}\text{C}$ -NMR φασματοσκοπία. Κάθε ανωμερικός άνθρακας δίνει ένα διακριτό σήμα στο φάσμα. Ένα καλό παράδειγμα είναι η μελέτη που διεξήχθη από τους Radjabi-Nassab et al το 1984 για προσδιορισμό της διαμόρφωσης του συνδέσμου της μαννάνης που απομονώθηκε από την *Aloe vahombe* (A.vahombe, Decorse et Pois).

Μία άλλη αξιόπιστη μέθοδος είναι η ενζυματική υποβάθμιση. Αυτή η μέθοδος είναι υψηλού βαθμού ειδικευμένη, εφόσον υπάρχει διαθέσιμο ένα χαρακτηρισμένο ένζυμο. Έχει χρησιμοποιηθεί μόνον περιστασιακά για πολυσακχαρίτες αλόης (και πιο συγκεκριμένα της *Aloe vahombe*). Και στις δύο περιπτώσεις, μια γαλακτοσιδάση χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του συνδέσμου των παράπλευρων αλυσίδων γαλακτόζης. Οι ένδο-β1→4 μαννανάσες από φυτά ή βακτήρια είναι πολύ εξειδικευμένες για τα β1→4 πολυμερή μαννόζης και μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για την ανάλυση της μαννόζης.

## 7. Πρωτεΐνες

#### ➤ Ολικές πρωτεΐνες

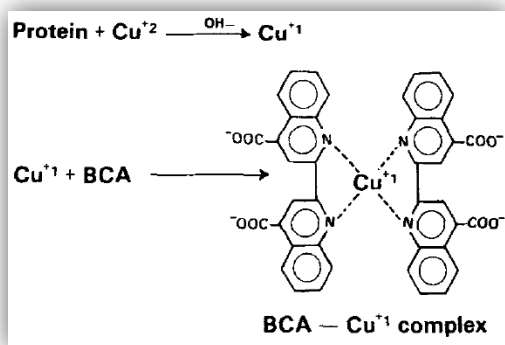
Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για την μέτρηση του περιεχομένου ολικής πρωτεΐνης όπως αυτή του BCA (bicinchoninic acid) και οι τεχνικές κατά Lowry. Αυτές οι αναλύσεις έχουν χρησιμοποιηθεί για την μέτρηση του περιεχομένου πρωτεΐνης σε παρασκευάσματα απομονωμένων πολυσακχαριτών. Κάποιος πρέπει να είναι προσεκτικός στο ότι αυτές οι έρευνες μπορούν να επηρεαστούν από την παρουσία άλλων συστατικών. Για παράδειγμα μπορούν να προσαρμοστούν για καθαρές πρωτεΐνες ή για καθαρούς πολυσακχαρίτες, αλλά όχι για μίγματα αυτών των συστατικών. Εναλλακτικά, το περιεχόμενο πρωτεΐνης μπορεί να εκτιμηθεί έμμεσα δια μετρήσεως του περιεχομένου αζώτου, και κατόπιν μετατρέπεται σε περιεχόμενο πρωτεΐνης. Αυτή η μέθοδος έχει υιοθετηθεί από τους Femenia et al (1999).



Το βισιγchonικό οξύ είναι ένα ασθενές οξύ που αποτελείται από δύο καρβοξυλιωμένους δακτυλίους κινολίνης.

ΠΗΓΗ:

[http://www.search.com/reference/Bicinchoninic\\_acid](http://www.search.com/reference/Bicinchoninic_acid)



Οι αντιδράσεις BCA- bicinchoninic acid assay.

Το βισιγchonικό οξύ χρησιμοποιείται για να προσδιοριστεί η ολική πρωτεΐνη σε ένα διάλυμα. Στην διπλανή σειρά αντιδράσεων δύο μόρια βισιγchonικού οξέος συμπλοκοποιούν ένα μοναδικό ιόν  $\text{Cu}^{1+}$  σχηματίζοντας ένα μωβ υδατοδιαλυτό σύμπλοκο που απορροφά ισχυρά φως στα 562 nm.

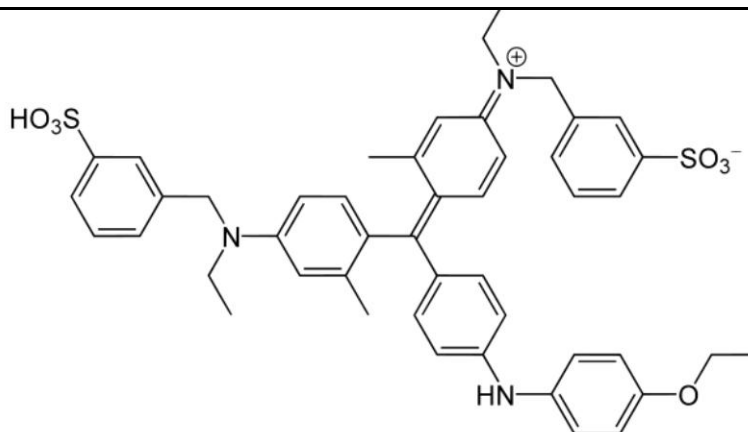
ΠΗΓΗ:

[http://www.search.com/reference/Bicinchoninic\\_acid](http://www.search.com/reference/Bicinchoninic_acid)

ΠΗΓΗ: Measurement of Protein Using Bicinchoninic Acid, P. K. SMITH, R. I. KROHN et al

### ➤ Καθαρισμός πρωτεϊνών

Οι πρωτεΐνες καθαρίζονται συνήθως με διεϊσδυση πηκτικής -gel permeation- και χρωματογραφία ανιοντοανταλλαγής. Πριν απ' αυτό το βήμα οι πρωτεΐνες μπορεί να συγκεντρώνονται από τον υγρό ζελέ με κατακρήμνιση θειικού αμμωνίου ή λυοφιλίωση. Μεμονωμένες πρωτεΐνες μπορούν να αναλυθούν με SDS-PAGE (ηλεκτροφόρηση πηκτικής πολυακρυλαμίδης- δωδεκυλοθειικού νατρίου) συζευγμένη με την Coomassie μπλε χρώση. Το Coomassie Brilliant Blue είναι το όνομα δύο παρόμοιων τριφαινυλομεθανικών βαφών που αναπτύχθηκαν για χρήση στην βιομηχανία κλωστοϋφαντουργίας, αλλά τώρα συχνά χρησιμοποιούνται για χρώση πρωτεϊνών στην αναλυτική βιοχημεία. Μέχρι τώρα, διαφορετικές πρωτεΐνες έχουν προσδιοριστεί στον χυμό της αλόης.



Η χημική δομή του Coomassie Brilliant Blue.

### ➤ Προσδιορισμός πρωτεϊνών

Για τον προσδιορισμό των πρωτεϊνών, μπορεί να εκτελεστεί ανάλυση της σύνθεσης αμινοξέων και της N-τερματικής ακολουθίας. Για περαιτέρω ανάλυση, τα αντισώματα μπορούν να παρασκευαστούν ενάντια στην πρωτεΐνη και το γονίδιό της μπορεί να κλωνοποιηθεί και να βρεθεί η αλληλουχία του βάσει των πληροφοριών από την αλληλουχία των πεπτιδίων.

Οι πρωτεΐνες μπορούν επίσης να προσδιοριστούν από την λειτουργία τους. Αυτό έχει επιτευχθεί με έλεγχο της πρωτεΐνης ή ενός παρασκευάσμάτος της που περιέχει την πρωτεΐνη με βιολογικές ή χημικές αναλύσεις όπως συγκόλληση κυττάρων του αίματος. Μέχρι τώρα διάφορες λεκτίνες έχουν απομονωθεί από τις αλός, πολλές από τις οποίες είναι ικανές να συγκολλήσουν κόκκινα κύτταρα του αίματος. Ωστόσο πολλές απ' αυτές τις μελέτες χρησιμοποίησαν ολόκληρο φύλλο σαν αρχικό υλικό. Έτσι δεν είναι ξεκάθαρο το αν αυτές οι λεκτίνες προέρχονται από τον χυμό ή τον επιδερμικό ιστό. Ενδείξεις για την παρουσία λεκτινών στον χυμό, ωστόσο έχουν δοθεί από τους Winters (1993) και Aken και Can (1999).

Οι Yagi et al (1987) προσδιόρισαν ένα ένζυμο το οποίο μπορεί να υποβαθμίζει την βραδυκίνη από εκχύλισμα ολόκληρου φύλλου. Οι Kluge et al (1979) προσδιόρισαν μία φωσφοενολοπυρουβική καρβοξυλάση στον χυμό. Με μεγάλο ενδιαφέρον, αυτό το ένζυμο από τον χυμό βρέθηκε να έχει διαφορετικό μοριακό βάρος και κινητικές ιδιότητες απ' το αντίστοιχο του επιδερμικού ιστού. Διάφορα άλλα ένζυμα (οξειδάση, αμυλάση, γλυκοζολάση, περοξειδάση της γλουταθιόνης, δισμουτάση του υπεροξειδίου και καρβοξυπεπτιδάση) επίσης έχουν προσδιοριστεί στον χυμό.

Συμπερασματικά, θα πρέπει να υπάρχουν περισσότερες πρωτεΐνες απ' αυτές που έχουν προσδιοριστεί μέχρι στιγμής στα φύλλα της αλόης. Εκτός των άλλων πρέπει να υπάρχουν μία σειρά από ένζυμα που εμπλέκονται στην σύνθεση των ακετυλιωμένων μαννάνων όπως μαννοσυλοτρανσφεράση. Προσδιορισμός τέτοιων ενζύμων θα είναι σημαντικός στην κατανόηση της σύνθεσης πολυσακχαριτών και μετατροπή τους στα φύλλα της αλόης.

## 8. Λιπίδια

### ➤ Εξαγωγή των λιπιδίων

Τα λιπίδια μπορούν να εξαχθούν με διαιθυλαιθέρα, κανονικό εξάνιο, χλωροφόρμιο/μεθανόλη (μέθοδος Folch) ή κανονική βουτανόλη. Στις μελέτες του Yamaguchi et al το 1993, η εκχύλιση με κανονικό εξάνιο ακολουθήθηκε με εκχύλιση με ακετόνη και τέλος ακολούθησε κλασματοποίηση σε στήλη με silica gel.

### ➤ Ανάλυση των συστατικών των λιπιδίων

Τα λιπίδια μπορούν πρώτα να κλασματοποιηθούν με στήλη με silica gel και τότε να αναλυθούν με TLC. Ταυτοποίησή τους ή δομική ανάλυση μπορεί να επιτευχθεί με GC-MS και NMR φασματοσκοπίες. Μέχρι τώρα, διάφορα συστατικά των λιπιδίων, όπως χοληστερόλη, λουπεόλη και β-σιτοστερόλη, έχουν ταυτοποιηθεί στον χυμό της αλόης. Μερικές απ' αυτές (λουπεόλη, β-σιτοστερόλη και καμπεστρόλη) έχει βρεθεί να κατέχουν αντιφλεγμονώδη δράση.

### ➤ Μικρά οργανικά συστατικά

Αυτά τα συστατικά περιλαμβάνουν βιταμίνες, αμινοξέα, μονοσακχαρίτες, πολλών ειδών οξέα ή άλατα. Μπορούν συνήθως να απομονωθούν και να ταυτοποιηθούν με HPLC και MS, ενώ έχουν χρησιμοποιηθεί και IR και NMR.

- ✓ Η γλυκόζη είναι ο κυρίαρχος μονοσακχαρίτης του χυμού, αγγίζοντας ένα 95% των ολικών διαλυτών μονοσακχαριτών.
- ✓ Το μαλικό οξύ, ένα οξικό χαρακτηριστικό των CAM φυτών, είναι παρόν στον χυμό παρόλο που το ποσό του δεν δείχνει ημερήσιες διακυμάνσεις όπως στον πράσινο επιδερμικό ιστό. Μπορεί να απομονωθεί και να ανιχνευτεί με HPLC σαν η αποκαλούμενη «E- κορυφή». Η παρουσία του μαλικού οξέος στον χυμό εκτιμάται να είναι από 5,4 έως 8,7%, εξαρτώμενου από τις συνθήκες ανάπτυξης.
- ✓ Οι ανθρακινόνες και τα παράγωγά τους (όπως οι αλοΐνες A και B) και οι χρωμόνες (όπως η αλοεσίνη) έχουν εντοπιστεί και ταυτοποιηθεί στα κιτρινωπά εξιδρώματα του φύλλου ή των παρασκευασμάτων που παράγονται από τους πράσινους επιδερμικούς ιστούς ή ολόκληρο το φύλλο. Ωστόσο, οι Okamura et al, (1997,1998) προσδιόρισαν και απομόνωσαν ανθρακινόνες και χρωμόνες από τον χυμό. Αλοΐνες έχουν επίσης προσδιοριστεί σαν ενεργά συστατικά για τις καθαριστικές επιδράσεις των αλόων.

## 9. Καθοδηγούμενης δραστηριότητας κλασματοποίηση και ανάλυση

Υπάρχει μία μακριά λίστα βιολογικών δραστηριοτήτων που συνδέονται με τον χυμό της αλόης. Μερικά παραδείγματα περιλαμβάνουν ανοσοδιέγερση, αντιφλεγμονώδεις δράσεις, δράσεις παρόμοιες με την ασπιρίνη, συμπληρωματικές δράσεις, παρεμπόδιση του πόνου, αντιβακτηριδιακές και αντιμυκητιακές δράσεις. Ωστόσο, απόλυτος προσδιορισμός ενός συστατικού σε σχέση με μία συγκεκριμένη βιολογική δραστηριότητα δεν ήταν πάντα επιτυχής ή επιδιωκόμενη. Επιπροσθέτως, είναι σχετικά πιθανόν να υπάρχει ένα και μόνο συστατικό με μία και μόνο δράση, για παράδειγμα παρόλο που ένα συστατικό έχει προσδιοριστεί να διαθέτει μία συγκεκριμένη δραστηριότητα δεν αποκλείεται η πιθανότητα να υπάρχει και κάποιο άλλο με παρόμοια. Αυτό οφείλεται ευρύτερα κυρίως σε έλλειψη συστηματικής κλασματοποίησης με βάση την δραστικότητα-βιολογική δραστηριότητα-. Δεν μπορεί να δοθεί αρκετή έμφαση ότι αυτή η προσέγγιση είναι κρίσιμη για προσπάθειες σχετικές με τον προσδιορισμό ενεργών συστατικών. Αυτή η προσέγγιση εξαρτάται από τα συστήματα της κλασματοποίησης και του καθαρισμού συζευγμένων με τις βιολογικές αναλύσεις. Ευτυχώς, οι αναλύσεις για ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δραστηριοτήτων έχει καλά καθιερωθεί, παρόλο που σε μερικές περιπτώσεις, οι αναλύσεις εφαρμόζονται σε μικρά μοντέλα ζώων όπως ποντίκια. Παρόλο που μία τέτοια προσέγγιση δεν έχει χρησιμοποιηθεί ευρύτατα στα συστατικά του χυμού της αλόης, μερικές επιτυχείς προσπάθειες έχουν πραγματοποιηθεί. Οι τ' Hart et al το 1989 απομόνωσαν έναν πολυσακχαρίτη που αποτελείτο κυρίως από μαννόζη και διέθετε μία αντι- συμπληρωματική δραστηριότητα. Μία γλυκοπρωτεΐνη που ενεργοποιεί την εξάπλωση των κυττάρων απομονώθηκε από τους Yagi et al το 1997, ενώ πιο πριν αντιφλεγμονώδη συστατικά απομονώθηκαν από τους Yamamoto et al το 1991 που χρησιμοποίησαν προκαλούμενη φλεγμονή από καραγενάνη σε ποντικούς σαν βιολογική ανάλυση.

Η συνολικής κλίμακας φόρμα αυτής της προσέγγισης είναι η αποκαλούμενη προσυμπωματικού ελέγχου υψηλής απόδοσης, όπως η απομόνωση κάθε ομάδας συστατικών και τότε κάθε μεμονωμένο συστατικό από κάθε ομάδα να ελέγχεται μεμονωμένα ενάντια σε συγκεκριμένους βιολογικούς δείκτες σε κάθε στάδιο της διαδικασίας κλασματοποίησης. Στο φως ενός ολοένα και αυξανόμενου

ενδιαφέροντος στα συστατικά της αλόης και των διαφόρων βιολογικών επιδράσεών τους, τέτοιες συστηματικές προσπάθειες φαίνονται να διαθέτουν υψηλές εγγυήσεις για το μέλλον.

### 10. Οι ρόλοι του μαλικού οξέος και των μαννάνων στην ανάλυση προϊόντων βάσης-αλόης

Υπάρχουν πολλοί διαφορετικοί τύποι προϊόντων που βασίζονται στην αλόη. Ένας κύριος τύπος είναι ο επικαλούμενος 'ζελέ της αλόης' ή 'ζελέ της Aloe vera', ένα παρασκεύασμα εξ' ολοκλήρου από τον χυμό της αλόης. Η διαδικασία παραγωγής του περιγράφηκε από τον Agarwala (1997). Ο χυμός, αφότου διαχωριστεί από το πράσινο μεσόφυλλο, πρώτα ομογενοποιείται. Το προκύπτον παρασκεύασμα τότε υποβάλλεται σύντομα σε παστερίωση για να μειωθεί το ιξώδες του και να επιτευχθεί απολύμανσή του. Σε μερικές περιπτώσεις αυτό ακολουθείται από κατεργασία με κυτταρίνη. Το παρασκεύασμα τότε αποχρωματοποιείται με ενεργό άνθρακα και φιλτράρεται για να προκύψει το τελικό προϊόν. Πρωτίστως χρησιμοποιείται για καλλυντικούς και θρεπτικούς σκοπούς, ενώ συχνά είναι η πρώτη ύλη για απομόνωση ενεργών συστατικών.

Υπάρχουν πολλές παράμετροι που έχουν χρησιμοποιηθεί και προσδιοριστεί στα προϊόντα που έχουν ως βάση την αλόη και ειδικά σε αυτά που περιέχουν μόνον τον χυμό όπως ο 'ζελέ της αλόης'. Αυτές οι παράμετροι είναι: το pH, το ασβέστιο, το μαγνήσιο, το μαλικό οξύ, τα ελευθέρα αμινοξέα, τα ελευθέρα σάκχαρα, τα ολικά στερεά, και το μέγεθος (μοριακό βάρος) και το βαθμός ακετυλίωσης των μαννάνων. Ανάμεσα σε όλα αυτά τα κριτήρια, το μαλικό οξύ και οι ακετυλιωμένες μαννάνες εμφανίζονται να είναι τα πιο σημαντικά και ειδικά, ιδιαίτερα για αναγνώριση του προϊόντος. Αυτό συμβαίνει αφού αυτά τα δύο συστατικά είναι κατά πολύ τα πιο χαρακτηριστικά ανάμεσα σε όλα τα συστατικά που έχουν προσδιοριστεί μέχρι τώρα.

#### ➤ Μαλικό οξύ

Η παρουσία του μαλικού οξέος είναι αποτέλεσμα του CAM που συμβαίνει στα φυτά. Το μαλικό οξύ χρησιμοποιείται σαν ένα κριτήριο ελέγχου για τον προσδιορισμό των προϊόντων αλόης και μπορεί να μετρηθεί με HPLC ή NMR. Για προϊόντα ολόκληρου χυμού ή υγρού ζελέ αναμένεται ένα συγκεκριμένο επίπεδο μαλικού οξέος. Ωστόσο, το μαλικό οξύ δεν είναι ένα βασικό και συγκεκριμένο κριτήριο αφού και άλλα εύχυμα φυτά παρουσιάζουν τον CAM ή διαθέτουν μαλικό οξύ. Πρέπει να σημειωθεί ότι εκτός του να είναι ένας συμπληρωματικός δείκτης για τις αλόες, το μαλικό οξύ δεν είναι γνωστό να κατέχει καμία συγκεκριμένη βιολογική δραστηριότητα.

#### ➤ Μαννάνες

Οι μαννάνες είναι οι πρωταρχικοί πολυσακχαρίτες που από τον υγρό ζελέ του χυμού. Είναι μία μερικώς ακετυλιωμένη β1→4 πολυμαννόζη που ενδέχεται να περιέχει και σημαντικό ποσό γλυκόζης. Η δομή της έχει περιγραφεί ήδη αναλυτικά. Παρόλο που οι δομικές λεπτομέρειες ποικίλουν ανάμεσα στις μαννάνες που προσδιορίστηκαν στα διάφορα είδη αλόης από διαφορετικούς ερευνητές, δύο δομικά χαρακτηριστικά διατηρούνται: η ακετυλίωση και οι β1→4 σύνδεσμοι. Έχει δειχθεί να συνδέεται με διάφορες βιολογικές δραστηριότητες όπως ανοσοδιέγερση, αντι-συμπληρωματικότητα, επούλωση πληγών και αντιφλεγμονώδης δράση. Είναι επίσης η βάση για την ιξώδη ή υδρογελική ιδιότητα του υγρού ζελέ που παρασκευάζεται από τον χυμό.

Οι μαννάνες είναι εγγενώς ασταθής και μπορεί πολύ εύκολα να υποβαθμιστεί. Η υποβάθμιση μπορεί να συμβεί από ένζυμα όπως οι μαννανάσες που μπορεί να είναι παρούσες στον χυμό, από υψηλή θερμοκρασία και pH, ή από βακτηριακή μόλυνση αφού τα βακτήρια είναι επίσης πηγές μαννανασών.

Σε μερικά προϊόντα αλόης η κατεργασία του χυμού γίνεται με κυτταρίνη. Τα παρασκευάσματα κυτταρίνης, εξαρτημένης της πηγής τους και της καθαρότητάς τους μπορούν επίσης να επιμολυνθούν με μαννανάσες γεγονός που θα οδηγήσει και στην υποβάθμιση των μαννάνων.

Ως εκ τούτου η παρουσία και η ακεραιότητα των μαννάνων είναι ένα καλό μέτρο ποιότητας του προϊόντος. Οι μαννάνες όταν εξάγονται από τον καθαρό ζελέ, γενικά έχουν ένα μοριακό βάρος άνω του  $10^6$  σε μετρήσεις με ανάλυση αποκλεισμού βασιζόμενη στην HPLC. Αυτό σημαίνει ότι η καθαρή μαννάνη είναι ένα πολύ μεγάλο μόριο. Οι Ross et al το 1997 βρήκαν μία μέθοδο ανάλυσης του μοριακού βάρους βασιζόμενη στην HPLC και η οποία είναι καλός και εύχρηστος δείκτης για την ποιότητα. Οι μαννάνες εκλούθησαν σε ένα ευρύ φάσμα κορυφών στα 5-7 min. Σε δείγματα που δεν ήταν καλά διατηρημένα ή ήταν κακώς επεξεργασμένα αυτή η περιοχή κορυφών ήταν απύσχα. Η μέθοδος αυτή εξάλλου επιτρέπει και μία ποσοτική εκτίμηση για το πόση μαννάνη είναι παρούσα στο προϊόν.

Ένας άλλος σημαντικός ρόλος για τις μαννάνες είναι η ταυτοποίηση του προϊόντος και η πρόληψη νόθευσής του. Υπάρχουν διάφορες διαθέσιμες μαννάνες με  $\beta 1 \rightarrow 4$  συνδέσμους (γαλακτομαννάνες, Κοηας μαννάνες και μαννάνες κατά ίνογ) αλλά δεν είναι ακετυλιωμένες. Ως εκ τούτου, οι Diehl και Teichmuller το 1998 χρησιμοποίησαν  $^1\text{H-NMR}$  για να προσδιορίσουν την ακετυλιωμένη μαννάνη σε προϊόντα αλόης. Αυτή η προσέγγιση επιτρέπει την ανίχνευση της ακετυλίωσης, ένα χαρακτηριστικό που είναι το χημικό αποτύπωμα των ακετυλιωμένων μαννάνων. Ωστόσο με την ανάλυση NMR δεν μετράται ένα σημαντικό χαρακτηριστικό της ακεραιότητας του μορίου, το μέγεθός του. Επιπροσθέτως, αυτή η τεχνολογία απαιτεί ακριβή συστήματα ανάλυσης. Επομένως, σαν εναλλακτική ανάλυση, περιγράφηκε από τους Ross et al το 1997, η ανάλυση αποκλεισμού μεγέθους σε συνδυασμό με την ανάλυση ακετυλίωσης με GC-MS. Δηλαδή, η κορυφή των μαννάνων συλλέγεται κατά την χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους και τότε υποβάλλεται σε σαπωνοποίηση και ανάλυση με GC-MS.

## 11. Σύνοψη

Ο χυμός της αλόης είναι πράγματι ένας μοναδικός φυτικός ιστός. Μία πλευρά της ανάλυσης είναι να καθιερωθεί μία βασική χημική σύσταση του χυμού. Μία άλλη πλευρά είναι η λεπτομερής ανάλυση των διάφορων συστατικών που είναι βιολογικά ενεργά. Ξεκάθαρα, το πρώτο ζήτημα δεν είναι ακόμη ώριμο. Αυτό είναι αποδεικτέο από την έλλειψη μίας συνεπούς προσέγγισης για τον αρχικό χυμό και την κατεργασία του και την αδυναμία υιοθέτησης τυποποιημένων μεθόδων. Οι περισσότερες περιγραφές στην διεθνή βιβλιογραφία είναι αόριστες σχετικά με: την έκταση ανάμειξης αμέσως μετά την συγκομιδή για να προκύψει ο αρχικός ακατέργαστος χυμός, το μέγεθος των πόρων του φίλτρου και η φυγόκεντρος δύναμη που εφαρμόζεται είναι σπανίως περιγραμμένη ή η χρήση της ποικίλει ανάμεσα στους διάφορους ερευνητές. Τέτοιες πληροφορίες είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη προϊόντος και την ταυτοποίησή του και ειδικότερα για μία αρμόζουσα εφαρμογή τεχνικών κατεργασίας. Ελπίζεται μακροπρόθεσμα, να επιτευχθεί μία συμφωνία πάνω στις μεθόδους ανάλυσης του χυμού που θα παράγεται, ενώ πολλές από τις αναλυτικές μεθόδους μπορούν να τυποποιηθούν μαζί με την ακριβή και κατανοητή χημική σύσταση του χυμού. Σχετικά με την ταυτοποίηση και ανάλυση μεμονωμένων συστατικών, θα ήταν πολύ βοηθητικό να δοθεί έμφαση στην συσχέτιση δομής-λειτουργιών στο φως του αυξανόμενου αριθμού των βιολογικών δραστηριοτήτων που αποδίδονται στον χυμό.



## Κεφάλαιο 4

Ε.Μ.Π. 2011

## Περιεχόμενα κεφαλαίου 4

1. Εισαγωγή
  - ✦ Κατεργασία της *Aloe barbadensis* Miller και έλεγχος ποιότητας
  - ✦ Η ατελείωτη μάχη του μανάτζμεντ vs παραγωγής/ ελέγχου ποιότητας
  - ✦ Τι καλούμε εκχύλισμα της *Aloe barbadensis*;
  - ✦ Οι IASC και Texas A&M μελέτες
  - ✦ Το Ίδρυμα Ερευνών Αλόης και η βιολογική δραστηριότητα
  - ✦ Η σύνθεση συμφωνητικού για την σύσταση του ζελέ της *Aloe barbadensis*
2. Η κατεργασία της *Aloe barbadensis* Miller -μέρος 1<sup>ο</sup>
  - ✦ Περίληψη
  - ✦ Οι Απάτες στην βιομηχανία "Αλόης"
3. Η Αγρονομία της Αλόης
  - ✦ Νερό, άζωτο και pH εδάφους
  - ✦ Χωροταξία και Συγκομιδή φυτών
4. Η μικροβιολογία της Αλόης
  - ✦ Οργανισμοί σχετιζόμενοι με την αλόη και η βιομηχανική τους σημασία- *Micrococcus* sp.
  - ✦ Άλλοι σχετιζόμενοι με την αλόη οργανισμοί
5. Η κατεργασία της *Aloe barbadensis* Miller –μέρος 2<sup>ο</sup>
  - ✦ Προκαταρκτική Κατεργασία – καθαρισμός, εξαγωγή και απολύμανση
    - Πλύσιμο των φύλλων
    - Φιλετάρισμα και Αποχύμωση
    - Τεμαχισμός, Άλεση και Εκχυλίσματα Ολόκληρου φύλλου
  - ✦ Ενδιάμεση Κατεργασία-περί Βακτηρίων και Επιμολύνσεων
  - ✦ Τελική κατεργασία- συμπύκνωση και ξήρανση
    - Συμπύκνωση του ζελέ της αλόης
      - ✦ Η οσμωτική αφυδάτωση της *Aloe barbadensis* Miller
      - ✦ Η ξήρανση υπό κατάψυξη ή λυοφιλίωση της αλόης
      - ✦ Η ξήρανση υπό ψεκασμό του ζελέ της αλόης
6. Το προϊόν
  - ✦ Συσχετίσεις της βακτηριολογίας με την υπερβολική επεξεργασία- οργανοληπτικά χαρακτηριστικά

## ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑ & ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ *Aloe barbadensis Miller*

### 1. Εισαγωγή

#### ■ Κατεργασία της *Aloe barbadensis Miller* και έλεγχος ποιότητας

Τα εκχυλίσματα της *Aloe barbadensis Miller* και ειδικότερα ο ζελές της, είναι ευρύτερα αποδεκτά σε παγκόσμια βάση σαν πρώτιστα συστατικά σε κάθε χώρα για θεραπευτικά δέρματος και τελικά καλλυντικά. Αυτό γίνεται λόγω του ότι η *Aloe barbadensis Miller* έχει πολύ πιο αποδοτικό ρυθμό επαναφοράς των κυττάρων του δέρματος από περιβαλλοντικά τραύματα και αυτό είναι καλώς τεκμηριωμένο. Οι *Aloe barbadensis Miller* και *Aloe arborescens Miller* –ως εκχυλίσματα- έχουν χρησιμοποιηθεί δια στοματικής κοιλότητας για διάφορους λόγους. Αυτή η ζήτηση έχει ως συνέπεια μια αυξανόμενη παγκόσμια ζήτηση πάνω από 100.000.000 λίτρα ( $10^8$  L) τον χρόνο του ακατέργαστου ομογενοποιημένου του χυμού και του φιλτραρισμένου ζελέ, όπως έχει εκτιμηθεί από το Διεθνές Συμβούλιο Επιστήμης για την Αλόη- (International Aloe Science Council-IASC). Για να έχουμε μια εικόνα για αυτήν την ποσότητα κάποιος μπορεί να φανταστεί 5.000 φορτηγά τύπου τάνκερ, το καθένα με χωρητικότητα 20.000 λίτρων, και να έχουν δημιουργήσει μια τεράστια ουρά κατά μήκος μιας μεγάλης πόλης. Ακόμη, παρόλο του όγκου της παραγωγής οι περισσότεροι προμηθευτές αλόης εξακολουθούν να κατεργάζονται την αλόη:

- χωρίς μια στοιχειώδη κατανόηση για το τι είναι η αλόη,
- δίχως να κατανοούν τα ωφέλιμα και βλαπτικά χαρακτηριστικά των διάφορων μεθόδων κατεργασίας και
- χρησιμοποιώντας μεθόδους ελέγχου ποιότητας που κυμαίνονται από λανθασμένες ή ανεπαρκείς έως τραγικά ψευδείς και απατηλές.

Συγκρινόμενη με την βιομηχανία γαλακτοκομικών ή τις βιομηχανίες χυμού πορτοκαλιού, βρισκόμαστε μπροστά σε μία έλλειψη:

- κάποιων επιπέδων ελέγχου των χημικών συστατικών,
- ομοιομορφίας των μεθόδων κατεργασίας,
- επαρκούς μικροβιολογίας και
- δυναμικής ρύθμισης-νομοθέτησης.

Λόγω αυτού θα μπορούσαμε να είμαστε και να παραμείνουμε, μια διαρκώς μειούμενη βιομηχανία αντιμετωπίζοντας μια ολοένα και φθίνουσα καταναλωτική εμπιστοσύνη και λόγω της πλειονότητας αποτυχίας των προϊόντων να εκτελέσουν τα ιδανικά χαρακτηριστικά που στην ουσία καταστρέφονται από ανεπαρκείς κατεργασίες ή ξεκάθαρες απάτες. Δοθέντος του προηγούμενου σκηνηκού, ποιος πιστεύετε είναι ο σκοπός αυτού του κεφαλαίου-αναφοράς; Το πρώτο μας κοινό είναι όχι πάνω από 100 με 200 ανθρώπους. Αυτοί είναι οι υπάλληλοι, οι σχετικοί με την κατεργασία της αλόης συμπεριλαμβανομένων και των διαχειριστών-μάντζερ- των πωλήσεων και του μάρκετινγκ, των τεχνικών υπηρεσιών και επίσης οι παραγωγοί της ίδιας της αλόης ως γεωργικό φυτό ή ως προϊόν γραμμής κατεργασίας και του ελέγχου ποιότητας. Αυτοί είναι οι άνθρωποι που έχουν άμεσα "χέρια" με την αλόη. Το ερώτημα που τίθεται είναι το εξής: θα μπορέσουμε γενικότερα-και ειδικότερα στο πλαίσιο αυτής της διπλωματικής- να τους επηρεάσουμε τόσο με τα δεδομένα μας, όσο και με την επιστημονική αιτιολόγηση, έτσι ώστε να υιοθετήσουν μια επαρκή κατεργασία και εξονυχιστικό έλεγχο ποιότητας; Το δεύτερο κοινό είναι ακόμη μεγαλύτερο, οι ερευνητές της αλόης και οι αγοραστές της, είτε οι τελευταίοι αγοράζουν από αντιπροσώπους

μεγάλων σωματείων-και αποτελούν εργοστάσια τελικής ή μεσαίας παραγωγής-, είτε τελικοί καταναλωτές. Αυτό το κοινό έχει λίγη ή και καθόλου εμπειρία στα θέματα πραγματικής ανάπτυξης στον αγρό της *Aloe barbadensis* Miller και πρέπει γενικά να εξαρτάται από τα υλικά που παρέχονται από άλλους, Σκοπός λοιπόν είναι να δοθεί στο κοινό η εκτίμηση του τι είναι ένας αυθεντικός ζελές αλόης, ποιες είναι οι ιδιότητές του και ποιες είναι οι βιολογικές δραστηριότητές που αναμένονται από ένα δοθέν παρασκεύασμα.

#### ■ Η ατελείωτη μάχη του μάνατζμεντ vs παραγωγής/ ελέγχου ποιότητας

Πολλοί απ' αυτούς που δουλεύουν στην βιομηχανία αλόης, σε επιχειρήσεις που παράγουν stocks παροχής αλόης συχνά βλέπουν την ύπαρξη τους σαν διαμάχη ανάμεσα σε αυτούς που πραγματικά παράγουν το προϊόν και σε εκείνους που επιβλέπουν την επιχείρηση. Αυτοί που παράγουν το προϊόν συνήθως προσπαθούν να δημιουργήσουν ένα υλικό ανώτερης ποιότητας, ενώ οι διαχειριστές είναι συνεχώς απασχολημένοι με τα κέρδη. Αυτοί που είναι υπεύθυνοι για να κρατούν την επιχείρηση εν ζωή είναι ενωμένοι σε δύο ξεχωριστές ομάδες, απ' την μια τα τμήματα πωλήσεων και μάρκετινγκ και απ' την άλλη τα τμήματα οικονομικών και παραγωγής.

Εάν η παραγωγή και ο έλεγχος ποιότητας είναι εκτενώς ασθενείς στις πιέσεις ενός τμήματος διαχείρισης μη οικείου με την επιστήμη και την τεχνολογία, τότε μια μεγάλη ποσότητα κατώτερης ποιότητας αλόη θα πωληθεί σε μειωμένη τιμή. Αυτή η εταιρεία θα αναλάβει μεγάλο μερίδιο στην καθαρή αγορά αλόης λόγω του ότι μπορεί να πουλάει σε αφθονία έναν χυμό χαμηλής τιμής. Αυτές οι πωλήσεις συμβαίνουν σε ό,τι είναι γενικότερα γνωστό σαν μια "σφιχτή", δηλαδή κλειστή αγορά, για υψηλής ποιότητας αλόη και στην οποία οι παράμετροι για την ποιότητα είναι κακώς ορισμένες. Οι παραγωγοί καταναλωτικού προϊόντος θα συσσωρεύουν stocks με μολυσμένες ή χαμηλής ποιότητας πρώτες ύλες και θα παράγουν ένα τελικό προϊόν κατώτερο, λόγω της απουσίας καλών αναλυτικών ελέγχων για υψηλής ποιότητας stocks παροχής. Τα περιεχόμενα αλόης προϊόντα αρχικά έχουν καλές πωλήσεις λόγω της αναγνώρισης των καταναλωτών της ταμπέλας προϊόντος «με *Aloe vera*». Ωστόσο, η αντίσταση των καταναλωτών προοδευτικά θα αναπτυχθεί λόγω μειωμένης αποτελεσματικότητας προϊόντος καθότι: «η υποβαθμισμένη ή απατηλή αλόη δεν θα δουλεύει!». Ο κατασκευαστής του προϊόντος τότε αναζητεί έναν άλλο παροχέα stock προϊόντος. Αυτός ο τρόπος παραγωγής είναι γνωστός σαν «milking»-λόγω του ότι και οι βιομηχανίες γάλακτος αλλάζουν προμηθευτές σαν τα stock δεν είναι αξιόπιστα-, και χρησιμοποιείται από την διαχείριση των βιομηχανιών αλόης. Ο τελευταίος τρόπος παραγωγής αποτελεί τον λεγόμενο κύκλο αγοράς της «Νέας Εταιρείας Αλόης», ο οποίος και έχει παρατηρηθεί σε πολλές περιπτώσεις. Στην σύγχρονη εποχή η μόνη διαφυγή απ' αυτόν τον κύκλο είναι η πολυεπίπεδη κατευθυνόμενη αλυσίδα εταιρειών μάρκετινγκ που έχουν ενσωματωθεί στην παραγωγή αλόης με την παρασκευή και μαρκάρισμα των καταναλωτικών προϊόντων. Χαρακτηρίζονται από περιορισμένη παραγωγή και απαιτούν υψηλές τιμές.

Στην πραγματικότητα, η διαχείριση και η παραγωγή-έλεγχος ποιότητας δεν μπορούν να παραμείνουν σε διαμάχες ένα η εταιρεία θέλει να ευδοκιμήσει ή ακόμη και να επιβιώσει. Η επιβίωση είναι εξαρτημένη από την διαχείριση στο να καταστεί γνωστή της επιστήμης της αλόης, ενώ η παραγωγή και ο έλεγχος ποιότητας είναι υποχρεωμένοι να μπορούν να παράγουν ένα προϊόν υποτυπώδους ποιότητας και σε εύλογο χρονοδιάγραμμα. Σε αυτό το κεφάλαιο λοιπόν θα επιχειρηθεί να δοθούν οι γενικές αρχές για την παραγωγή stock παροχών αλόης με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά ποιότητας. Διάφορες λεπτομέρειες ωστόσο οφείλονται στις διαφορές στο χώμα, στις διαφορετικές ανά περιοχή κλιματικές συνθήκες και στο ότι κάθε φυτό αλόης έχει διαφορετικά μικροβιακά χαρακτηριστικά με επιπρόσθετη διαφοροποίηση στις διαφορετικές γραμμές παραγωγής προϊόντων ανά επιχείρηση.

#### ■ Τι καλούμε εκχύλισμα της *Aloe barbadensis*;

Είκοσι χρόνια πριν, το μόνο μεγάλο πρόβλημα που αντιμετώπιζε η βιομηχανία αλόης ήταν ότι κανένας δεν μπορούσε να ορίσει με φυσικούς και χημικούς όρους το τι ήταν στην πραγματικότητα ο ζελές της *Aloe barbadensis*. Εάν δεν ξέρει κανείς, ή δεν μπορεί να συμφωνήσει πάνω στην χημική σύσταση της σ που παράγει, είναι αδύνατο να μετρηθεί, ή να τεθούν όρια ποιότητας κατά Six Sigma και επομένως να παράγει ένα προϊόν αλόης. Εν συνεχεία, χωρίς έναν σχεδιασμένο ορισμό της αλόης, ανήθικες εταιρείες μπορούν και παρέχουν, σχεδόν το στιδμήποτε σαν αλόη καταστρατηγώντας κάθε νόμιμο μέσο. Αυτό το δίλημμα μερικώς επιλύθηκε από δύο συνεργαζόμενα και συσχετιζόμενα προγράμματα από τις αρχές έως τα μέσα του 1990. Το πρώτο ήταν η Γεωργική Μελέτη του IASC και το δεύτερο το Standard Sample πρόγραμμα του ARF –Aloe Research Foundation-.

#### ✦ Οι IASC και Texas A&M μελέτες

Το IASC που ιδρύθηκε το 1981, είναι μία ομάδα εμπορίου για την βιομηχανία της αλόης και περιλαμβάνει όλους τους κύριους παραγωγούς παροχών αλόης, καθώς και τις περισσότερες εταιρείες που εμπορεύονται την αλόη κατευθείαν στους καταναλωτές. Το 1983 ο IASC προέβη στην σύσταση ενός προγράμματος ελέγχου ποιότητας για τα μέλη του, το οποίο κατέληξε σε πιστοποίηση του προϊόντος της αλόης σαν αυθεντικός ζελές αλόης. Ωστόσο, μία από τις πολλές επικρίσεις του προγράμματος πιστοποίησης του IASC ήταν ότι η βάση δεδομένων του ήταν βασισμένη σε παλαιότερες αναλύσεις του ζελέ της αλόης και αναπαριστούσε μόνο έναν μικρό αριθμό από δείγματα.

Για την ενδυνάμωση αυτού του προγράμματος πιστοποίησης, ο IASC ανέθεσε μια πολυετή μελέτη στο Τμήμα Γεωργικών Επιστημών του πανεπιστημίου του Texas A&M, Σταθμό Πειραμάτων Γεωργίας στο Weslaco Texas. Αυτό το πρόγραμμα, με κεφαλή τον Yin-Tung Wang, σκόπευε να προσδιορίσει το περιεχόμενο και την διακύμανση στον χρόνο των κύριων χημικών συστατικών στην *Aloe barbadensis*. Το πρόγραμμα που έγινε γνωστό σαν μελέτη του Texas A&M, αρχικά μελέτησε φύλλα από τέσσερα εμπορικά φυτώρια στην κοιλάδα του Rio Grande του Τέξας και τελικά πάνω από 500 δείγματα αναλύθηκαν. Η τελική δημοσιευμένη βάση δεδομένων αποτελείτο από 336 δείγματα (112 εβδομαδιαία από τρία φυτώρια), που αναλύθηκαν για 12 παραμέτρους. Μερικές από τις αναλύσεις ήταν για γενικούς δείκτες όπως το βάρος του φύλλου, το περιεχόμενο στερεών, το περιεχόμενο σε χυμό και το περιεχόμενο σε σάκχαρα (πίνακας 1).

**Πίνακας 1.** Τα χαρακτηριστικά των φρέσκων φύλλων της *Aloe barbadensis* από τρεις παραγωγούς ως μέσος για 112 εβδομάδες

Παραγωγός	Βάρος φύλλου (g)	pH	Διαλυτά στερεά (%)	Χυμός (%)	Αναγωγικά σάκχαρα (mg/liter)
1	705±10	4,53+0,01	0,57±0,01	0,12±0,01	1466±87
2	775±7	4,56+0,01	0,62±0,01	0,11±0,01	2391±97
3	465±8	4,57+0,01	0,56±0,01	0,09±0,01	1713±98

Μερικές από αυτές τις παραμέτρους είναι σημαντικές σαν παράμετροι πιστοποίησης. Για παράδειγμα, ο IASC έχει αποφασίσει ότι η τιμή των διαλυτών στερεών είναι σημαντικός δείκτης ότι ο εκάστοτε ζελές που μελετάται είναι συνεπής με τον αυθεντικό ζελέ της *Aloe barbadensis*, γιατί χαμηλές τιμές στερεών προτείνουν νόθευση με αραίωση. Άλλες παράμετροι, όπως το βάρος του φύλλου, το pH και τα αναγωγικά σάκχαρα, είναι χρήσιμα για την επόπτευση της αγρονομίας και εξερεύνηση της φυσιολογίας του φυτού. Τα μεταλλικά κατιόντα  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  και  $\text{Mg}^{++}$  θεωρούνται να είναι αναλυτικές παράμετροι κλειδιά λόγω της σταθερότητάς τους σε φυσική/ χημική/ βιολογική υποβάθμιση, της σταθερότητάς τους κατά την επεξεργασία και την διαθεσιμότητά πρότυπων μεθόδων για τον προσδιορισμό τους. Ως εκ τούτου, από πολύ νωρίς, το ασβέστιο και το μαγνήσιο

έγιναν δείκτες πιστοποίησης του IASC. Το νάτριο και το κάλιο προστέθηκαν στην μελέτη του Texas A&M, επειδή ήταν τα εναπομείναντα κύρια μεταλλικά κατιόντα (πίνακας 2).

**Πίνακας 2.** Συγκέντρωση μεταλλικών στον φρέσκο ζελέ της *Aloe barbadensis* από τρεις παραγωγούς ως μέσος για 112 εβδομάδες

Συγκέντρωση μεταλλικών (mg/liter)				
Παραγωγός	Κάλιο	Νάτριο	Ασβέστιο	Μαγνήσιο
1	370±14	195±7	331±10	52±2
2	313±11	182±5	348±7	60±1
3	450±12	181±7	260±10	54±2

Επίσης, στην μελέτη του Texas A&M, μετρήθηκε και ένα οργανικό οξύ αναφερόμενο και ως «κορυφή Ε» και προτάθηκε από τον Wang να είναι το μαλικό οξύ. Το μαλικό οξύ έχει μια πολύ αποτελεσματική πιστοποίηση λόγω:

- i. υποβαθμίστηκε εύκολα με βακτήρια που σχετίζονται με την αλόη και ως εκ τούτου ήταν ένας τέλειος δείκτης για την φρεσκάδα του προϊόντος και
- ii. από την στιγμή που η δομή της κορυφής Ε δεν ήταν ευρύτερα σε κυκλοφορία, λειτούργησε σαν μέθοδος για εντοπισμό απάτης.

Η βάση δεδομένων του Wang πρέπει να είναι η βάση για την εικονική ερμηνεία όλων των μελετών των εμπορικών πλευρών της *Aloe barbadensis*. Οι γενικές εικόνες της αγρονομίας, διεργασιών και απάτης στην χημεία της αλόης είναι μέχρι τώρα βασισμένες στην προαναφερθείσα βάση δεδομένων. Η μελέτη του Texas A&M δημιουργεί την βάση για τις τρέχουσες παραμέτρους του IASC που παρουσιάζονται στον πίνακα 3.

**Πίνακας 3.** Φυσικές και Χημικές Τιμές για τον πιστοποιημένο ζελέ της *Aloe barbadensis*

Εξέταση	Μέσος	Αποδεκτό εύρος
Στερεά (105°C μη πτητικά)	0,83 g/dl	0,46 με 1,31 g/dl
Ασβέστιο	241 mg/l	98 με 448 mg/l
Μαγνήσιο	58 mg/l	23 με 118 mg/l
Μαλικό οξύ	2,029 mg/l	818 με 3427 mg/l
Πολυσακχαρίτες	-	Παρόντες, αλλά με μη τελικά συμφωνηθείσες τιμές

#### ✚ Το Ίδρυμα Ερευνών Αλόης και η βιολογική δραστηριότητα

Κατά την διάρκεια την ίδιας περιόδου 1991-1993, ένα άλλο σύνολο από πρότυπα θεμελιώθηκαν από το Ίδρυμα Ερευνών Αλόης –Aloe Research Foundation ή ARF-. Τα πρότυπα κατά IASC έθεταν ερωτήματα για την φυσική και χημική ταυτότητα του ζελέ της *Aloe barbadensis*, αλλά δεν άγγιζαν την βιολογική του δραστηριότητα. Αυτό έχρηζε το ARF πρόγραμμα. Το ARF συστάθηκε από μία εκ των κυριότερων κάθετα ολοκληρωμένων εταιρειών στην βιομηχανία αλόης για την υποστήριξη της βιολογικής έρευνας στα *Aloe sp.* Στην μικροοικονομία και μάνατζμεντ, ο όρος κάθετα ολοκληρωμένη εταιρεία περιγράφει τον τρόπο του ελέγχου διαχείρισης. Κάθετα ολοκληρωμένες εταιρείες σε μία αλυσίδα παροχών είναι ενωμένες κάτω από τον ίδιο κάτοχο. Συνήθως κάθε μέλος της αλυσίδας παροχών παράγει ένα διαφορετικό προϊόν ή υπηρεσία και τα προϊόντα ικανοποιούν την ίδια κοινή ανάγκη. Η κάθετη ολοκλήρωση είναι μία μέθοδος για να αποφευχθεί το λεγόμενο «πρόβλημα ομηρίας-*hold-up problem*», δηλαδή τη μη συνεργασία δύο μερών –όπως παροχέας και κατασκευαστής- λόγω κινδύνου αυξημένης διαπραγματευτικής δύναμης από το ένα μέρος και ως

εκ τούτου μειώνονται τα οφέλη τους. Ήταν ποθητό ότι οι άλλες εταιρείες στην βιομηχανία θα μπορούσαν να προσελκυσθούν για να υποστηρίξουν αυτήν την μεγάλη έρευνα ποιότητας, η οποία προς μεγάλο κρίμα, ποτέ δεν πραγματοποιήθηκε. Μόλις από την αρχή αποφασίστηκε ότι κύριοι παράγοντες κρατούσαν όμηρο την έρευνα στα *Aloe sp.* έγιναν γνωστοί. Αυτοί ήταν:

- i. η έλλειψη προτυποποιημένων βιολογικά ενεργών υλικών και
- ii. μολυσμένες προτυποποιημένες μελέτες για την δραστηριότητα της αλόης.

Αυτοί οι παράγοντες οδηγούν στην παραγωγή των Προτύπων Δειγμάτων κατά ARF (πίνακας 4), και στην ανάλυσή τους μέσω της Εσωτερικής Πανεπιστημιακής Συνεργιστικής Μελέτης. Το κλειδί για τα πρότυπα δείγματα κατά ARF ήταν η σχολαστική κατεργασία και η ξήρανση υπό κατάψυξη του καθαρού χυμού αλόης.

Τέτοια υλικά είχαν έναν αριθμό από βιολογικές δραστηριότητες και η κλασματοποίηση και χαρακτηρισμός τους κατέβαλε πολλά από την βιοχημική έρευνα της *Aloe barbadensis* κατά την διάρκεια του δεύτερου μισού της δεκαετίας του 1990. Αυτά τα υλικά παράχθηκαν κατά την **Διεργασία Α** που αποτελείται από τα εξής βήματα:

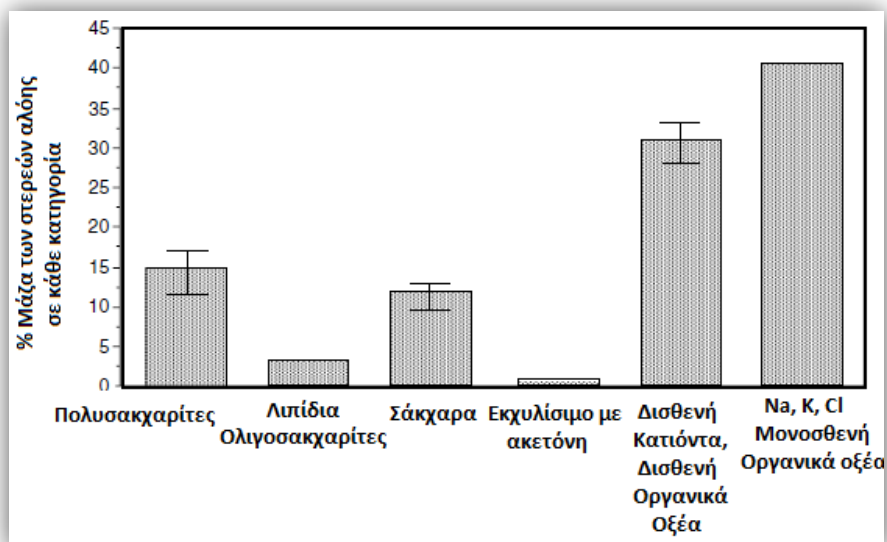
- i. τα φύλλα συλλέγονται και μετά από μία ή το πολύ δύο ώρες τοποθετούνται σε νερό αποστείρωσης και ξεπλένονται,
- ii. το φιλετάρισμα γίνεται με τα χέρια ή μηχανικά, με την ύψιστη προσοχή να απομακρυνθούν οι ανθρακινόνες και το πλούσιο σε αυτές μεσόφυλλο,
- iii. τα φιλέτα αλέθονται χονδροκομμένα και ο προκύπτον χυμός διέρχεται μέσα από ένα φίλτρο με ανοίγματα 250 μm και
- iv. ακολουθεί άμεσα λυοφιλίωση του αποχυμωμένου ζελέ, δίχως καμία συμπύκνωση ή επιπλέον κατεργασία.

Αυτές οι απαιτήσεις σημαίνουν ότι η Διεργασία Α του ζελέ προσεγγίζει την πιο κοντινά πιθανή παρασκευή φρέσκου ζελέ όπως λαμβάνεται από το φυτό. Δυστυχώς ο καθαρός ζελέ δεν μπορεί να είναι ποτέ εμπορικά ορατός από καταναλωτές λόγω του ότι είναι εξαιρετικά ψευδοπλαστικός και έχει μικρό περιεχόμενο στερεών. Από την στιγμή που αυτό το σύστημα καθιερώθηκε το 1995, το ARF δεν θα μπορούσε να διατηρεί ένα χαμηλό προφίλ.

#### ✚ Η σύνθεση συμφωνητικού για την σύσταση του ζελέ της *Aloe barbadensis*

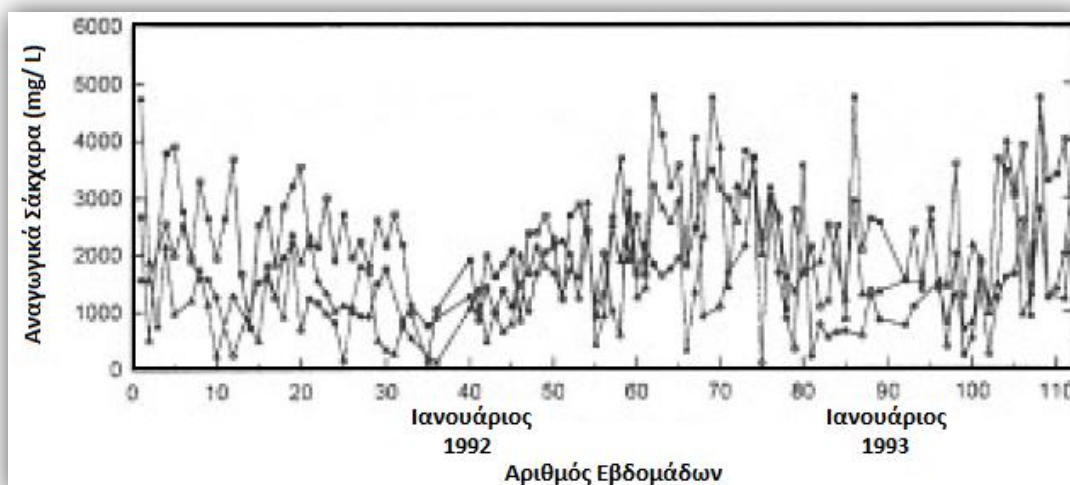
Εάν συνδυάσουμε την βάση δεδομένων του IASC Texas A&M και το πρόγραμμα Πρότυπων Δειγμάτων της **Διεργασίας Α** του ARF, η ακόλουθη σύσταση του ζελέ της αλόης μπορεί να παρατηρηθεί (εικόνα 1).

Οι κατηγορίες που χρησιμοποιούνται για να κατηγοριοποιηθεί η σύσταση της ύλης είναι αυθαίρετα επιλεγμένη, και βασίζονται πάνω σε φυσικές ιδιότητες των χημικών συστατικών, που επηρεάζουν την συμπεριφορά τους κατά την διάρκεια της κατεργασίας, τις φυσικό-χημικές τάξεις τους που αποκαλύπτονται με κλασματοποίηση και τις βιολογικές ιδιότητες που βρίσκονται κατά την Εσωτερική Πανεπιστημιακή Συνεργιστική Μελέτη του ARF. Το σχήμα, αν και αυθαίρετο διαχωρίζει σχεδόν τις διάφορες βιολογικές δραστηριότητες και οι συνολικές αξίες είναι σε συμφωνία με τα ημιποσοτικά αποτελέσματα του Waller et al (1978). Τα τυπικά λάθη που υποδεικνύονται στην εικόνα 1, βρίσκονται σε αξιοσημείωτη συμφωνία ανάμεσα στην Μελέτη Πρότυπου Δείγματος του ARF με την μελέτη του Texas A&M που συζητήθηκε παρακάτω.



**Εικόνα 1.** Η συμφωνική σύσταση της ύλης του ζελέ της *Aloe barbadensis* στην ανεπεξέργαστη κατάσταση.

Τα στερεά στον ζελέ της *Aloe barbadensis* είναι περίπου 25% ολικοί υδατάνθρακες, αποτελούμενοι από 11% μονοσακχαρίτες (95% γλυκόζη και 5% φρουκτόζη), 14% πολυσακχαρίτες και 1% ολιγοσακχαρίτες. Οι μονοσακχαρίτες (εικόνα 1) αποτελούνται από άνω του 95% σε δραστηριότητα αναγωγής των σακχάρων. Οι Wang και Strong (1995) έδειξαν (εικόνα 2) ότι η το περιεχόμενο σε αναγωγικά σάκχαρα ποικίλει σε μεγάλο βαθμό από περιοχή σε περιοχή και μέσα στον χρόνο. Τα αναγωγικά σάκχαρα σε αυτήν την μελέτη κυμάνθηκαν από 1466 (0,15%) σε 2391 mg/ L (0.24%) από φάρμα σε φάρμα κατά την διάρκεια των δύο χρόνων. Η συγκέντρωση των αναγωγικών σακχάρων παρουσίασε έναν αξιοσημείωτο κυματισμό με την εποχή, ανεξαρτήτου σημείου παραγωγής, και μειώθηκε κατά την διάρκεια των χειμερινών μηνών του 1991 (εικόνα 2). Ως εκ τούτου, η συγκέντρωση των συνολικών αναγωγικών σακχάρων μπορεί να μην είναι ένας αξιόπιστος δείκτης για τον προσδιορισμό του σε ένα προϊόν αλός.

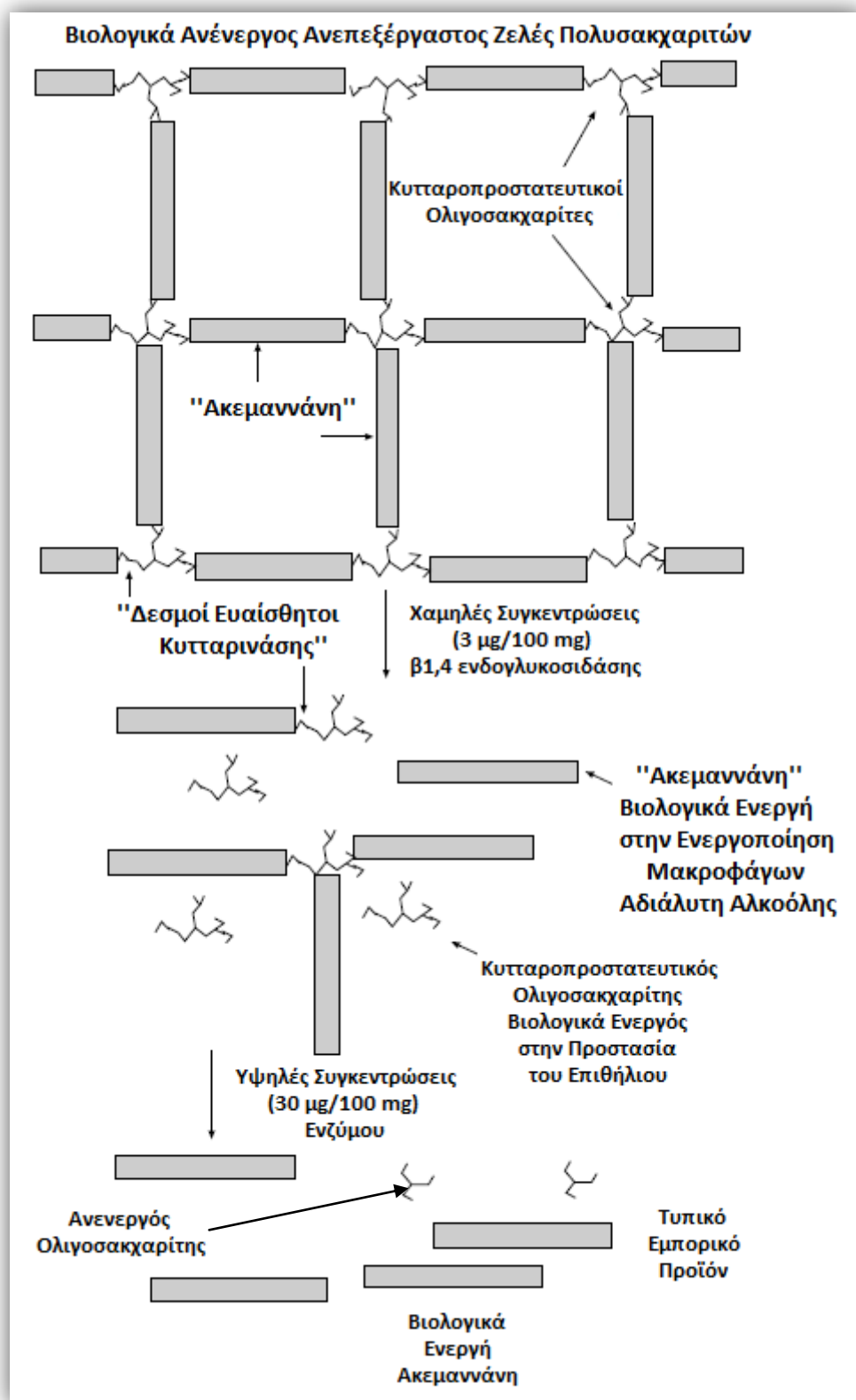


**Εικόνα 2.** Εποχιακή και εβδομαδιαία διακύμανση του περιεχομένου αναγωγικών σακχάρων του ζελέ της *Aloe barbadensis* (Wang and Strong, 1995)



- Ο κύριος πολυσακχαρίτης της *Aloe barbadensis* είναι ένα συμπολυμερές (Strickland et al, 1998). Στην καθαρή κατάστασή του αυτός ο πολυσακχαρίτης είναι τόσο μεγάλος που είναι σχεδόν αδιάλυτος. Ο καθαρός πολυσακχαρίτης αποτελείται από ευθύγραμμες εκτάσεις ακετυλιωμένης μαννάνης που ενεργοποιεί τα μακροφάγα, διασταυρωμένη με έναν κυτταροπροστατευτικό ολιγοσακχαρίτη που επιταχύνει την επαναφορά από ένα φυσικό τραύμα των επιθηλιακών κυττάρων (εικόνα 3). Επιπλέον του καθαρού, κύριου πολυσακχαρίτη υπάρχουν και γαλακτάνες (Mandal & Das, 1980b) και πηκτίνες (Mandal et al, 1983). Αυτά είναι σχετικά μικρής σημασίας συστατικά σε ανεπεξέργαστο ζελέ, αλλά μπορεί να είναι κυρίαρχοι πολυσακχαρίτες όταν μια ανάρμοστη κατεργασία με κυτταρινάση καταστρέφει διαδοχικά όλες τις β1→4 γλυκομαννάνες (Pelley et al, 1998).
- Σχεδόν το 1-3% των στερεών αποτελείται από διαλυτά στην αλκοόλη μόρια που είναι ανήμπορα να περάσουν μια μεμβράνη οξικής κυτταρίνης με μέγιστο επιτρεπτό μοριακό βάρος ίσο με 5.000 daltons. Αυτά τα υλικά περιέχουν δύο τάξεις μορίων με δύο διαφορετικές και αντιτιθέμενες βιολογικές δραστηριότητες. Πρώτα βρίσκονται οι λιποφιλικόι ελεύθεροι γλυκοζιτικοί εστέρες των ανθρακινονών και των χρωμονών, μερικά εκ των οποίων είναι αντιφλεγμονώδη. Δεύτερον, υπάρχουν επίσης ολιγοσακχαρίτες εμπειριεχόμενων και των κυτταροπροστατευτικών ολιγοσακχαριτών (εικόνα 3) των Strickland et al (1998). Οι κυτταροπροστατευτικοί ολιγοσακχαρίτες είναι παρόντες μόνον όταν ο ζελέ έχει κατεργαστεί κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες.
- Μία τρίτη κατηγορία, εκχυλιζόμενων με ακετόνη από την λυοφιλίωση του ζελέ της Διεργασίας Α, συνήθως αποτελεί το 1% των στερεών του ζελέ της αλόης. Αποτελείται από συστατικά όπως ανθρακινόνες και χρωμόνες και γλυκοζίτες που είναι εύκολα διαλυτά σε ακετόνη ή χλωροφόρμιο αλλά αρκετά υδροφιλικά έτσι ώστε να περάσουν από μία μεμβράνη οξικής κυτταρίνης. Αυτά τα μόρια αναπτύσσονται στο αντίστοιχο κεφάλαιο με την χημική ανάλυση της αλόης. Οι τριϋδροξύ και τετραϋδροξύ κυκλικές αγλυκόνες των ανθρακινονών και οι C-γλυκοζίτες των ανθρονών, και οι συχνά εστεροποιημένες ετεροκυκλικές δικυκλικές χρωμόνες, ήταν το επίκεντρο της χημείας της αλόης για πάνω από 100 χρόνια. Ανάμεσα στα 30 και πλέον συστατικά της ομάδας βρίσκονται πολλά βιολογικά ενεργά συστατικά και άλλα που προκαλούν την αλλαγή του χρώματος στις εμπορικές αλόες.

Τέλος, σχεδόν το 75% της μάζας των στερεών του ζελέ της αλόης αποτελούνται από μονοσθενή και δισθενή μεταλλικά κατιόντα, οργανικά οξέα και χλώριο. Όντως συνιστούν το μεγαλύτερο περιεχόμενο των στερεών που περιέχονται στον ζελέ, και υφίστανται λίγες αλλαγές κατά την διάρκεια της εμπορικής κατεργασίας ενώ σχηματίζουν την βάση για το πρόγραμμα πιστοποίησης του IASC. Ανάμεσα σε αυτούς τους δείκτες είναι το μαλικό οξύ, πρότερα γνωστό σαν κορυφή E, το οποίο όταν συμπλοκοποιείται με ασβέστιο μπορεί να αποτελέσει το 60% του ολικού κλάσματος που κατακρημνίζεται με αλκοόλη που περιέχει δισθενή κατιόντα και οργανικά οξέα –divalent-organic acids-. Το μαλικό οξύ αποτελεί έναν σημαντικό δείκτη της φρεσκότητας του ζελέ της αλόης. Αυτό οφείλεται στο ότι το μαλικό οξύ αφομοιώνεται από συγκεκριμένα κρυσταλλικά Gram (-) ραβδόμορφα ή θερμοφιλικά Gram (+) κοκκία και βακίλους συνήθως συσχετιζόμενους με την , που τείνουν να προκαλούν βακτηριακή μόλυνση των εμπορικών αλόων. Από την ή υποβαθμισμένο μαλικό οξύ σε αυθεντικές αλόες υποδεικνύει ότι υπήρξε εκτεταμένη βακτηριακή ανάπτυξη σε κάποιο στάδιο της κατεργασίας. Η απουσία μαλικού οξέος και πολύ μειωμένα επίπεδα μεταλλικών κατιόντων δημιουργούν ισχυρές υποψίες ότι το υλικό υπό μελέτη είναι απατηλό.



**Εικόνα 3.** Σχηματική αναπαράσταση της υποτιθέμενης δομής του καθαρού ανεπεξέργαστου Πολυσακχαρίτη της *Aloe barbadensis* και ο καθαρισμός του με β1→4 ενδογλυκοσιδάση.

## 2. Η κατεργασία της *Aloe barbadensis* Miller- μέρος 1<sup>ο</sup>

### ✚ Περίληψη

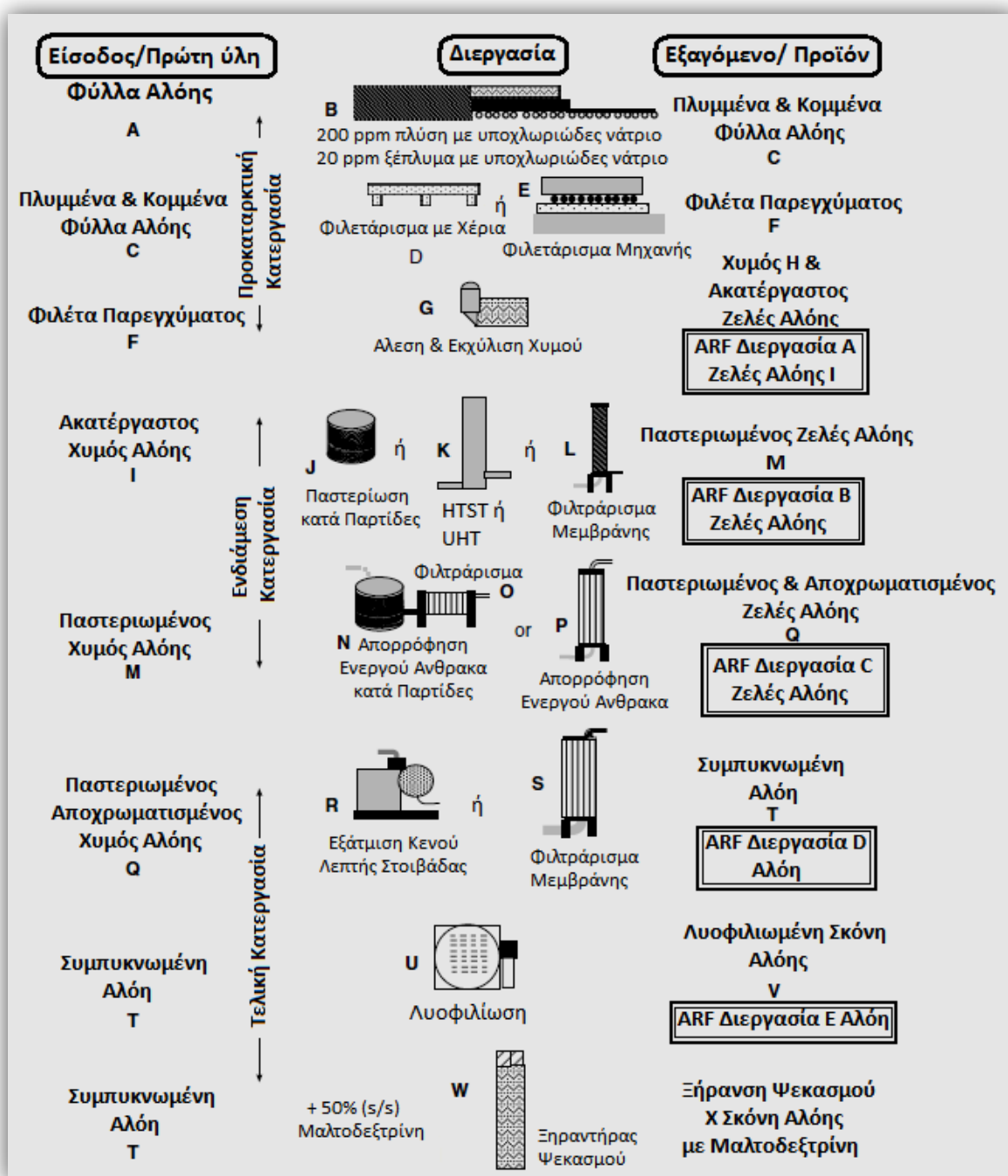
**Η** δυναμική χρήση των προϊόντων αλόης συχνά εμπεριέχει συχνά μερικούς τύπους διεργασίας όπως θέρμανση, αφυδάτωση και άλεση. Η διαδικασία παραγωγής αυτών των προϊόντων σε πρώτο στάδιο ενδέχεται να γίνεται με θραύση, άλεση και πρεσάρισμα ολόκληρου του φύλλου από το εργοστάσιο αλόης για την παραγωγή του χυμού της αλόης. Ακολουθούν διάφορα βήματα φιλτραρίσματος και σταθεροποίησης του χυμού. Το προκύπτον διάλυμα τότε ενσωματώνεται σε ένα μίγμα με άλλα διαλύματα ή αντιδραστήρια για την παραγωγή φαρμακευτικών και καλλυντικών, αλλά και προϊόντων τροφίμων. Στην βιομηχανία τροφίμων, η *Aloe barbadensis* Miller έχει χρησιμοποιηθεί σαν πηγή λειτουργικών τροφίμων και ειδικότερα για την παρασκευή υγιεινών ροφημάτων και άλλων ποτών, συμπεριλαμβανομένου και του τσαγιού. Το ποσό της *Aloe barbadensis* Miller που βρίσκει εφαρμογή στην φαρμακευτική βιομηχανία δεν είναι αμελητέο σχετικά με την παρασκευή τοπικών αλοιφών, παρασκευασμάτων ζελέ και δισκίων. Η *Aloe barbadensis* Miller βρίσκει επίσης εφαρμογή στην καλλυντική και καλλωπιστική βιομηχανία, όπου χρησιμοποιείται σαν βάση για κρέμες, λοσιόν, σαπούνια, σαμπουάν και καθαριστικά προσώπου.

Η **Προκαταρκτική Κατεργασία** των φύλλων περιλαμβάνει συγκομιδή, καθαρισμό, απομάκρυνση της πράσινης επιδερμίδας με ταυτόχρονη παραλαβή του παρεγχύματος, άλεση των φιλέτων του και απομάκρυνση του χυμού κυτταρίνης. Μετά, ο ακατέργαστος χυμός υποβάλλεται σε **Ενδιάμεση Κατεργασία** για την θανάτωση βακτηρίων και αν επιθυμείται να απομακρυνθούν οι ανθρακίνες. Η ενδιάμεση κατεργασία αποδίδει υλικά τα οποία με προσθήκη συντηρητικών αποτελούν τα βασικά προϊόντα ζελέ. Οι **Τελικές Κατεργασίες** αποδίδουν υγρά προϊόντα, συμπυκνώματα και σκόνες.

Το Ίδρυμα Έρευνας για την Αλόη δημιούργησε πρότυπα δείγματα που αντιστοιχούν σε έναν αριθμό από ενδιάμεσα και τελικά προϊόντα. Στην εικόνα 4, αυτά υποδεικνύονται ως **Διεργασία Α**, **Διεργασία Β**, **Διεργασία Γ**, **Διεργασία Δ** και **Διεργασία Ε** κατά ARF. Αυτά τα υλικά είναι διαδοχικά προερχόμενα από κοινά αρχικά υλικά κάτω ελεγχόμενες και καταγραφόμενες συνθήκες χρησιμοποιώντας βιομηχανικό εξοπλισμό. Η μελέτη των παραπάνω διεργασιών έχει φανερώσει τον τρόπο μεταβολής της σύνθεσης κατά την διάρκεια τους.

### ✚ Οι Απάτες στην βιομηχανία "Αλόης"

Στις παραπάνω διεργασίες αξίζει να αναφέρουμε την μεγάλη πιθανότητα σοβαρής υποβάθμισης και αλλοίωσης του προϊόντος. Οι διεργασίες μπορεί να προκαλέσουν αναντίστροφες μεταβολές στους πολυσακχαρίτες, επηρεάζοντας την αυθεντική τους δομή που με την σειρά του μπορούν να προωθήσουν σημαντικές αλλαγές στις προτεινόμενες φυσιολογικές και φαρμακευτικές ιδιότητες του προϊόντος. Προτού προχωρήσουμε στην ανάλυση των βιομηχανικών διεργασιών αν ανατρέξουμε στους Pelley et al, οι οποίοι το 1998 σε ένα από τα σημαντικότερα έργα για την ποιότητα της αλόης σημειώνουν στον πρόλογο: «Η βιομηχανία της "*Aloe vera*", που εμπορεύεται προϊόντα που προέρχονται από την *Aloe barbadensis* Miller, αποτελείται κυρίως από μικρές και μεσαίες ιδιωτικές επιχειρήσεις και μόνο μια χούφτα μεγάλες ολοκληρωμένες εταιρείες. Οι περισσότερες απ' αυτές κατέχουν μια συγκεκριμένη γωνία, είναι είτε παραγωγοί καθαρών χυμών αλόης, είτε μεταποιητές του χυμού, είτε μεσίτες των κατεργασμένων χυμών είτε κυρίως παραγωγοί καταναλωτικών προϊόντων των οποίων οι γραμμές είναι βαριά αφοσιωμένες σε ποτά ή καλλυντικά που περιέχουν 100% καθαρή "Αλόη". Λίγες απ' αυτές τις εταιρείες δημοσιεύουν εικόνες με τις ετήσιες παραγωγές ή πωλήσεις, καθιστώντας αδύνατο να προσδιοριστούν οι ετήσιες τάσεις των αγορών "Αλόης" με μια ορισμένη ακρίβεια.»



**Εικόνα 4.** Τα βήματα που χρησιμοποιούνται στην κατεργασία του χυμού της *Aloe barbadensis* Miller.

Και συνεχίζει: «Το IASC αποτελεί μία ομάδα 150 βιομηχανιών που αντιμετωπίζει την "Αλόη" σε διάφορες πλευρές. Ο IASC εκτιμά ότι οι πωλήσεις για τις πρώτες ύλες "Αλόης" ξεπερνούν σε ετήσια βάση τα \$20.000.000. Πάνω από \$100.000.000 δαπανώνται επίσης ετησίως από τους καταναλωτές στις Η.Π.Α. για ροφήματα ή καλλυντικά "100% Αλόης". Οι αναλυτές αγορών εκτιμούν ότι οι καταναλωτές ξοδεύουν ένα δισεκατομμύριο δολάρια τον χρόνο σε προϊόντα με την επιγραφή "περιέχει Αλόη". Όλες αυτές οι αγορές συμβαίνουν σε μία quasi ατμόσφαιρα "υγιεινών τροφίμων", στην οποία οι περισσότερες βιομηχανίες "Αλόης" αντιτίθενται σθεναρά σε οποιαδήποτε συμμόρφωση με διεθνείς κανονισμούς. Οι "έλεγχοι" και τα "πιστοποιητικά" από ψευδοεπιστήμονες είναι αρκετά συχνά. Κάτω απ' αυτές τις περιστάσεις υπάρχει μεγάλο δυναμικό για καταναλωτικές

απάτες σε όλα τα επίπεδα παραγωγής και διανομής. Επιπροσθέτως η έλλειψη πληροφοριών στην ποιότητα και σύσταση της αλόης που χρησιμοποιείται σε προϊόντα με τον τίτλο "περιέχει Αλόη", ήταν το κυριότερο εμπόδιο για επιστημονικές μελέτες που προσπαθούν να τεκμηριώσουν τις βιολογικές δραστηριότητες που αποδίδονται στο φυτό και να απομονώσουν ενεργά συστατικά από την αλόη. Η αποτυχία αναπαραγωγής των πειραματικών αποτελεσμάτων –ήτοι η αδυναμία της επαναληψιμότητας των μετρήσεων-ακόμα και στο ίδιο εργαστήριο, λόγω των διαφορετικών υλικών με το όνομα "Αλόη", έχει βλάψει σοβαρά την υπόληψη της Βιομηχανίας Αλόης στην γενική επιστημονική κοινότητα.»

- Από τα παραπάνω πρέπει να είναι φανερός ο διαχωρισμός των ονομάτων "*Aloe vera*" και "*Aloe barbadensis Miller*". Το ίδιο το φυτό καλείται με τον όρο βάση της ονομασίας κατά τον Philip Miller ως "*Aloe barbadensis Miller*". Το οποιοδήποτε προϊόν που έχει μορφή διαλύματος, ή έχει πολύ ιξώδη μορφή μπορεί να καλείται σαν "*Aloe vera*" ή "*Aloe falsa*". Αυτό αντιτίθεται λεκτικώς με την πανάκεια του ονόματος "*Aloe vera*". Στην ουσία όμως «...παρόλης της εμπιστοσύνης των ερευνητών στα δείγματα των βιομηχανιών αλόης, τεράστια ποσά και ποικιλίες από απατηλά, νοθευμένα και κακώς παρουσιαζόμενα προϊόντα αλόης παραμένουν ακόμα εκπληκτικά σε αριθμό σε όλη την αγορά του πλανήτη». Έτσι λοιπόν ο χαρακτηρισμός "*Aloe falsa*" μπορεί κάλλιστα να αποδοθεί, χωρίς ίχνος υπερβολής, σε πολλά εμπορικώς διαθέσιμα προϊόντα αλόης.



### 3. Η Αγρονομία της Αλόης

Ο καθένας θα έμενα έκπληκτος με την αντοχή των ειδών της αλόης. Δοθέντος ότι κάποιος που βρίσκεται αντιμέτωπος με έναν τέτοιο οργανισμό που είναι εκ φύσεως ευαίσθητος στην παγωνιά, τα μέλη των Αλοάκων μπορούν να βρεθούν στα πιο απίθανα μέρη. Κάποτε κατά την διάρκεια μιας περιήγησης με διαλέξεις, οι Ronald P. Pelley και Faith M. Strickland ανέβηκαν στον πρώην τηλεγραφικό σταθμό με θέα το λιμάνι του Hobart, στην Tasmania. Η εμπειρία τους ήταν μοναδική: «Παρατηρήσαμε ένα φυτό αλόης που προσπαθούσε να διατηρήσει ένα στήριγμα στην παγωμένη, βραχώδη, θυελλώδη από τον άνεμο κορφή του λόφου. Σύντομα προσέξαμε και άλλα φυτά. Συνειδητοποιήσαμε αμέσως ότι ολόκληρος ο λόφος κατοικείται από φυτά αλόης. Αυτά πρέπει να είχαν εγκατασταθεί πολύ πριν από έναν αιώνα, κατευθείαν από το Ακρωτήριο και να φυτεύτηκαν σε αυτό το απομονωμένο σημείο για καθαρτικούς σκοπούς από το πλήρωμα ενός σταθμού τηλεγράφου. Το είδος ήταν *Aloe ferox* Miller.» Ωστόσο, η αντοχή των φυτών δεν ισοδυναμεί με την βέλτιστη ανάπτυξη για όλα τα είδη ή για εμπορικές καλλιέργειες.

Ένα από τα τελευταία θέματα που λαμβάνονται υπόψη από τους περισσότερους μεσίτες των stock παροχής αλόης είναι η αγρονομία. Αυτό το γεγονός οφείλεται μερικώς στο ότι η αγρονομία είναι πιθανόν το τελευταίο αντικείμενο που παραγωγί καταναλωτικών προϊόντων έχουν στο μυαλό. Ωστόσο, στην συλλογική εμπειρία, δεν υπάρχει τίποτα πιο σημαντικό. αλλά και τίποτα πιο απαραίτητο από την αγρονομία στον προσδιορισμό ποιοτικών αποδόσεων του ζελέ ανά εκτάριο, για να προκύψει μια επαναλήψιμη βιολογική δραστηριότητα. Δυστυχώς, επειδή δεν κατέχουμε, ακόμα, όλες εκείνες τις χημικές αναλύσεις για "τα πάντα" σε ένα ευρύ φάσμα των βιολογικών δραστηριοτήτων, δεν δυνάμεθα να εξηγήσουμε τις επαρκείς αγρονομικές παραμέτρους για την παραγωγή του καλύτερου ζελέ.

#### ✚ Νερό, άζωτο και pH εδάφους

Οι τρεις πιο σημαντικοί παράγοντες για την παραγωγή ζελέ αλόης είναι η παροχή νερού, η διαθεσιμότητα σε άζωτο και η οξύτητα του εδάφους που αναπτύσσεται το φυτό. Από τους τρεις παράγοντες ο πιο σημαντικός είναι το νερό και παρόλο που η αλόη είναι διάσημη σαν φυτό της ερήμου, εντούτοις ο ρυθμός παραγωγής του είναι ισχυρά εξαρτημένος στην διαθεσιμότητα σε νερό. Το νερό επιδρά στον ρυθμό πιο ισχυρά από οποιονδήποτε άλλο παράγοντα. Σχεδόν τρεις δεκαετίες πριν είχε συνειδητοποιηθεί ότι το περιεχόμενο σε ανθρακινόνες στην αλόη ήταν εξαρτώμενο από τους εσωτερικά σχετιζόμενους παράγοντες (ηλιοφάνεια, άνεμος και υγρασία) που συνιστούν την διαθεσιμότητα του νερού. Το 1992 οι Genet και van Schooten προσδιόρισαν ότι η διαθεσιμότητα του νερού ήταν το κλειδί για την ανάπτυξη των αλόων σε υποτροπικά κλίματα. Ωστόσο η μόνη συστηματική μελέτη της αλληλεπίδρασης του νερού, μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών (=ιχνοστοιχεία) στην ανάπτυξη της *Aloe barbadensis* Miller είναι η μελέτη του Dr Whg του πανεπιστημίου Texas A&M. Δυστυχώς τα αποτελέσματα αυτής της αγρονομικής μελέτης ποτέ δεν δημοσιεύτηκαν και ως εκ τούτου πολλά απ' αυτά που λέγονται για την αγρονομία της αλόης παραμένουν ανεπίσημα και ποιοτικά παρά ποσοτικά.

Τέσσερα γενικά αξιώματα μπορούν να δηλωθούν σχετικά με την καλλιέργεια της *Aloe barbadensis* Miller στην χαμηλή κοιλάδα του Rio Grande –RGV-. Σε εκείνη την περίπτωση, ο τόπος επιλέχθηκε γιατί εκεί καλλιεργείται η *Aloe barbadensis* Miller για το περισσότερο χρονικό διάστημα. Κάποιος,, ως εκ τούτου, θα περίμενε η αγρονομία να ήταν καλά κατανοημένη. Επίσης, παραδοσιακά, η RGV είναι ο τόπος ανάπτυξης των φυτών της αλόης που ο ζελέ τους εμπορεύεται στις Η.Π.Α.

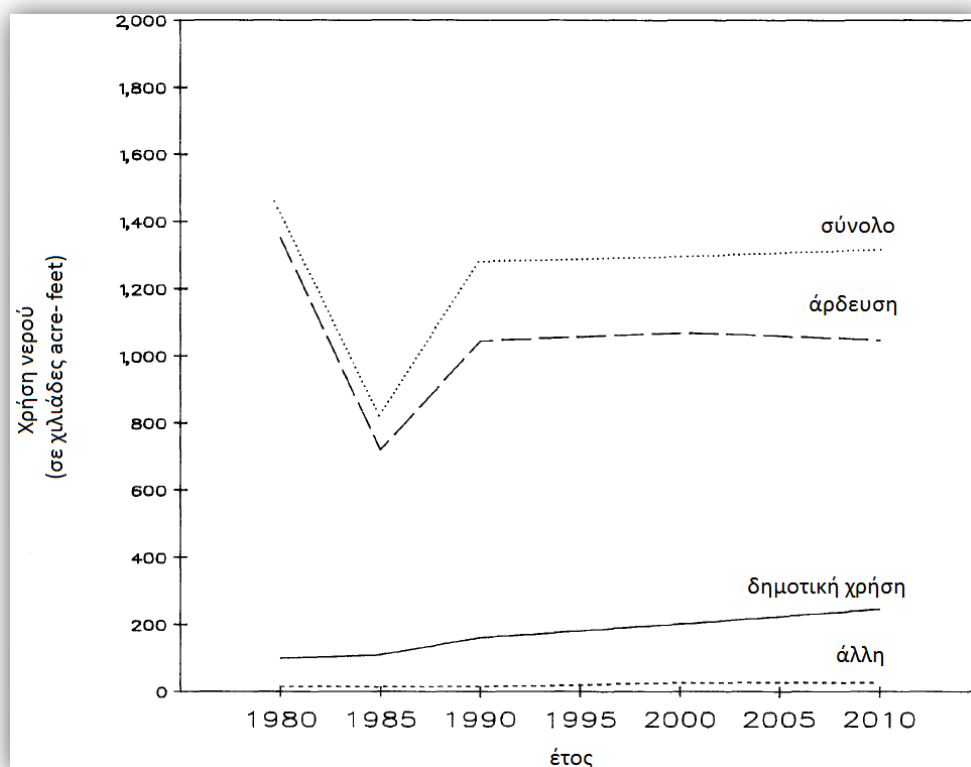
- Πρώτον, το κλίμα αυτής της περιοχής είναι φωτεινό και ποικίλο ανά έτος, ενώ σοβαροί παγετοί είναι συχνοί.

- Δεύτερον, επαρκείς βροχοπτώσεις είναι ακανόνιστες –ο μέσος όρος ετήσιων βροχοπτώσεων είναι 66 cm-. Οι ξηρασίες -25cm/έτος- που διαρκούν μέχρι τρία χρόνια μπορούν να καταστρέψουν τα νεαρά φυτώρια.
- Τρίτον, τα εδάφη έχουν συχνά χαμηλή διαθεσιμότητα σε άζωτο (<0,15%) και τα εδάφη είναι βασικά (8,0 με 8,6).
- Τέταρτον, λόγω της δομής του εδάφους, διόρθωση προβλημάτων 2 και 3 με ύδρευση και λιπάσματα μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της αλατότητας. Το υψηλό περιεχόμενο ασβεστίου σε αυτά τα εδάφη καθιστά δύσκολο να ρυθμιστεί το pH στο εύρος του 6,8 με 7,6 και η διόρθωσή του pH θα ήταν παροδική.

Αυτές οι μεταβλητές αλληλεπιδρούν η μία με την άλλη και επίσης αλληλεπιδρούν με τον άνεμο και την ηλιοφάνεια σε περιόδους που η βροχή είναι ανεπαρκής. Αυτό σημαίνει ότι είναι αδύνατο να δημιουργηθούν ποσοτικές λύσεις για μία δοθείσα μεταβλητή υπό την απουσία μελετών με ελεγχόμενες τοποθεσίες. Μπορούμε, ωστόσο να παρέχουμε τις παρακάτω προσεγγιστικές εκτιμήσεις.

Σοβαροί παγετοί συμβαίνουν κάθε 6 με 7 χρόνια στην χαμηλή RGV, με τρεις να έχουν συμβεί τα τελευταία 20 χρόνια, 1983, 1989 και 1991. Αυτό σημαίνει ότι κάποιος ρισκάρει την κερδοφορία, εάν ένα φυτό χρειάζεται 4 με 5 χρόνια, έτσι ώστε να οδηγηθεί σε πλήρη παραγωγή. Χρειάζονται τόσο πολύ επειδή επί πολλά χρόνια τα 100 cm των βροχών και το 0,25 με 0,40% του αζώτου που χρειάζονται σαν ελάχιστες απαιτήσεις για βέλτιστη ανάπτυξη δεν έχουν επιτευχθεί. Μεγαλύτεροι ρυθμοί ανάπτυξης (9-12 μήνες για πλήρη παραγωγή)θα μπορούσαν να επιτευχθούν με την βέλτιστη παροχή νερού (200 cm ετησίως) και αζώτου (0,40-0,50%) που θέτει ένα pH εδάφους ≈7,4. Αλλά η γη και το νερό είναι ιδιαίτερος ακριβά στην RGV. Η πρακτική συνέπεια αυτών των παραγόντων είναι ότι η παραγωγή της *Aloe barbadensis* Miller έχει μεταφερθεί σε περιοχές που η γη είναι φθηνότερη, οι παγετοί είναι πιο σπάνιοι, οι βροχοπτώσεις είναι επαρκείς και το νερό φθηνό. Η RGV δεν είναι πια η κυρίαρχη στον κόσμο της αγοράς της αλόης όπως πριν από 16 χρόνια. Στην παρούσα φάση η παραγωγή είναι κατανομημένη ανάμεσα στα φυτώρια του Μεξικό, της Δομινικανής Λαϊκής Δημοκρατίας, της Βενεζουέλας, Γουατεμάλας και βορείου Αφρικής. Όλες αυτές οι τοποθεσίες χαρακτηρίζονται, πάνω απ' όλα από απουσία παγετών. Αυτό σημαίνει ότι δεν γίνεται ένας αγώνας για ανάκτηση των επενδύσεων προτού ξεσπάσουν παγετοί. Οι περισσότερες απ' αυτές τις περιοχές, όμως, παραμένουν να είναι κάτω του βέλτιστου σχετικά με τις βροχοπτώσεις ενώ τα εδάφη είναι ανεπαρκή αζώτου. Δεν υπάρχει καμία αμφιβολία ότι σε αυτές τις περιοχές μπορούν να παρθούν μέτρα για το επαρκές νερό και άζωτο, για την καλύτερη παραγωγή ζελέ.

Ακριβώς όπως σημαντική είναι η διαθεσιμότητα νερού και αζώτου, βασικές παράμετροι είναι επίσης και η **σύνθεση** και **πορώδες του εδάφους** και το **pH**. Σε εδάφη που το περιεχόμενο λάσπης είναι σημαντικό, η αποστράγγιση του περιττού νερού είναι μικρή. Στις διακοπτόμενες βροχοπτώσεις της RGV, οι συνολικές βροχές μπορούν να συμβούν ταυτόχρονα δημιουργώντας τοπικούς κατακλυσμούς. Επομένως αυτές οι περιοχές με τα μη πορώδη εδάφη δημιουργούν το φαινόμενο δημιουργίας "τοπικών πισινών". Απ' την άλλη η *Aloe barbadensis* Miller διαθέτει παχιές και ρηχές ρίζες και σχετικά λίγα τριχίδια σε κάθε ρίζα. Αυτό μπορεί να εξηγήσει την προδιάθεση για αποσύνθεση ριζών της αλόης. Κατά τις ξηρασίες στην RGV στο δεύτερο μισό του 1990, ήταν κοινό να υπάρχουν επεισόδια σήψης των ριζών ακολουθούμενα μετά από τις χειμαρρώδεις περιστασιακές βροχές που διέκοπταν τις μεγάλου χρόνου ξηρασίες. Ομοίως, τα πλούσια εδάφη σε ασβέστιο, το υψηλό pH εδαφών που στάζουν φτωχά έχουν μεγαλύτερο πρόβλημα απ' ότι αναμένεται με την επακόλουθη μεγαλύτερη αλάτωση απ' ότι αναμένεται. Αυτό το γεγονός οδηγεί στην πτώση του pH του εδάφους δύσκολο, αφού επιδεινώνει την αλατότητα.



**Εικόνα 5.** Η χρήση του νερού στην κοιλάδα του Rio Grande από το 1980 έως και το 2010. Είναι φανερή η αυξημένη χρήση νερού στις αρδεύσεις μετά το 1985 λόγω των αυξημένων ξηρασιών.

#### ✚ Χωροταξία και Συγκομιδή φυτών

Τείνουμε να ξεχνάμε, όταν συζητάμε την αγρονομία, την χωροταξία των φυτών και την συγκομιδή τους. Ωστόσο με τα αυξημένα κόστη της ξηράς και του νερού, αλλά και της παραγωγής υψηλής ποιότητας φύλλων στο χαμηλότερο κόστος, αυτοί οι παράγοντες γίνονται αυξανόμενα σημαντικοί. Έχουμε παρατηρήσει αλόες τοποθετημένες σε πυκνότητες τόσο χαμηλές όπως 3000 φυτά ανά στρέμμα (1 acre= 4046,85642 m<sup>2</sup>). Όπου η γη είναι φθηνή, οι βροχοπτώσεις άφθονες, η ενδιάμεση καλλιέργεια –δηλαδή η καλλιέργεια και άλλων φυτών- βρίσκει εφαρμογή και ο έλεγχος ζιζανίων γίνεται με βοσκή, τότε το όλο κλίμα αποκτά νόημα οικονομικής ευφορίας. Βάσει του τελευταίου απαντώνται επίσης καλλιέργειες αλόης με πυκνότητες 4500 φυτά ανά στρέμμα με απόδοση μεγέθους φύλλου μεγαλύτερο των 800 g. Στην εικόνα 6 απεικονίζεται το τρόπο ενδιάμεσης καλλιέργειας που εφήρμοσε ένας αγρότης στο Rayan της Ινδίας με λίγη εμπειρία πάνω στα θέματα αλόης, αλλά με υπομονή και καινοτομική σκέψη. Για να αποφύγει την σήψη των φυτών στις χαμηλές περιοχές μετά τους μουσώνες ο Shah έκανε στροφή στο σύστημα bed-and-furrow (σύστημα κρεβάτι-και-αυλάκια) το οποίο και επέκτεινε σχεδόν σε όλη την φάρμα του. Φύτεψε δέντρα του φαρμακευτικού φιστικιού Malabar (*A.Vasica*) σαν έναν φυσικό δείκτη σωστής άρδευσης. Αυτά τον βοήθησαν να περιορίσει την χρήση του νερού στο ελάχιστο κάτι που κάνει τον προκύπτοντα ζελέ από τις αλόες να έχει μεγαλύτερη αξία. Όπως αναφέρθηκε χρησιμοποίησε την βοσκή για να ελέγξει τα ζιζάνια. Ο έλεγχος των ασθενειών γίνεται καλλιεργώντας την *Aloe barbadensis* μαζί με φυτά όπως φοίνικες, amla (ινδικό φραγκοστάφυλο), πεπόνια, κεχρί, κίκεως, μπιζέλια και φασόλια.





**Εικόνα 6.** Τμήμα από τα 30 στρέμματα του Vijay Shah των φυτών αλόης στην δυτική Ινδία. Ο ιδιοκτήτης Vijay Shah, ένας 45χρονος γενειοφόρος άνδρας αναφέρει σε ένα αναμνηστικό σημείωμα στο γραφείο του: «...1<sup>η</sup> Ιουλίου 1996: ολοκληρωτική διακοπή χρήσης χημικών». Σε μία βίαιη έκταση με ερήμους ο Vijay Shah κατόρθωσε να δημιουργήσει μία όαση ειρήνης για αυτόν και την οικογένειά του στην ίδια του την γη.

[http://newfarm.rodaleinstitute.org/columns/Jason/2003/0403/india\\_aloe.shtml](http://newfarm.rodaleinstitute.org/columns/Jason/2003/0403/india_aloe.shtml)

Ωστόσο, για την μεγιστοποίηση της παραγωγής ανά στρέμμα, μπορούν να υιοθετηθούν πυκνότητες έως 6000 φυτά ανά στρέμμα, υπό τις προϋποθέσεις των βέλτιστων ποσοτήτων νερού και όρια αζώτου εδάφους από 0,40-0,50%. Μία πυκνότητα 6000+ φυτών /στρέμμα είναι πιο συμβατή με την άρδευση στάγδην και την χρήση μια πολυταινίας σκεπάσματος εδάφους με σκοπό τον έλεγχο των ζιζανίων. Αυτή η εξελιγμένη αγρονομία αποφεύγει την ανάγκη για μηχανική καλλιέργεια που μπορεί πολύ εύκολα να διακόψει τις υπερβολικά πολύ ρηχές ρίζες της *Aloe barbadensis* Miller.

Η διαδικασία συγκομιδής της αλόης ανήκει στο υποκεφάλαιο 2 του παρόντος κεφαλαίου που βρίσκεται παρακάτω, αφού γίνεται μόνο μία ή κάτι παραπάνω ώρες πριν την κατεργασία. Βασικό ενδιαφέρον στην συγκομιδή είναι να αποθαρρύνονται εκείνες οι τεχνικές που προκαλούν εξάπλωση των βακτηρίων. Ωστόσο, η συγκομιδή γίνεται από τα ίδια χέρια που διενεργούν και όλες τις γεωργικές διαδικασίες, σχετικές με την αλόη. Ως εκ τούτου η εποπτεία της συγκομιδής πρέπει να γίνεται από τους ίδιους τους διαχειριστές των καλλιεργειών, στο πεδίο αρμοδιότητας των γεωργικών λειτουργιών τους.

Η συγκομιδή είναι ένα από τα πιο σημαντικά θέματα για την παραγωγή υψηλής ποιότητας ζελέ αλόης. Αν το θέσουμε αλλιώς, ανάρμοστη συγκομιδή οδηγεί και στην παραγωγή χαμηλής ποιότητας ζελέ. Έχουμε διδαχθεί ότι το υπεύθυνο άτομο για τον έλεγχο ποιότητας πρέπει να είναι παρόν κατά την διάρκεια της συγκομιδής για να διασφαλιστεί ότι όλα τα απαραίτητα μέτρα εφαρμόζονται σωστά.

- 1<sup>ο</sup>, τα φύλλα με μαυρισμένα άκρα δεν θα πρέπει να συλλέγονται για παρασκευή του ζελέ. Οι λεγόμενες νεκρωτικές περιοχές του φύλλου είναι το σημείο εξάπλωσης μικροοργανισμών. Μια προσπάθεια, κατά την διάρκεια της προκαταρκτικής κατεργασίας, να κοπούν τέτοιες περιοχές απλώς επιμολύνει τον "καλό" ζελέ και ολόκληρη την περιοχή κατεργασίας.
- 2<sup>ο</sup>, τα φύλλα πρέπει να αντιμετωπίζονται με ευγένεια και να συλλέγονται με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε να διατηρείται η βάση του φύλλου καλά κλεισμένη. Παρακέντηση των φύλλων διευκολύνει την είσοδο βακτηρίων στον ζελέ του παρεγχύματος. Είναι εκπληκτικό το πόσο γρήγορα μερικοί από τους επιεμφυμενιδικούς μικροοργανισμούς μπορούν να εισαχθούν στον ζελέ. Διασφαλίζοντας αυτούς τους κανόνες υγιεινής δεν θα κάνει από μόνο του τον

έλεγχο ποιότητας δημοφιλή, αλλά θα ελεγχθούν οι βακτηριακές επιμολύνσεις και εξαπλώσεις στον *in situ* αγρό.

Το μήνυμα είναι ότι η στοιχειωδώς σωστή κατεργασία του ζελέ της *Aloe barbadensis* Miller απαιτεί έναν εξελιγμένο διαχειριστή φάρμας. Αυτός ο άνθρωπος πρέπει να καταλαβαίνει την χημεία του εδάφους. Ο διαχειριστής φάρμας –ή διαφορετικά καλλιεργειών- πρέπει να μπορεί να μετρήσει το περιεχόμενο αζώτου στο έδαφος καθώς και το pH και τα ρυθμίσει σύμφωνα με τους κανονισμούς απαιτήσεων του φυτού. Ο χειρισμός του εδάφους μπορεί να γίνεται με τους συμβατικούς τρόπους πηγών αζώτου ή να προβαίνει στην ρίψη λιπάσματος στην περίπτωση οργανικών καλλιεργειών. Αυτός ο τρόπος καλλιέργειας παρέα με την στάγδην άρδευση και πιθανόν τον έλεγχο ζιζανίων με πολυμεμβράνες μπορεί να εφαρμοστεί και στην RGV. Ένας συνετός διαχειριστής θα πρέπει να χειρίζεται με μεγάλη ευκολία αυτές τις πολυπλοκότητες. Τελικώς, ο διαχειριστής καλλιεργειών θα πρέπει πρόθυμα να συνεργάζεται με τον Έλεγχο Ποιότητας για τις καλύτερες μεθόδους συγκομιδής.

➔ Ο Έλεγχος Ποιότητας του ζελέ της αλόης απαιτεί την ποιότητα της αγρονομίας.



Η αγρονομία αποτρέπει από σοβαρές... γκάφες!

#### 4. Η μικροβιολογία της Αλόης

**Η** μικροβιολογία της αλόης εντάσσεται κυρίως στην ενδιάμεση κατεργασία του χυμού (βλέπε παρακάτω, υποκεφάλαιο 2), αλλά λόγω της ύπαρξης μικροοργανισμών και στην προκαταρκτική κατεργασία θα πρέπει να είμαστε ενήμεροι για τους δύο βασικούς τύπους μικροοργανισμών στην *Aloe barbadensis* Miller. Εκτός από την περιβόητη και αποδεδειγμένη χρήση της αλόης για την καταπολέμηση διαφόρων παθήσεων που προκαλούνται από παθογόνους μικροοργανισμούς, το ίδιο το φυτό περιέχει πληθώρα μικροοργανισμών που χρήζουν εξονυχιστικής μελέτης για ένα υγιεινό αλλά και ασφαλές προϊόν.

- I. **Ενδογενείς Οργανισμοί** – Επιπροσθέτως του ζελέ, το φύλλο της αλόης περιέχει τρία μέρη:
- την εξωτερική πράσινη επιφάνεια,
  - το εξωτερικό εφυμενιδικό κλάσμα του πράσινου μεσόφυλλου και
  - καφέ σημάδια και νεκρωτικά κλάσματα.

Καθένα από αυτά τα μέρη διαθέτει την δική του χλωρίδα που είναι καλά προσαρμοσμένη για την ανάπτυξη του σε μία συγκεκριμένη θερμοκρασία και pH αυτού του μέρους του φύλλου και χρησιμοποιώντας θρεπτικά από το εκάστοτε μέρος. Δηλαδή κάθε μικροοργανισμός βρίσκεται στο κάθε μέρος λόγω των φιλικών συνθηκών και ζώντας συμβιωτικά και παίρνοντας τα απαραίτητα στοιχεία για την ανάπτυξή του από το συγκεκριμένο μέρος.

- II. **Εξωγενείς Οργανισμοί** – Αυτοί μπορούν να αποκτηθούν από το περιβάλλον κατά την διάρκεια της κατεργασίας. Δυναμικά υπάρχουν δύο τύποι τέτοιων οργανισμών.
- περιβαλλοντική χλωρίδα των εργοστασίων κατεργασίας, κυρίως μικροκοκκία αλλά και περιστασιακά μύκητες, και
  - ανθρώπινοι συσσιτώνες –δηλαδή μικρόβια που ζουν συμβιωτικά με τον άνθρωπο αλλά όχι με την αλόη-.

Το περιβάλλον του εργοστασίου κατεργασίας όταν δεν συντηρείται σωστά και δεν αποστειρώνεται μία πλούσια ποικιλία οργανισμών μπορεί να μεγαλώσει στα προϊόντα αλόης. Οι ανθρώπινοι συσσιτώνες δεν είναι πολύ ταιριαστοί για εξάπλωση στις καθαρές αλόες, πολύ πιθανόν λόγω της βακτηριοστατικής επίδρασης σε αυτούς τους οργανισμούς.

**Πίνακας 4.** Οργανισμοί πάνω ή μέσα στον ζελέ της *Aloe barbadensis* Miller

Τάξη οργανισμού	Οργανισμός	Συχνότητα απομόνωσης <sup>1</sup>	Τυπικοί αριθμοί
<b>Gram +ve κοκκία<sup>2</sup></b>	<i>Streptococcus morbillorum</i> <sup>3</sup>	5/9	1,000–30,000 CFU/ml
	<i>Enterococcus faecium</i> <sup>3</sup>	3/9	10–55,000 CFU/ml
	<i>Micrococcus species</i> <sup>3</sup>	3/9	500–1,500 CFU/ml
	<i>Micrococcus species</i> <sup>3</sup>	1/9	1,400 CFU/ml
	<i>Staphylococcus hominis</i>	1/9	300 CFU/ml
	<i>Streptococcus mitis</i>	1/9	150 CFU/ml
	<i>Staphylococcus auricularis</i>	1/9	20 CFU/ml
	<i>Staphylococcus cohnii</i>	1/9	10 CFU/ml
	<i>Staphylococcus lentis</i>	1/9	50 CFU/ml
	<i>Staphylococcus carnosus</i>		
<b>Gram –ve ραβδία<sup>2</sup></b>	<i>Enterobacter species</i>	6/9	10–2,400 CFU/ml
	<i>Klebsiella species</i>	3/9	70–1,800 CFU/ml
	<i>Serratia species</i>	2/9	40–500 CFU/ml
	<i>Cedecea species</i>	3/9	10–60 CFU/ml
<b>Gram +ve ραβδία<sup>4</sup></b>	<i>Bacillus species</i>	7/9	10–100 CFU/ml
	Diphtheroids	1/9	20 CFU/ml

Σημειώσεις:

(1) Η συχνότητα με την οποία ένας οργανισμός προσδιορίστηκε σε 9 παρασκευάσματα κατά ARF.

(2) Αυτοί οι οργανισμοί παρατηρήθηκαν μόνο στον ζελέ και όχι στην επιφάνεια του φυτού.

(3) Αυτοί οι οργανισμοί παρατηρήθηκαν με βιοχημικούς ελέγχους. Οι βιοχημικοί έλεγχοι που απασχολήθηκαν και οι υπολογιστικοί αλγόριθμοι που χρησιμοποιήθηκαν για την ειδογένεση αναπτύχθηκαν για τον προσδιορισμό παθογόνων στους ανθρώπους. Ως εκ τούτου δεν είναι οι βέλτιστοι για τον προσδιορισμό και στους συσσιτώνες των φυτών. Και οι τρεις απ' αυτούς τους οργανισμούς πιθανόν ανήκουν σε ένα γένος (*Micrococcus*) και μπορεί να αναπαριστούν νέα είδη ή βιότυπους στα ίδια είδη.

(4) Η συγκέντρωση αυτών των οργανισμών αναφέρεται στον ζελέ. Αυτοί οι οργανισμοί παρατηρούνται αρχικά στην επιφάνεια του φύλλου και η παρουσία τους στον ζελέ υποδηλώνει ελλιπή απολύμανση.

Οτιδήποτε ακολουθεί παρακάτω διέπεται από αυτά τα δύο σύνολα οργανισμών. Απαντώνται τόσο στα stock παροχών για τα καλλυντικά όσο και για τα ροφήματα. Ωστόσο όταν παρασκευάζονται ποτά αλόης, μία περισσότερο αναλυτική κατανόηση της βακτηριολογίας των αλόων είναι απαραίτητη. Αυτό εξηγείται από το ότι το εύρος των βακτηριοστατικών παραγόντων στην βιομηχανία ροφημάτων και ποτών που απαγορεύονται εν συγκρίσει με την ευρεία χρήση τους για τα προσωπικά προϊόντα φροντίδας. Επιπλέον, τα ποτά συνήθως περιέχουν μονοσακχαρίτες και/ή δισακχαρίτες που προστίθενται σαν γλυκαντικά και που μπορούν να αποτελέσουν ένα πλούσιο μέσο στο οποίο να μπορούν να αναπτύσσονται βακτήρια. Λόγω της φύσης της παρασκευής ποτών, η μόλυνση ενός και μόνο βαρελιού (215 λίτρων) με χυμό αλόης θα μπορούσε να αποτελέσει επιμολυσματικό εναρκτήριο σημείο για την καταστροφή μιας ολόκληρης παραγωγής ποτών-ροφημάτων για μία παρτίδα ποτών συνολικής ποσότητας 4000 λίτρων.

Ο πίνακας 4 αποτυπώνει το εύρος των βακτηρίων που βρίσκονται στα υψηλής ποιότητας καθαρά φιλέτα ζελέ αλόης της Διεργασίας Α, πριν καν αρχίσει οποιαδήποτε διεργασία

Όλοι αυτοί οι οργανισμοί έχουν διαφορετικά χαρακτηριστικά ανάπτυξης και διακυμαινόμενη ευαισθησία στην θερμότητα, στους απολυμαντικούς παράγοντες και στα συντηρητικά. Τα προβλήματα θα είναι μια συνδυασμένη λειτουργία των οργανισμών και των παραβιάσεων στα ρεύματα των διεργασιών

#### ✚ Οργανισμοί σχετιζόμενοι με την αλόη και η βιομηχανική τους σημασία- *Micrococcus sp.*

Βιοχημικά, αυτός ο τύπος οργανισμών είναι γνωστός σαν, στην υπολογιστική σάρωση βιοχημείας, *Streptococcus morbillorum* ή *Enterococcus faecium*. Μορφολογικά, είναι μεγάλοι Gram +ve κοκκιοβάκκιοι με αλυσίδες. Επιλεγμένα χαρακτηριστικά ανάπτυξης υποδηλώνουν ότι αυτοί δεν είναι *Streptococcus* ή *Enterococcus*, αλλά πιθανόν αναπαριστούν ένα νέο είδος *Micrococcus* συμβιωτικό με την αλόη. Η ακριβής ταξινομική θέση δεν είναι βιομηχανικής σημασίας. Αυτό που είναι σημαντικό είναι ο συσχετισμός ορισμένων βακτηρίων που έχουν εξελιχθεί έτσι ώστε να αναπτύσσονται στα είδη *Aloe* και πολύ φτωχά κάπου αλλού. Αποκαλούνται **μικρόκοκκοι** όχι γιατί οι οργανισμοί είναι μικροί (στην πραγματικότητα είναι μεγαλύτεροι από τα βακτήρια), αλλά διότι σχηματίζουν αποικίες που είναι πολύ μικρές στα περισσότερα μέσα άγαρ και μπορούν εύκολα να παραλειφθούν εάν δεν είναι κάποιος προσεκτικός. Συγκεκριμένα, όταν μη επιλεκτικά μέσα ανάπτυξης όπως Θρεπτικό Άγαρ ή Πλάκα Καταμέτρησης με Άγαρ χρησιμοποιούνται η εξάπλωση ή η βαριά ενθυσάλκωση άλλων οργανισμών μπορεί να υπερανάπτυχθεί στην πλάκα, επισκιάζοντας τους μικρόκοκκους οι οποίοι μπορεί να είναι χιλιάδες φορές πιο πολυάριθμοι. Οι μικρόκοκκοι σχετίζονται με την πράσινη επιδερμίδα και πιθανόν κατοικούν κάτω από την εφυμενίδα. Οξειδωτική απολύμανση (όπως με υποχλωριώδες) της εξωτερικής επιφάνειας, που απομακρύνει αποτελεσματικά οργανισμούς του εδάφους όπως *Bacillus* και *Diphtheroides*, δεν απομακρύνει αποτελεσματικά τους μικρόκοκκους. Αυτοί οι οργανισμοί είναι από τους πιο συχνά καλλιεργημένους από το ακατέργαστο ζελέ υψηλής ποιότητας και είναι οι οργανισμοί παρόντες στους πιο μεγάλους αριθμούς. Όταν ένα βακτηριακό ξέσπασμα συμβαίνει, αυτοί οι οργανισμοί είναι από τους πιο συνήθεις απομακρυσμένους.

Ο Al Davis (αποθανών) της *Aloe vera* στην Αμερική ήταν ο πρώτος που συνειδητοποίησε ότι οι σχετιζόμενοι με την αλόη μικρόκοκκοι ήταν «οξεόφιλοι- acidophilus». Ο τελευταίος όρος αποτελεί ένα γενικό όνομα για τις ομάδες των προβιοτικών, που προστίθενται συχνά στο γάλα ή πωλούνται σαν κάψουλες, που περιέχουν ένα ή περισσότερα από τα κάτωθι βακτήρια που βοηθούν την πέψη: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Bifidobacterium species* και *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*. Εντούτοις μόνον ο πρώτος

αποτελεί μικροοργανισμό γνήσια οξεόφιλο. Αυτός σημείωσε ότι αυτοί οι οργανισμοί μεγαλώνουν φτωχά σε Θρεπτικό Άγαρ (Difco, 1986, ισοτονικό, pH=7.3 και μηδενική προσθήκη γλυκόζης), που είναι σχεδιασμένος για την απομόνωση ανθρώπινων παθογόνων, ειδικότερα από το αίμα, το ασκίτικο υγρό ή διάφορες εκχύσεις. Η Πλάκα Καταμέτρησης με Άγαρ, σχεδιασμένη για καταμέτρηση οργανισμών στο νερό, τα τρόφιμα και το γάλα, έχει σχετικά υψηλό pH=7,0 και έχει λίγη γλυκόζη (1g/ λίτρο) και άλατα και δεν ευνοεί ούτε και αυτή την ανάπτυξη των μικρόκοκκων. Καθώς εξερευνούσε και άλλα μέσα ο Davis, σημείωσε ότι οι σχετιζόμενοι με την αλόη οργανισμοί μεγαλώνουν καλά σε μέσα λακτοβάκιλλων (20g γλυκόζης ανά λίτρο και pH=6,5). Εσφαλμένα θεώρησε ότι οι οργανισμοί ήταν λακτοβάκιλλοι, το οποίο δεν ήταν έκπληξη αφού το εργαστήριό του δεν κατείχε τα μέσα για τα βιοχημικά αποτυπώματα των οργανισμών.

Αργότερα, βρέθηκε το ίδιο αποτέλεσμα, όταν αναλύθηκε ένα βακτηριακό ξέσπασμα σε ένα εργοστάσιο επεξεργασίας αλόης. Απομονώθηκαν κάποιες ομάδες οργανισμών σε τεράστιους αριθμούς ( $10^8$ - $10^9$  ανά mL) χρησιμοποιώντας το Columbia CNA άγαρ, ένα άγαρ αίματος που καθυστερεί με κολιστίνη και ναλιχιδικό οξύ, την ανάπτυξη των οργανισμών όλων εκτός των Gram +ve κοκκίων. Παρουσία CNA οι οργανισμοί παρήγαγαν μικρές αποικίες με κυμαινόμενη, γάμμα ή ελαφρώς άλφα αιμόλυση. Μορφολογικά, οι οργανισμοί ήταν αρκούντως μεγάλοι κοκκιοβάκιλλοι που αναπτύσσονταν σε αλυσίδες. Κάτω από τις περισσότερες συνθήκες, το είδος των *Micrococcus* δεν ζύμωνε την γλυκόζη με παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα, αλλά αντιθέτως παρήγαγε γαλακτικό το οποίο μπορούσε να ανιχνευτεί χρησιμοποιώντας την ίδια στήλη αμινοξέων HPLC που χρησιμοποιείται για την ποσοτικοποίηση μαλικού οξέος. Όταν αυτοί οι οργανισμοί κατανάλωναν την διαθέσιμη γλυκόζη στον ζελέ της αλόης χρησιμοποιούσαν κατά προτίμηση οργανικά οξέα, ειδικότερα τα μαλικά.

- ➔ Η βέλτιστη θερμοκρασία για την ανάπτυξη αυτών των οργανισμών ήταν σύμφωνη με την θερμοκρασία περιβάλλοντος της επιφάνειας του εδάφους στην RGV που είναι 35- 45°C. Αυτά τα είδη *Micrococcus* δεν θανατώνονταν στους 50°C ενώ η καμπύλη θανάτου ήταν σημαντικά χαμηλότερη από αυτήν των σχετιζόμενων με την αλόη Gram –ve ραβδίων, όπως τα *Cedecea* και *Enterobacter*.

Σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος του εργοστασίου επεξεργασίας δίχως κλιματισμό (35-45 °C), το είδος *Micrococcus* διπλασιάζεται σε αριθμό περίπου κάθε 25 λεπτά. Η εξάπλωση στον ζελέ της αλόης μπορεί να ξεκινήσει σε 10.000 CFU/mL και αυξάνεται σε περισσότερα των  $10^8$  σε 24 ώρες. Η ανάπτυξη αυτών των οργανισμών δεν παρεμποδίζεται από το κιτρικό ή ασκορβικό και επιβραδύνεται μόνο από το βενζοϊκό. Το καλύτερο συντηρητικό για την ελαχιστοποίηση της ανάπτυξης είναι τα θειώδη άλατα αλλά δεν είναι τελείως αποτελεσματικά. Δυστυχώς η χρήση των θειωδών περιορίζεται πολύ γρήγορα στα ποτά. Η παρουσία μικροκοκκίων, ακόμη και σε μέτριους αριθμούς ( $10^5$ - $10^6$ ) στην αλόη έχει σχετικά μικρή οργανοληπτική επίδραση.

Ο εντοπισμός των σχετιζόμενων με την αλόη μικροκοκκίων εξαρτάται στενά από την σωστή βακτηριολογία, παρόλο που η απουσία του μαλικού και η παρουσία του γαλακτικού στις εικόνες των HPLC μπορούν να μας προειδοποιούν για πιθανή παρουσία μικροκοκκίων. Αναμενόμενα, το καλύτερο υγρό μέσο για την διάδοση αυτών των οργανισμών είναι ο κυψελώδης ζελέ της αλόης. Τα Columbia κολιστίνη, ναλιχιδικό οξύ άγαρ αίματος, είναι ένα ακριβό μέσο, και γενικά είναι καλύτερο να αγοράζεται σε μορφή πλακών. Εναλλακτικά τα βακτηριολογικά μέσα για ανίχνευση μικροκοκκίων όπως το KF Enterococcus άγαρ για στρεπτόκοκκους περιιτωμάτων και το Bile Esculin Agar για την ομάδα D των στρεπτόκοκκων, δεν παρέχουν υποστήριξη για την ανάπτυξη για τους σχετιζόμενους με την αλόη μικρόκοκκους. Δύο μέσα αναπτύχθηκαν για την βιομηχανία τροφίμων και ποτών, δείχνοντας μια προκαταρκτική υπόσχεση (πίνακας 5).

- i. Το πρώτο είναι, μια μετατροπή του Bacto Orange Serum Medium (Difco, 1986), που κανονικά χρησιμοποιείται για την ανίχνευση των λακτοβάκιλλων και άλλων οξεόφιλων οργανισμών που προκαλούν μολύνσεις σε προϊόντα εσπεριδοειδών. Το pH αυτού του μέσου είναι μέσο (pH=5,5) και προσεγγίζει πιο στενά το pH του ζελέ της αλόης (pH =4,5) περισσότερο από οποιοδήποτε άλλο βακτηριολογικό μέσο. Το περιεχόμενο γλυκόζης του Orange Agar είναι ίσο με 4g/L και είναι σύμφωνο με το περιεχόμενο αναγωγικών σακχάρων του ζελέ της αλόης (1,86 g/L). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι το αυτό του μέσου είναι αρκετά χαμηλό και υπάρχει επαρκής γλυκόζη για να υποστηρίξει την ανάπτυξη μυκήτων. Ο ζελέ της αλόης προστίθεται σε αυτό το μέσο για να παράσχει κάθε ειδικευμένους παράγοντες απαραίτητους για την ανάπτυξη των σχετιζόμενων της αλόης μικροκοκκίων.
- ii. Ένα δεύτερο μέσο, το Universal Beer Agar (UBA), έχει επίσης δείξει υπόσχεση για τον προσδιορισμό αυτών των οργανισμών. Αυτό το μέσο έχει αποδειχθεί χρήσιμο για την απομόνωση λακτοβάκιλλων, πεδιόκοκκων και *Acetobacter* από την μύρα. Αναπόσπαστο μέρος στον σχεδιασμό του UBA είναι η χρήση του ελεγχόμενου ποτού σαν μέρος του άγαρ, ένα αξίωμα πρώτα υιοθετημένο στην βακτηριολογία του γάλακτος. Αυτό το αξίωμα μας ώθησε στην ενσωμάτωση της αλόης μέσα στο διαγνωστικό μας μέσο. Το UBA έχει σημαντικά υψηλότερο pH από το Orange Agar και τέσσερις φορές περισσότερη γλυκόζη.

Προς το παρόν είναι ξεκάθαρο το ένα τα δύο άγαρ υποστηρίζουν την ανάπτυξη ενός διαφορετικού φάσματος οργανισμών. Ένα πρόβλημα με αυτά τα άγαρ είναι το χαμηλό pH των μέσων και το υψηλό περιεχόμενο σε ιόντα, που προκαλεί σημαντικό μαλάκωμα στο άγαρ. Το μαλάκωμα γίνεται ιδιαίτερα σοβαρό εάν οι πλάκες εμβολιαστούν σε μεγαλύτερες από τις καθορισμένες θερμοκρασίες (35-37°C) με σκοπό να αναπαραχθούν οι θερμοκρασίες υπό τις οποίες τα σχετιζόμενα με την αλόη βακτήρια μεγαλώνουν.

**Πίνακας 5.** Τροποποιημένα άγαρ για ανίχνευση του είδους *Micrococcus* στα υλικά της *Aloe barbadensis*.

	Universal Beer Agar	Orange serum Agar
Εκχύλισμα μαγιάς	3 g	6,1 g
Τρυπτόνη	10 g	-
Πεπτόνη γάλακτος	-	15 g
Γλυκόζη	4 g	16,1 g
Φωσφορικό κάλιο K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2,5 g	0,31 g
Φωσφορικό κάλιο KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-	0,138 g
Άλατα	-	-
Ορός πορτοκαλιού	Ισοδύναμος με 200 mL	12,2 g
Αφυδατωμένος χυμός ντομάτας	-	12 g
Άγαρ	17 g	12 g
Νερό	750 mL	750 mL
pH	5,5	6,3
Ζελέ <i>Aloe barbadensis</i>	250 mL	250 g
Bacto agar (για πλάκες)	13 g	8 g

Υπάρχει πολύς δρόμος ακόμα προτού θεωρήσουμε αυτό το σύστημα και την ταξινομική θέση των οργανισμών που καθιερώθηκαν. Είναι λακτοβάκιλλοι, στρεπτόκοκκοι, μικρόκοκκοι ή αποτελούν ένα διαφορετικό γένος; Υπάρχουν όρια σχετικά με τις πληροφορίες που μπορούμε να λάβουμε από την μορφολογία και τον μεταβολισμό σχετικά με το τι οργανισμοί είναι. Ομοίως η γνώση αυτών των Gram +ve οργανισμών βασίζεται σε 2 ή 3 καλές φυτείες και εργοστάσια επεξεργασίας στην RGV.

Χρειαζόμαστε να επεκτείνουμε αυτήν την γνώση έτσι ώστε να είναι πιο αναπαραστατική η παγκόσμια κατανομή της *Aloe barbadensis*.

Τα χαρακτηριστικά της πανταχού παρουσίας και ανάπτυξης των σχετιζόμενων με την αλόη μικρόκοκκους οργανισμούς αναδύονται κάτω από επιλεκτικές πιέσεις των εργοστασίων κατεργασίας. Οι παρακάτω (3) συνθήκες κατεργασίας είναι αυτές στις οποίες οι μικρόκοκκοι είναι πιο πιθανό να προκαλούν προβλήματα:

- i. Ο ακατέργαστος ζελές δεν διατηρείται παγωμένος πριν από την μεταφορά σε μεγάλη απόσταση από την φυτεία στο εργοστάσιο επεξεργασίας. Εναλλακτικά, τα φύλλα αντιμετωπίζονται με βανουσότητα κατά την διάρκεια της συγκομιδής και του πλυσίματος και τότε αφήνονται να ηρεμήσουν 24 ώρες πριν από οποιαδήποτε αρχική κατεργασία.
- ii. Ο ακατέργαστος ζελές με υψηλές βακτηριακές μετρήσεις ( $>10^8$  CFU/mL) κατεργάζεται ως εκ τούτου επιμολύνοντας τον εξοπλισμό επεξεργασίας. Ένα μεταγενέστερο καθάρισμα και απολύμανση είναι λιγότερο βέλτιστη και οι μικρόκοκκοι εξαπλώνονται στο εργοστάσιο επεξεργασίας. Αυτοί οι μικρόκοκκοι επιμολύνουν τότε και όλο τον ζελέ που εισρέει στο εργοστάσιο μελλοντικά.
- iii. Κατά την προκαταρκτική κατεργασία του ολόκληρου φύλλου, πιθανό χύμα ομογενοποιείται για περισσότερο της μίας ώρας σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος.

➔ Όταν επιτευχθεί βακτηριακή μόλυνση στον εξοπλισμό κατεργασίας, είναι πολύ δύσκολο να εξαφανιστεί χωρίς την ολοκληρωτική διάλυση και απολύμανση του εξοπλισμού, γεγονός που οδηγεί στο κλείσιμο του εργοστασίου για πολλές μέρες. Εάν το τελικό προϊόν περιέχει περισσότερους από  $10^3$  μικρόκοκκους /mL, τα περισσότερα συντηρητικά δεν μπορούν να παρεμποδίσουν την ανάπτυξή τους. Ο ζελές επομένως που θα ληφθεί από τον καταναλωτή θα περιέχει περισσότερους των  $10^6$  CFU/mL και κάτω από φυσική συνέπεια θα υπάρξουν εμφανή σημάδια επιμόλυνσης. Επομένως η πιθανότητα μιας ανάπτυξης μικροκοκκίων απαιτεί μια εξονυχιστική παρακολούθηση.

#### ➤ Άλλοι σχετιζόμενοι με την αλόη οργανισμοί

- i. Άλλα Gram +ve κοκκία
- ii. Gram -ve ραβδία
- iii. Gram +ve ραβδία
- iv. Μύκητες, μούχλα και ζύμες

## 5. Η κατεργασία της *Aloe barbadensis* Miller –μέρος 2<sup>ο</sup>

### ➤ Προκαταρκτική Κατεργασία – καθαρισμός, εξαγωγή και απολύμανση

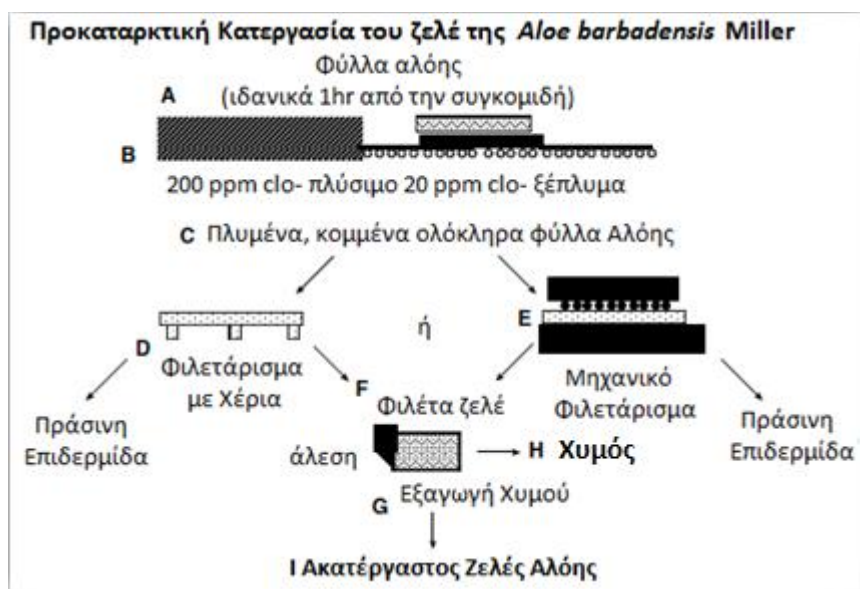
Το φορτηγό με τα καλάθια των φύλλων της αλόης ή τα ρυμούλκα με τα "κλουβιά αλόης" φτάνει μπροστά από το εργοστάσιο ή τον σταθμό κατεργασίας. Η περιοχή είναι γεμάτη σκόνη και λάσπη και τα φύλλα είναι περιτυλιγμένα με βρωμιά ανακατωμένη με το εξίδρωμα το οποίο και αρχίζει να γίνεται μωβ υπό την έκθεση στο αέρα και στο ηλιακό φως. Από την άλλη άκρη του εργοστασίου θα πρέπει να εξαχθεί ένας χυμός που να είναι ιδιαιτέρως απολυμασμένος. Αυτή είναι και η σημαντική πρόκληση. Αποτυχία σημαίνει ότι το προϊόν θα έχει προβλήματα με την ενζυμική υποβάθμιση και μικροβιακή ανάπτυξη, ο χρωματισμός του καλλυντικού θα είναι μαύρος ή το προϊόν θα είναι βιολογικά ανενεργό –δηλαδή ένα άχρηστο ζουμί-. Η θανάτωση όλων των μικροοργανισμών και ενζύμων μπορεί να εντάσσεται στην ενδιάμεση κατεργασία αλλά μία λανθασμένη προκατεργασία θα σημαίνει το τέλος της ποιότητας του προϊόντος και οικονομική

ζημία για τον επιχειρηματία. Η προκαταρκτική κατεργασία είναι εκεί που η μάχη για την ποιότητα της αλόης ξεκινά.

#### ☑ Πλύσιμο των φύλλων

Η προκαταρκτική κατεργασία ξεκινά με την απολύμανση την εξωτερικής επιφάνειας των φρέσκα συλλεγμένων φύλλων (πρώτη ύλη στην εικόνα 7), συνεχίζει με την απομάκρυνση του εξωτερικού πράσινου επιδερμικού ιστού (**Διεργασίες D & E**) και εμφάνιση του παρεγχύματος μέσω μιας μηχανής κοσκινίσματος (**Διεργασία G**) για την παραγωγή του ζελέ (Προϊόν Ι). Το πλύσιμο αρχινά με τα φρέσκα φύλλα. Ιδανικά τα φύλλα μπορούν να συλλεχθούν και να πλυθούν μέσα σε 1 με 2 ώρες. Ωστόσο, αυτό επιβάλλει μερικά δοχεία (μικρότερα του ενός τόνου) και γρήγορη μεταφορά από το χωράφι είτε στον σταθμό κατεργασίας του αγρού είτε στην βιομηχανική μονάδα προκατεργασίας. Σε ελεγχόμενες μελέτες βρέθηκε ότι εάν περάσουν 24 ώρες ανάμεσα στην συγκομιδή και το πλύσιμο τότε μερική βιολογική δραστηριότητα μπορεί να χαθεί. Καθυστερημένο πλύσιμο μετά της συγκομιδής με διατήρηση της φρεσκότητας απαιτεί σχολαστικά σχέδια και προσοχή. Ένα εύλογο διάστημα, συμπερασματικά μπορεί να θεωρηθεί η 1 ώρα ή και λιγότερο.

Το πλύσιμο μπορεί να επιτευχθεί με πολλούς τρόπους (εικόνα 7, **Διεργασία Β**). Η εξονυχιστικότητα του πλυσίματος θα είναι ιδανικά μια συνάρτηση του πόσο βρώμικα είναι τα φύλλα. Εάν οι συνθήκες των φύλλων είναι πολύ βρώμικες τότε πιο εξονυχιστικό πλύσιμο απαιτείται. Ομοίως, εάν καθώς προχωράει η κατεργασία η μόλυνση του ζελέ με οργανισμούς που σχετίζονται με το χώμα είναι πρόβλημα, τότε το πλύσιμο θα πρέπει να προσανατολίζεται εναντίον των οργανισμών της εξωτερικής εφυμενίδας της επιφάνειας. Το σχηματικό αποτύπωμα της εικόνας 7 παρουσιάζει την συνήθη αλληλουχία μιας δεξαμενής έκπλυσης με 200 ppm υποχλωρικό νάτριο ή άλλο αντιδραστήριο που απολυμαίνει. Αυτό τροφοδοτεί την γραμμή έκπλυσης μέσω μιας μεταλλικής ζώνης μεταφοράς. Το κλάσμα έκπλυσης της μεταφορικής ταινίας πλένει τα φύλλα με 20 ppm υποχλωρικό νάτριο με ψεκασμό. Αυτός ο ψεκασμός ακολουθείται από το λεγόμενο culling ή απόξεση της επιφάνειας για απομάκρυνση όλων των εναπομεινάντων εξογκωμάτων.



**Εικόνα 7.** Τα βήματα για την αρχική κατεργασία του ζελέ της αλόης

Οι συνθήκες στις οποίες η λάσπη είναι πρόβλημα μπορούν να επιλυθούν με την αύξηση του δοχείου του δοχείου πλύσης. Επίσης, ένας απαλός ξεστήρας μπορεί να προστεθεί στην γραμμή έκπλυσης για να βοηθήσει την απομάκρυνση του χώματος. Ωστόσο η καλύτερη λύση είναι να προστεθεί ένα προ-δοχείο πλύσης που να μην στοχεύει στην απολύμανση σχεδόν στο μισό μέγεθος



της χωρητικότητας του δοχείου που διενεργεί την απολύμανση. Αυτό κυρίως απομακρύνει την βρωμιά ή έμφυτες σκόνες και/ή άμμο δημιουργώντας περισσότερο ωφέλιμο χώρο για την διαδικασία απολύμανσης. Παρόλο που τα 200 ppm υποχλωριώδους μπορεί να φαίνονται μεγάλη ποσότητα από οξειδωτική ισχύ, πρέπει να θυμόμαστε ότι η ύλη του χύματος στα εδάφη που ξεπλένονται από τα φύλλα αποτελείται από μία σημαντική είσοδο από αναγωγικά υλικά. Εάν υπάρχει σημαντική λάσπη έμφυτη στα φύλλα, τότε αυτό το υποχλωριώδες οξειδωτικό θα καταναλωθεί τάχιστα. Ως εκ τούτου κάτω από λασπώδης συνθήκες ένα δοχείο πρόπλυσης αποτρέπει την ανάγκη για συχνές προσθήκες υποχλωριώδους. Για την παρακολούθηση της οξειδωτικής ισχύς στο δοχείο πλύσης, ένα kit ελέγχου χλωρίνης, που σχεδιάστηκε για χρήση σε πισίνες κολύμβησης προσφέρει μια μέθοδο χαμηλού κόστους για τον έλεγχο της επάρκειας υποχλωριώδους σε ένα δοχείο πλύσης.

Κάτωθι από την συναρμολογημένη διάταξη έκπλυσης (**Διεργασία Β**) πρέπει να υπάρχει μία περιοχή, όπου τα τραυματισμένα φύλλα ή τα φύλλα που έχουν κάποιο παράξενο χρώμα, να απορρίπτονται. Η απόρριψη –ή αλλιώς θανάτωση, που μεταφράζεται το culling- πρέπει να γίνεται από διαφορετικό προσωπικό υπεύθυνο για το φιλετάρισμα. Και αυτό γιατί η πίεση παραγωγής για το πλήρωμα του φιλεταρίσματος είναι να μεγιστοποιεί την έξοδο-ποσότητα του χυμού. Εάν είναι επίσης υπεύθυνο αυτό το πλήρωμα για το σημαντικό θέμα να διατηρούν την ποιότητα, τότε θα ήταν αναγκασμένο να απορρίπτει ολοένα και λιγότερα φύλλα με σκοπό να διατηρούν την ταχύτητα και να αυξάνουν το ποσό του προϊόντος. Είναι καλύτερο να υπάρχουν διαφορετικές ομάδες εργατών που να εξασκούν αντιτιθέμενες λειτουργίες, την θανάτωση με στόχο την μεγιστοποίηση της ποιότητας φύλλων εναντίον του φιλεταρίσματος με στόχο την μεγιστοποίηση παραγωγής φιλέτων ζελέ. Εάν ένα και το ίδιο σύνολο ανθρώπων εκτελεί λειτουργίες με αντιτιθέμενους στόχους τότε αυτό συνεπάγεται σε συμβιβασμό, όπου η ποιότητα θυσιάζεται με σκοπό την αύξηση της απόδοσης.


Το προϊόν αυτής της διεργασίας είναι πλυμένα φύλλα (εικόνα 7, **Προϊόν C**). Η συντριπτική πλειονότητα των πλυμένων φύλλων κατεργάζεται περεταίρω είτε φιλετάροντάς τα σε ζελέ είτε αλέθοντάς τα σε έναν ολόκληρου φύλλου χυμό. Ωστόσο, την τελευταία δεκαετία, αναδύθηκε μία αγορά για πλυμένα φύλλα. Αυτά πωλούνται περίπου \$2,00 ανά lb (για τις Η.Π.Α. \$4,00/kg), στην φρέσκια, κατεψυγμένη κατάσταση. Αρχικά αυτά τα φύλλα πωλούνταν μόνο σε ειδικά ισπανικά καταστήματα, αλλά με τον καιρό που γράφεται αυτή η εργασία η ζήτηση φύλλων έχει αυξηθεί τόσο σε μεγάλες πόλεις των Η.Π.Α. όσο και στην Ευρώπη.



**Εικόνα 8.** Φρέσκα φύλλα *Aloe barbadensis* Miller πωλούνται πλέον μαζί με τα συνήθη λουλούδια.  
[http://hkhousewife.files.wordpress.com/2010/10/img\\_1626.jpg](http://hkhousewife.files.wordpress.com/2010/10/img_1626.jpg)

### ☑ Φιλετάρισμα και Αποχύμωση

Το επόμενο βήμα της κατεργασίας είναι η παραγωγή των φιλέτων του ζελέ (εικόνα 7, Προϊόν F). Η ποικιλία RGV της *Aloe barbadensis* Miller διακρίνεται από τις άλλες καλλιέργειες στο ότι τα είδη της διαθέτουν πολύ μεγαλύτερα φύλλα. Αυτά είναι γνωστό να προσεγγίζουν τα 1300 γραμμάρια σε περιοχές που οι βροχοπτώσεις είναι άφθονες (200 cm ετησίως), το άζωτο είναι επαρκές (0,50%+) και τα εδάφη είναι καλά αποσταγγιζόμενα. Αυτά τα φύλλα είναι τόσο μεγάλα έτσι ώστε η αποδοτικότητα απόδοσης του ζελέ αφαιρώντας τον πράσινο επιδερμικό οστό να είναι μεγάλη.

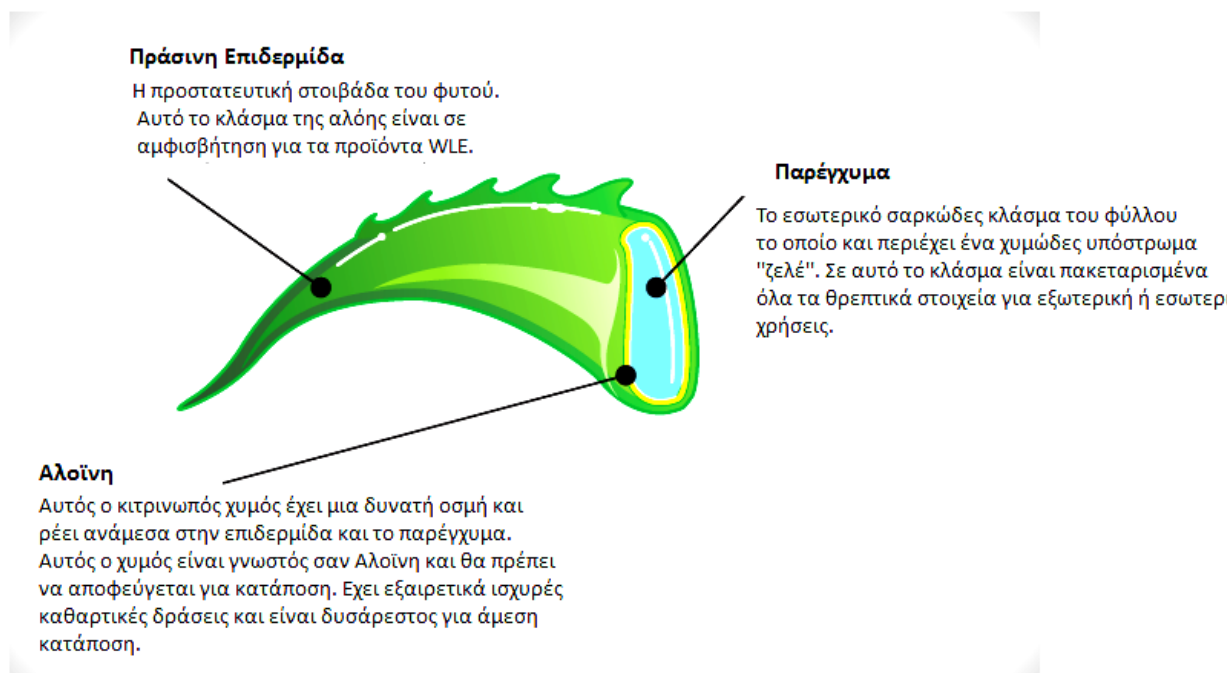
 Η χρήση του όρου «ζελέ» είναι ένα ζήτημα φιλονικίας ανάμεσα στην βιομηχανία αλόης και την επιστημονική κοινότητα. Περιγράφοντας πολύ σωστά, η επιστημονική κοινότητα διατηρεί τον όρο ζελέ σε εκείνα τα υλικά που είναι **ψευδοπλαστικά**. Γενικά, εκείνα τα υλικά έχουν αυξημένο ιξώδες σε υδατικά διαλύματα στο εύρος 0,05 σε 0,5 g ανά 100 mL (0,05 σε 0,5% ολικά στερεά). Το IASC ορίζει τον όρο «ζελέ της αλόης» σαν εκείνο το υδατικό-άσπρο εκχύλισμα της *Aloe barbadensis* Miller χωρίς να λαμβάνει υπόψη την ψευδοπλαστικότητα. Ο Διαχειριστής Τροφίμων και Φαρμάκων -FDA-, αναγνωρίζει τον όρο «ζελέ» με την σημασία που υιοθετείται από την επιστημονική κοινότητα και όχι του IASC. Θα χρησιμοποιούμε τον όρο ζελέ για να υποδηλώσουμε την επιστημονική σημασία και τον όρο «ζελέ» για να υποδηλώσουμε την σημασία κατά IASC. Δηλαδή ισχύει:

**ζελέ (κατά επιστημονική θεώρηση) ≠ «ζελέ» (κατά θεώρηση κατά IASC)**

Σε πολλά από τα είδη αλόης οι ανθρακινόνες, χρωμόνες και όλα τα άλλα συστατικά συλλέγονται ως εξής:

- i. εκτέμνοντας τα φύλλα και συλλέγοντας το λατέξ που εκκρίνεται (Αλόες της νοτίου Αφρικής),
- ii. συλλέγοντας ολόκληρο το φυτό μαζί με τις ρίζες, ξηραίνοντάς το, και είτε το ολόκληρο φυτό είναι σαν κάψουλα είτε εξαγοντας την σκόνη του (ειδικότερα στην *Aloe arborescens* Miller),
- iii. άλεση των φρέσκων συλλεγμένων φύλλων και κατεργασία τους για την εξαγωγή του «ζελέ» (ειδικότερα στις *Aloe barbadensis* ή *Aloe arborescens*), το επίσης καλούμενο Εξαγόμενο Ολόκληρου Φύλλου –Whole Leaf Extract, WLE- και
- iv. άλεση και εξαγωγή της πράσινης επιδερμίδας (ένα παραπροϊόν του φιλέτου των *Aloe barbadensis*).

Ωστόσο, είναι μόνο τα φύλλα της *Aloe barbadensis* που είναι τόσο μεγάλα για να παράγουν οικονομικά ωφέλιμα φιλέτα ζελέ. Ανατομικά, τα φύλλα της *Aloe barbadensis* χωρίζονται σε τρεις ζώνες: την πράσινη επιδερμίδα, το μεσόφυλλο και τον ζελέ (εικόνα 9).



**Εικόνα 9.** Τομή της *Aloe barbadensis* Miller.

<http://www.aloebarn.com/articles/aloe-vera-basic-anatomy>

Η πράσινη επιδερμίδα περιέχει πολλαπλές στοιβάδες. Πρώτα βρίσκεται η εξωτερική κηρώδης εφυμενίδα, που δρα σαν φράγμα κατά της απώλειας υγρασίας. Μόλις κάτω από την εφυμενίδα βρίσκεται μια περιοχή όπου κατοικούν τα σχετιζόμενα με την αλόη βακτήρια. Στην συνέχεια απαντάται η στοιβάδα πλούσια χλωροπλαστών όπου ο κύριος όγκος φωτοσύνθεσης επιτελείται. Αυτός ο δακτύλιος είναι πλούσιος οξαλικού οξέος. Μόλις κάτω από αυτόν τον δακτύλιο εντοπίζεται το μεσόφυλλο. Αυτό περιέχει το ξύλωμα και το φύλλωμα με τις αγγειακές δέσμες τους. Το μεσόφυλλο περιέχει την υψηλότερη συγκέντρωση ανθρακινονών και χρωμονών. Ενυπάρχει η εικασία ότι αυτοί οι δευτερογενείς μεταβολίτες λειτουργούν σαν προστατευτικά ενάντια στα φυτοφάγα. Όταν το φυτό είναι επαρκώς ποτισμένο το μεσόφυλλο μπορεί να φύγει με μεγάλη ευκολία μαζί με την επιδερμίδα από τα φιλέτα παρεγχύματος εάν δοθεί επαρκής προσοχή. Ως εκ τούτου το κλάσμα της επιδερμίδας (εικόνα 7) όταν εξάγεται σωστά, περιέχει τόσο το πράσινο τμήμα όσο και τμήματα μεσόφυλλου. Αυτό το υλικό έρχεται δεύτερο σε εξίδρωμα ως προς τα βιολογικά ενεργά συστατικά των ανθρακινονών και των χρωμονών. Αυτό οφείλεται στο ότι το υλικό με την μεγαλύτερη συγκέντρωση ανθρακινονών είναι το κιτρινωπό υγρό που εξάγεται από την πρώτη εκτομή ενός φύλλου. Το υλικό της εικόνας 7 που αναφέρεται στην πράσινη επιδερμίδα γενικά απορρίπτεται σαν παραπροϊόν και άρα θεωρείται μικρής αξίας. Επιπροσθέτως, εάν συλλεχθεί σωστά, χωρίς υπερβολική έκθεση σε οξυγόνο, φως και θερμότητα, απομονωμένο από τον δακτύλιο του παραπροϊόντος της επιδερμίδας, το εξίδρωμα αυτό μπορεί να εξαχθεί δίχως οι τετραϋδροξυανθρακινόνες να μετατραπούν στα κόκκινα οξειδωμένα προϊόντα ή διαφορετικά στα καφέ/ μαύρα πολυφαινολικά πολυμερή.

Ο ζελέ είναι το εσωτερικό κλάσμα του παρεγχύματος σε ένα φύλλο *Aloe barbadensis* Miller (εικόνα 9). Όταν παρασκευάζεται σωστά περιέχει δύο στοιχεία. Το ένα είναι το υγρό κλάσμα του ζελέ (εικόνα 7, Προϊόν Ι) και το άλλο είναι ο πλούσιος σε κυτταρίνη, ινώδης χυμός (εικόνα 7, Προϊόν Η). Η μεγάλη πρόκληση του συστήματος φιλεταρίσματος είναι η ικανότητά του να παρασκευάζει έναν ζελέ από φιλέτα με χαμηλή περιεκτικότητα σε ανθρακινόνες.

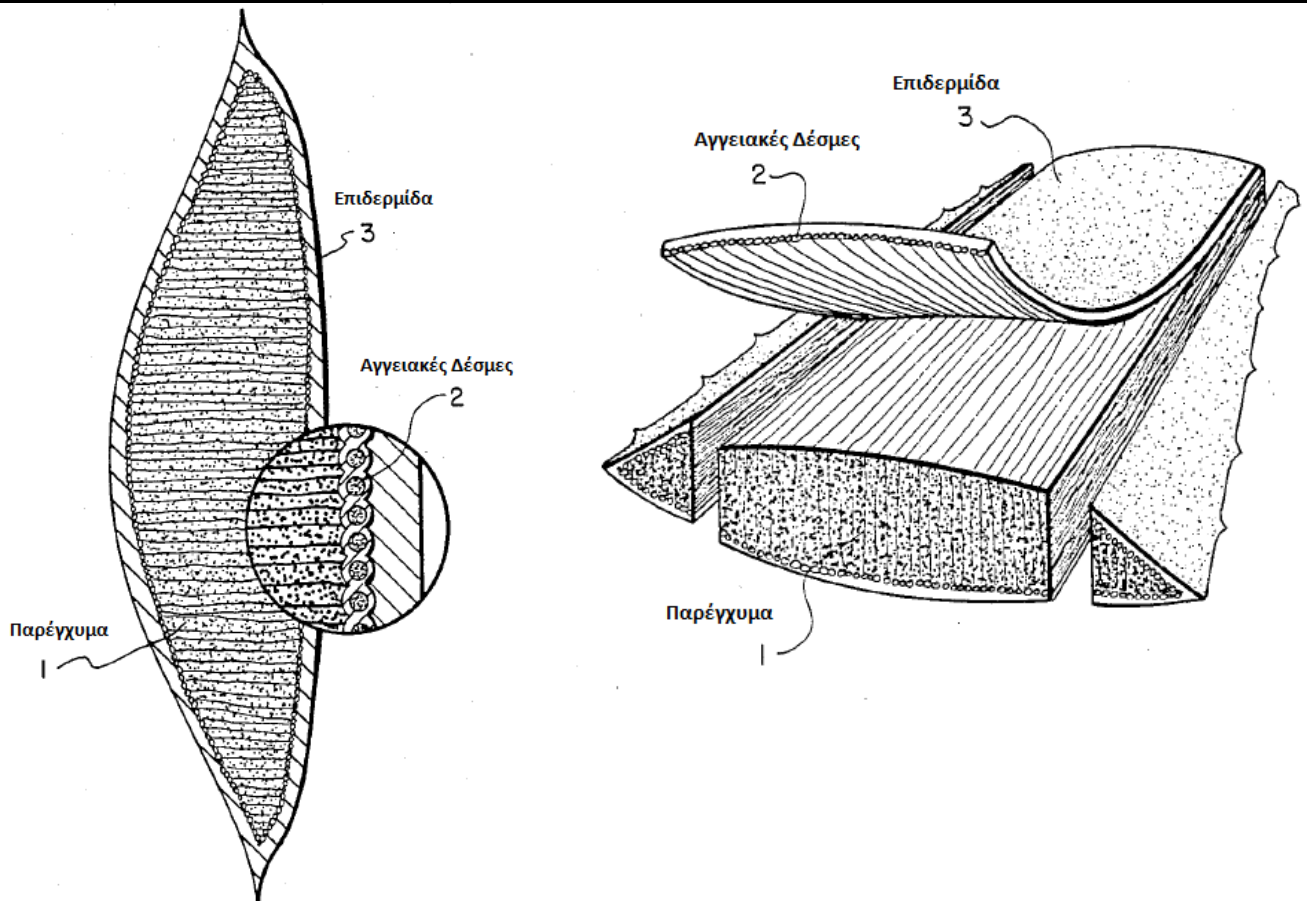
Το φιλετάρισμα επιτυγχάνεται με μία από τις δύο μεθόδους: χειροκίνητα με ένα κοφτερό κοπίδι (εικόνα 7, Διεργασία D) ή μηχανικά (εικόνα 7, Διεργασία E). Σε κάθε περίπτωση, αφαιρείται η

κορυφή των φύλλων, απομακρύνονται οι πλευρές με τα αγκάθια και κόβονται οι πλευρές adaxial και abaxial του φύλλου (εικόνα 10).

- **Χειροκίνητο φιλετάρισμα:** Η αποκοπή των δύο τελευταίων μερών μπορεί να γίνει είτε στο τραπέζι θανάτωσης –ο όρος culling εκφράζεται στα ελληνικά ίσως πολύ δραματικά αλλά περιγράφοντας τα τεκταινόμενα!- είτε με ένα σύρμα. Το φιλετάρισμα με το χέρι απαιτεί ένα μαχαίρι ανοξειδωτού χάλυβα, σε ένα τραπέζι ενός μέτρου σε μήκος με ανυψωμένες άκρες δέκα εκατοστών. Τα τραπέζια τείνουν να είναι 2 μέτρα και να φιλοξενούν 4, 6 ή 8 εργάτες. Η ροή των φιλέτων γίνεται στην κεφαλή του τραπεζιού, ενώ τα πράσινα τμήματα απορρίπτονται πλάγια. Φιλέτα που διαθέτουν εξίδρωμα στον ψευδοπλαστικό ζελέ τους απορρίπτονται κάτω από το τραπέζι σε ειδική διάταξη.
- **Μηχανικό φιλετάρισμα:** Το μηχανικό φιλετάρισμα προτείνεται τόσο από τον McAnalley (1988) όσο και από τον Thomson (1983) (εικόνα 11). Ο πρώτος χρησιμοποιεί μια γραμμή παραγωγής πιο φθηνή και πρακτική από τον δεύτερο σε όρους αύξησης της ποσότητας παραχής αλόης. Ο δεύτερος χρησιμοποιεί μια κάπως πολύπλοκη διάταξη αλλά η ποιότητα ζελέ του είναι καλύτερη, αφού οι διατάξεις του οδηγούν στην πλήρη απομάκρυνση της πράσινης επιδερμίδας. Σχετικά με την διάταξη του Thomson, το ποσοστό που υπάρχει μεσόφυλλο μέσα στον χυμό αλόης καθορίζεται από την πίεση των οδοντωτών κυλίνδρων. Δηλαδή εάν η πίεση είναι πολύ μεγάλη τότε θα επέλθει μόλυνση από τα συστατικά του εξιδρώματος. Αντιθέτως, αν η πίεση είναι χαμηλή τότε αχρηστεύεται το μεγαλύτερο ποσό του παρεγχύματος.

Η ικανότητα και το τελικό αποτέλεσμα και των δύο τρόπων φιλεταρίσματος είναι έντονα εξαρτημένο από το μέγεθος και ποιότητα των εισερχόμενων φύλλων μέσα στο σύστημα. Και στους δύο τρόπους η απόδοση σε ζελέ αυξάνει καθώς αυξάνει το μέγεθος των φύλλων. Δεν υπάρχει κάποιο εικονικό όριο περιορισμού για τα μεγέθη των φύλλων τα οποία να μπορούν να φιλεταριστούν χειροκίνητα. Ακόμα και φύλλα κάτω από 100 g από ένα διακοσμητικό οικιακό φυτό *Aloe barbadensis* Miller μπορεί να καθαριστούν με το χέρι και να χρησιμοποιηθεί άμεσα για εγκαύματα ή άλλα τραύματα. Ωστόσο αν τα φύλλα είναι 250 g ή και μικρότερα η απόδοση σε ζελέ είναι 33% (w/w) και ως εκ τούτου το εξαγόμενο ανά ώρα υγρό είναι πολύ μικρό. Τα μικρότερα φύλλα που πρακτικά μπορούν να φιλεταριστούν μηχανικά είναι το λιγότερο έως 150 g. Σε αυτό το μέγεθος μόνο το 25% του υγρού βάρους του φύλλου μπορεί να ανακτηθεί σαν ζελέ αποδίδοντας 37 g ανά φύλλο. Από την στιγμή που το αποτέλεσμα της μηχανής προσδιορίζεται ως φύλλα ανά λεπτό, η έξοδος των φιλέτων ζελέ ανά λεπτό για τα μικρά φύλλα θα είναι πολύ φτωχό. Για φύλλα 500 g η ανάκτηση αυξάνει στο 50-55% του βάρους του φύλλου, αποδίδοντας 250-275 g ζελέ ανά φύλλο. Για φύλλα 1000 g η απόδοση του ζελέ προσεγγιστικά είναι 75-80% ή 750 g ανά φύλλο. Από την στιγμή που δεν απαιτεί περισσότερο χρόνο το φιλετάρισμα ενός φύλλου 200 g απ' ότι ενός φύλλου 1000 g υπάρχει μία δυσανάλογη αύξηση στην απόδοση του ζελέ με το βάρος του φύλλου. Βάσει αυτού σε φύλλα από 300 έως 1000 g, μια τριπλάσια διαφορά στο βάρος, οδηγεί σε μία εξαπλάσια αύξηση στην έξοδο (105 g/φύλλο σε 650 g/φύλλο).

- ➔ Ένα κρυφό όφελος της σωστής αγρονομίας υπάρχει, όχι μόνο στην μεγαλύτερη καθαρή αύξηση του βάρους των φύλλων ανά στρέμμα, αλλά και μια ανάλογη αύξηση στην απόδοση του ζελέ και αύξηση στην ποσότητα παραγωγής χυμού φιλέτων.

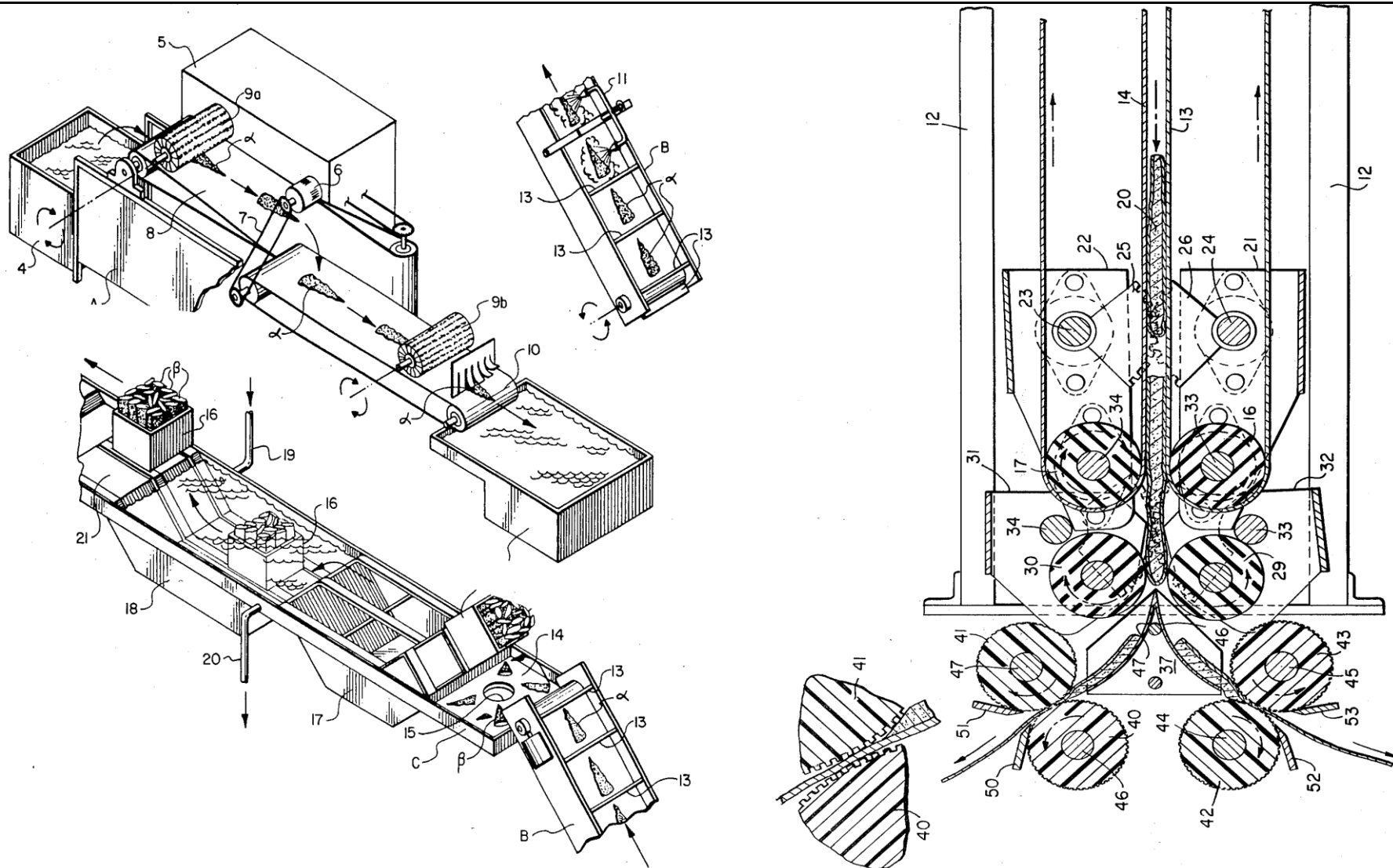


**Εικόνα 10.** Δύο παραστατικοί τρόποι φιλεταρίσματος των φύλλων της *Aloe barbadensis* Miller.

© Original Artist  
 Reproduction rights obtainable from  
[www.CartoonStock.com](http://www.CartoonStock.com)



search ID: rje0419



**Εικόνα 11.** Το σχήμα Προκατεργασίας των φύλλων της *Aloe barbadensis* Miller σύμφωνα με τους McAnalley (αριστερά) και Thomson (δεξιά).

Το επόμενο και τελευταίο βήμα της προκαταρκτικής κατεργασίας περιέχει την απομάκρυνση των κυτταρικών ινών από τον ζελέ των φιλέτων. Αυτό επιτυγχάνεται με το πολύ χοντρικό κόψιμο των φιλέτων που έχει την μορφή βιομηχανικής κλίμακας διάθεσης απορριμμάτων λόγω του μεγάλου όγκου των φιλέτων. Η βιομηχανία της αλόης σχεδόν αποκλειστικά χρησιμοποιεί αποχυμωτές κατασκευασμένους από της FMC Corporation στο San Jose της California, είτε το PF 200, είτε το MCF 200 ή το UCF-200A μοντέλο. Το 200 συμβολίζει το ονομαστικό μέγεθος πόρων, δηλαδή το προσεγγιστικό μέγεθος αποκλεισμού ινών σε μικρά. Σωματίδια μικρότερα των 200 μm θα περάσουν εύκολα από το τελικό κόσκινο του αποχυμωτή. Επιπλέον, αυτό το μέγεθος κόσκινου επιτρέπει την διαπερατότητα στον ψευδοπλαστικό ζελέ δίχως να διατέμνει τις μεγάλοι μοριακού βάρους ίνες και μειώνοντας το ιξώδες.

- ▶ Καθώς η διάμετρος των πόρων μειώνεται, είναι ολοένα και πιο δύσκολο να περάσει ο εκάστοτε ζελέ μέσα από το κόσκινο λόγω των μεγάλων αλυσίδων των μορίων. Αυτή η επίδραση είναι ανεξάρτητη από το ιξώδες αλλά είναι ισχυρά εξαρτώμενη από τον ρυθμό ροής και αυτό το γεγονός ορίζει τον όρο «ζελέ».



**Εικόνα 12.** Ένας αποχυμωτής της FMC Corporation. Δύναται να κατεργαστεί 20 με 60 τόνους/ ώρα. Μοντέλο του 1993 αλλά με πολλά πλεονεκτήματα τόσο στην συντήρηση όσο και στην απόδοση. <http://www.genemco.com/catalog/pdf/RCJF683fmcppaddlefinisherspecs.pdf>

Όλες αυτές οι επιδράσεις θα συζητηθούν λεπτομερέστερα στο φιλτράρισμα. Η απομάκρυνση των ινών αποδίδει ένα ακατέργαστο προϊόν ζελέ (εικόνα 7, Προϊόν Ι). Με τον ακατέργαστο ζελέ, σαν ζελέ φιλέτων (εικόνα 7, Προϊόν F), το προκείμενο υλικό είναι ένα ενδιάμεσο και δύναται να αποτελέσει ένα εμπορικό προϊόν. Η επιθυμία αυτού του προϊόντος είναι κατανοητή από την στιγμή που ο ακατέργαστος «ζελέ αλόης» είναι πολύ κοντά στον καθαρό ζελέ. Ένα μικρό ποσό από ακατέργαστο ζελέ πωλείται έτσι όπως είναι, δίχως την απομάκρυνση των βακτηρίων με θερμότητα ή φιλτράρισμα. Συντηρητικά όπως θειώδη ή βενζοϊκό νάτριο προστίθενται με σκοπό την πρόληψη της βακτηριακής μόλυνσης και εξάπλωσης. Παράγοντες, όπως σορβικό, κιτρικό και ασκορβικό προστίθενται με σκοπό την αποφυγή της οξείδωσης. Δυστυχώς αυτά τα δύο προβλήματα δεν επιλύονται εύκολα χωρίς την κατανόηση και επίθεση στις ρίζες του προβλήματος, που είναι τα βακτήρια και οι ανθρακινόνες.

➔ Η επιμόλυνση με διάφορους παράγοντες περιορίζει την χρησιμότητα του ακατέργαστου ζελέ.

Σε επιστημονικές μελέτες έχει μελετηθεί πολύ καλά ο ακατέργαστος ζελέ. Έχει επιλυθεί το πρόβλημα της σταθεροποίησης με ξήρανση υπό κατάψυξη απευθείας από τον ακατέργαστο ζελέ-ARF **Διεργασία Α**. Αυτό απαιτεί το μονοπώλιο μιας μηχανής \$650.000 για 60 ώρες για να σταθεροποιηθεί ποσότητα 100 λίτρων ακατέργαστου ζελέ που κοστίζει \$300 στην χονδρική αγορά που δεν αποτελεί καλή επιστροφή για επένδυση. Ως εκ τούτου, σε διάφορες δημοσιεύσεις έχει γίνει αντικείμενο έμφασης η ARF **Διεργασία Α** για την κατανόηση του ζελέ της αλόης στην πρωτογενή του κατάσταση, ο οποίος δεν είναι οικονομικά εφικτό προϊόν. Προτού οδηγηθούμε στην Ενδιάμεση Κατεργασία, θα συζητηθεί ένα δεύτερο τμήμα του δρόμου από το φύλλο στον χυμό- η άλεση ολόκληρου του φύλλου αντί του διαχωρισμού.

#### ☑ **Τεμαχισμός, Άλεση και Εκχυλίσματα Ολόκληρου φύλλου**

Η παράδοση για την Παρασκευή ζελέ φιλέτων από φύλλα αλόης πηγαίνει πίσω 70 χρόνια στις πρώτες μέρες των Hilltop Gardens όπου η *Aloe barbadensis* Miller εμφανίζεται να είναι το πρώτο εμπορικώς καλλιεργημένο φυτό. Κάποια στιγμή μέσα στα προηγούμενα 30 χρόνια και πριν το 1989, μία δεύτερη μέθοδος κατεργασίας αναπτύχθηκε με άλεση ολόκληρου του φύλλου ακολουθούμενου από εκτενή κατεργασία με ενεργό άνθρακα για την απομάκρυνση των ανθρακινονών. Αυτά τα υλικά ονομάστηκαν «Εκχυλίσματα Ολόκληρου Φύλλου-ΕΟΦ» ή «Αλόη Ολόκληρου Φύλλου-ΑΟΦ» και είναι σημαντικά πιο φθηνά από τον ζελέ των φιλέτων για δύο λόγους:

- 1<sup>ο</sup>, η εντατική δουλειά και χρόνος που καταναλώνεται για την διεργασία του φιλεταρίσματος αποφεύγεται και
- 2<sup>ο</sup>, οι περιορισμοί για την ανάκτηση ζελέ από τα μικρά φύλλα αποσοβείται.

Με την άλεση φρέσκων φύλλων, ο «ζελέ» μπορεί πολύ αποδοτικά να εξαχθεί και από φύλλα μικρά σαν 100 ή 200 g. Καθώς τα φιλέτα του ζελέ φαίνεται να έχουν αυξηθεί από την Ισπανική RGV παράδοση του φιλεταρίσματος για την επίθεση στο δέρμα ή την προσθήκη στο τσάι, το ίδιο έχει συμβεί και για τα ΕΟΦ που είναι πιο κοντά στην Ανατολίτικη Παράδοση της ξήρανσης ολόκληρου του φυτού της αλόης, ειδικότερα της *Aloe arborescens*, αλέθοντάς της σαν σκόνη και προστέθοντάς της σαν τονικό στα ποτά για αύξηση της ενεργητικότητας και της ακμαιοτήτας.

Όπως αναφέρεται παραπάνω, παρόλο που η διεργασία ΕΟΦ υιοθετήθηκε από την βιομηχανική πράξη πολύ πριν ο Coats εφαρμόσει για τον προκάτοχό του στην πατέντα του υπ' αριθμόν 811 το 1992, η περιγραφή του ΕΟΦ είναι εύστοχη. Στο "*Detailed Description of the Preferred Embodiment*", ο Coats περιγράφει το πώς τα φύλλα απολυμαίνονται, τεμαχίζονται και αλέθονται. Η περιγραφή του τεμαχισμού και της διάτμησης 1000 lbs (περίπου μισός τόνος) των φύλλων σε έναν 12 ιντσών (30 cm) Fritz Mill μέσα σε ένα ή δύο λεπτά είναι σε συμφωνία με αυτό που έχει δείξει η βιομηχανία. Οι Todd A. Waller, Ronald P. Pelley και Faith M. Strickland καλούν αυτό το κομμένο υλικό γουακαμόλη-guacamole- σε αναλογία με τον ξεφλουδισμένο, αποσποριωμένο και χτυπημένο χυμό από αβοκάντο. Σαν την αληθινή γουακαμόλη, το κομμένο φύλλο αλόης θα υποβαθμιστεί τάχιστα μετά από παρασκευή και έκθεση σε αέρα, εκτός αν η βακτηριακή εξάπλωση καθυστερηθεί και η οξειδωση αποφευχθεί. Μια πολύ περιορισμένη ποσότητα του ζελέ της *Aloe barbadensis* Miller πωλείται σε αυτήν την μορφή, χρησιμοποιώντας διάφορα συντηρητικά και αντιοξειδωτικά για την καθυστέρηση της μόλυνσης.

- ➔ Ωστόσο, εάν οι δυσκολίες για την σταθεροποίηση του ζελέ είναι σημαντικές, οι δυσκολίες για την πρόληψη της μόλυνσης των ΕΟΦ με συντηρητικά θα είναι από μόνη της μια σημαντική πρόκληση. Σαν συμπέρασμα αυτού η αγορά της γουακαμόλης είναι μικροσκοπική.



Το επόμενο στάδιο της προκαταρκτικής κατεργασίας των ΕΟΦ μετατρέπει την "γουακαμόλη" των φιλέτων της αλόης σε "ζελέ". Η πρώτη διεργασία που διενεργείται σε αυτήν την μετατροπή καλείται «**αποχύμωση**» (εικόνα 13). Ωστόσο αυτή δεν είναι καθόλου απλή διαδικασία όπως περιγράφηκε παραπάνω λόγω του ότι η γουακαμόλη του φρέσκου, ακατέργαστου ΕΟΦ έχει ένα περιεχόμενο σε ίνες εκατοντάδες φορές περισσότερο απ' ό,τι το περιεχόμενο σε ίνες του ακατέργαστου ζελέ φιλέτων. Σαν αποτέλεσμα είναι προς καταναλωτικό ενδιαφέρον να μειωθούν το ιζώδες και το περιεχόμενο σε ίνες μέσω «ανάμιξης των ΕΟΦ με ένα συστατικό που να διασπά τις κυτταρίνες» (Coats, 1994). Ο Coats προτείνει την χρήση της κυτταρινάσης 4000, μία εξαιρετική μερικώς καθαρισμένη κυτταρινάση από τον μύκητα *Trichoderma reesei* σε δόσεις των 20 g ανά 55 γαλόνια (215 λίτρα) ακατέργαστου ΕΟΦ. Παρόλο που ο Coats δεν προσδιορίζει τον χρόνο και την θερμοκρασία αυτής της διεργασίας, η γουακαμόλη της αλόης συνήθως κρατείται με ανάδευση στους 23 με 35°C μέχρι η ψευδοπλαστικότητα να σπάσει –συνήθως 1 με 2 ώρες-. Αυτή η κατεργασία σίγουρα μειώνει το περιεχόμενο ινών και το ιζώδες των ΕΟΦ, αλλά και του επιτρέπει να περάσει εύκολα από τον αποχυμωτή. Ωστόσο, υπάρχουν και άλλες συνέπειες αυτού του χειρισμού με κυτταρινάση, όπως θα δούμε παρακάτω. Το προϊόν του αποχυμωτή είναι ένα κίτρινο υγρό με περιεχόμενο στερεών από 1 έως 2 g/ dl και το ιζώδες του είναι λίγο μεγαλύτερο του νερού.

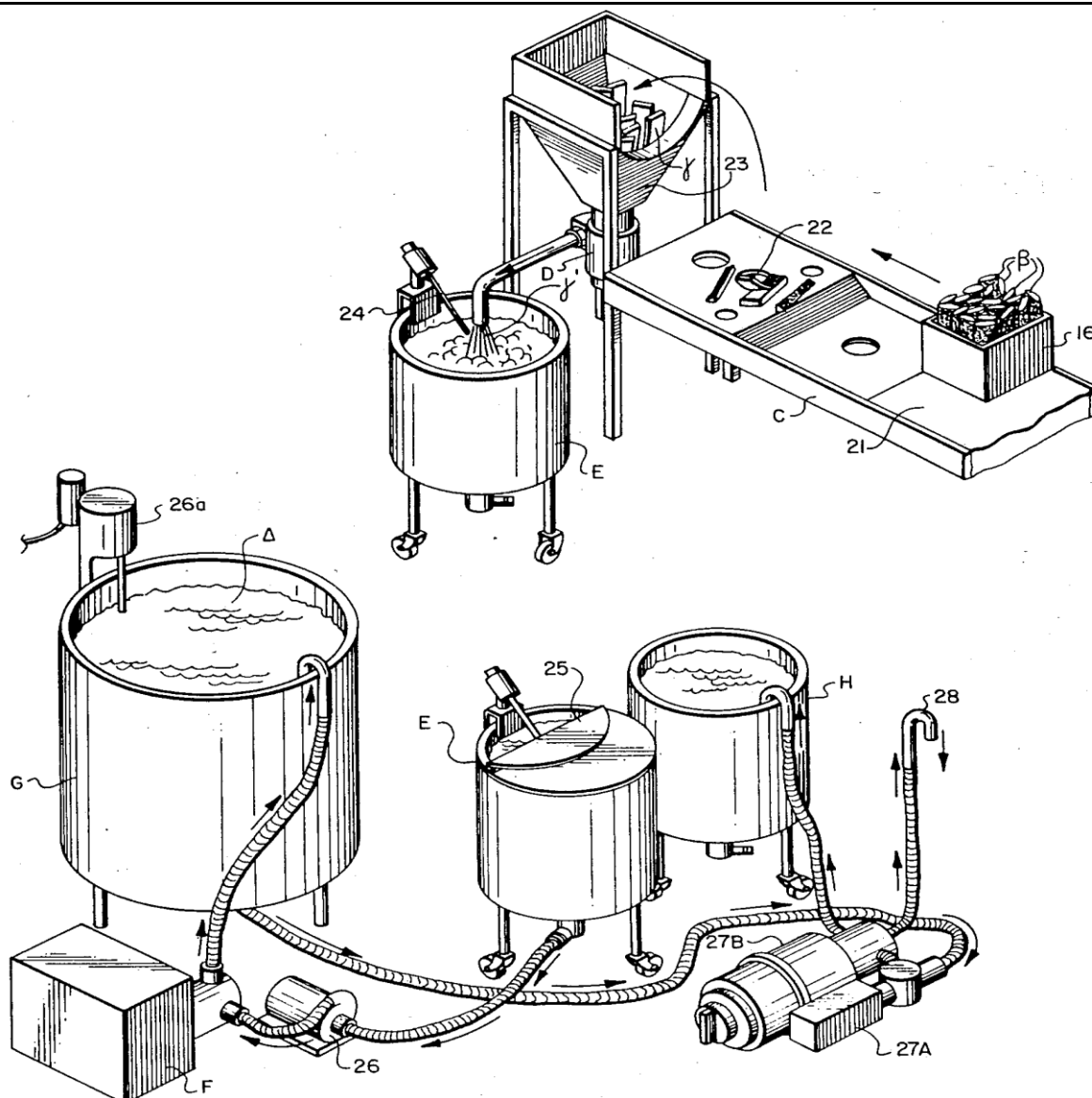
Το προηγούμενο παράδειγμα αποτυπώνει τα πλεονεκτήματα της διεργασίας ΕΟΦ που είναι ταχύτητα και οικονομία. Ένα ή δύο λεπτά άλεσης των ΕΟΦ μπορούν να συγκριθούν με μία ή δύο ώρες να απαιτούνται από 6 εργάτες να φιλετάρουν χειρονακτικά τον μισό τόνο του ίδιου υλικού. Το μηχανικό φιλετάρισμα απαιτεί 15 με 25 λεπτά για την κατεργασία μισού τόνου υλικού, εξαρτώμενου του μεγέθους των φύλλων και τον σχεδιασμό της μηχανής. Η παραγωγής ΕΟΦ επιβάλλει, ούτε το κόστος κεφαλαίου της μηχανής φιλεταρίσματος Thomson αλλά και ούτε τα έξοδα εργασίας για το χειρονακτικό φιλετάρισμα. Η μία ή δύο ώρες αναμονής ανάδευσης της γουακαμόλης από την αλόη με την κυτταρινάση είναι το μόνο προφανές σημείο καθυστέρησης.

Οι περιορισμοί της διεργασίας ΕΟΦ είναι υποδεέστεροι.

- Υψηλό περιεχόμενο βακτηρίων των ΕΟΦ σημαίνει ότι οι μέθοδοι απομάκρυνσης των βακτηρίων πρέπει να είναι  $\times 1000$  φορές πιο ισχυρές από αυτές που εφαρμόζονται στα υψηλής ποιότητας φιλέτα ζελέ.
- Τα ΕΟΦ είναι πιο πλούσια σε οξαλικό οξύ, το οποίο είναι απόν ή ελάχιστο στον ζελέ των φιλέτων του παρεγχύματος.
- Τα ΕΟΦ είναι  $\times 10$  φορές πλουσιότερα σε ανθρακινόνες, από τον ζελέ των καθαρών φιλέτων. Αυτό σημαίνει ότι η απομάκρυνση των ανθρακινονών είναι υποχρεωτική.

Τελευταία οι επιδράσεις της κυτταρινάσης είναι πολύ πιο προφανείς απ' ό,τι είναι προβλέψει ο Coats.

- ▶ Από την στιγμή που τα ΕΟΦ ολοκληρώνονται, οι πολυσακχαρίτες τους έχουν καταστραφεί και επομένως δεν μπορεί πλέον να χαρακτηρίζονται με το όρο «ζελέ».



**Εικόνα 13.** Η παραγωγή των φιλέτων και η χοντροειδής άλεση των φύλλων της αλόης (πάνω σχήμα) και η ομογενοποίηση με την προαιρετική διήθηση. (McAnalley, 1988)

#### ✚ Ενδιάμεση Κατεργασία-περί Βακτηρίων και Επιμολύνσεων

Σχεδόν πριν από μια δεκαετία, παρατηρήθηκε το εξής μοτίβο κατά την διάρκεια των μελετών της βιολογικής δραστηριότητας της **Διεργασίας Α** του ακατέργαστου ζελέ της αλόης (Strickland, Waller και Pelley, μη δημοσιευμένα αποτελέσματα) (πίνακας 6).

Αυτό υποδεικνύει ότι το βιολογικά ενεργό υλικό της αλόης δεν μπορεί να είναι αξιόπιστο για αναπαραγωγή εκτός αν η βακτηριακή εξάπλωση μπορεί να ελεγχθεί πριν από την κατεργασία. Τα βακτήρια μπορούν μονό να ελεγχθούν με την κατανόησή τους και το περιβάλλον στο οποίο ζουν. Ως εκ τούτου αυτός ο τομέας χωρίζεται σε δύο μέρη, την μικροβιολογία την αλόης (υποκεφάλαιο 4), και το πώς θα επιτευχθεί ο έλεγχος των μικροοργανισμών που σχετίζονται με την αλόη.

Η ενδιάμεση κατεργασία περιλαμβάνει κυρίως την **καταστροφή των βακτηρίων και των μυκήτων**. Παρακάτω σκιαγραφούνται οι διάφορες διεργασίες για την μείωση των μικροοργανισμών στην αλόη (πίνακας 7).

**Πίνακας 6.** Η σχέση ανάμεσα στο βακτηριακό περιεχόμενο του φρέσκου ζελέ της *Aloe barbadensis* Miller και η ικανότητα να προστατεύσει το ανοσοποιητικό σύστημα του δέρματος από την καταστολή του από τις UVB

Παρτίδα αλόης	Μορφή	Βακτηριακό περιεχόμενο - αριθμός οργανισμών / g ζελέ	Προστατευτική ικανότητα
1	Ζελές Διεργασίας Α	<4.000	42-100%
2	Ζελές Διεργασίας Α	10.000	50-100%
3	Ζελές Διεργασίας Α	>100.000	Καμία

Ένας τρόπος για να εκτιμήσουμε την ένταση του προβλήματος της μικροβιακής μόλυνσης της αλόης είναι να εξετάσουμε την ιστορία των πατέντων σχετικά την σταθεροποίηση. Υπάρχουν πολλές πατέντες και εάν κανείς εξετάσει αυτές που δούλεψαν καλά δεν θα του μείνουν τελικά παρά μόνο ελάχιστες. Παραδείγματα αυτών βρίσκονται παρακάτω:

Διαβάζοντας τόσο τις προδιαγραφές όσο και τους ισχυρισμούς σε λεπτομέρεια, κανείς εκπλήσσεται από την έλλειψη ενεργοποίησης αιτιολόγησης στα διάφορα δημοσιεύματα. Τα παραδείγματα περιέχουν ούτε τουλάχιστον μια απλή χημική ανάλυση αλλά και ούτε μία βιολογική ανάλυση. Στις πατέντες των Maret, Cobble και Coats, η διαφορά ανάμεσα στις επιδράσεις οξειδωσης στις ανθρακινόνες και η βακτηριακή επιμόλυνση δεν είναι ξεκάθαρα. Υπάρχει μια εντύπωση πολλών φωτεινών αλλά μη επικυρωμένων σκέψεων. Το πρακτικό αποτέλεσμα αυτού είναι ότι περισσότερο από 90% του υλικού της *Aloe barbadensis* είναι παστεριωμένο. Διαφορετικές μορφές παστερίωσης παραμένουν στην καρδιά της ενδιάμεσης κατεργασίας της αλόης. Από εδώ και στο εξής θα θεωρούμε μόνο τα βακτήρια μόνο αφού η επιφορτισμένη μούχλας αλόη δεν θα πρέπει να επιτρέπεται σε ένα σωστό εργοστάσιο κατεργασίας. Όταν η μουχλιασμένη αλόη παρατηρείται, το υλικό πρέπει να απομακρύνεται εκ της περιοχής με μικρή πρόσμιξη από ανατάραξη και το περιβάλλον του αντίστοιχου εξοπλισμού θα πρέπει άμεσα να απολυμαίνεται.

➔ Κάτω από καμία περίπτωση δεν θα πρέπει να επιχειρείται η επεξεργασία μουχλιασμένης αλόης. Ακόμα και η θανάτωση των βλαστικών μορφών δεν καταστρέφει το ίδιο και τα σπόρια.

**Πίνακας 7.** Τεχνολογικές εξελίξεις στην Σταθεροποίηση του ζελέ της *Aloe barbadensis*

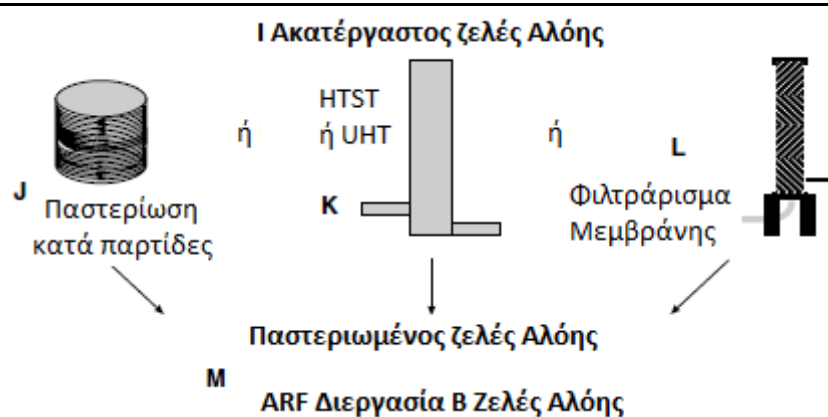
Εφευρέτης	Ημερομηνία αναφοράς	Ισχυριζόμενο τεχνολογικό επίτευγμα
Farkas	1963	U.S. Patent No. 3.103.466 Παστερίωση
Farkas	1967	U.S. Patent No. 3.360.511 Παστερίωση
Farkas	1968	U.S. Patent No. 3.362.951 Παστερίωση
Maret	1975	U.S. Patent No. 3.878.197 Υπεριώδεις ακτινοβολία, θερμοκρασία περιβάλλοντος
Cobble	1975	U.S. Patent No. 3.892.853 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + θερμότητα + αντιοξειδωτικό
Coats	1979	U.S. Patent No. 4.178.372 Cobble πολύ μικρές τροποποιήσεις
McAnnelley	1988	U.S. Patent No. 4.735.935 Απολύμανση με γ ακτινοβολία ή μικροκύματα
Coats	1994	U.S. Patent No. 50356.811 Οξείδωση + Φιλτράρισμα μεμβράνης

Η **παστερίωση κατά παρτίδες** σε ανοιχτούς βραστήρες είναι μια παραδοσιακή μέθοδος για την μείωση των βακτηριακών αριθμών (εικόνα 14 ,**Διεργασία J**). Συνήθως 100 με 2.000 γαλιόνια (400 με 8.000 λίτρα) τροφοδοτούνται μέσα στον επενδυμένο με ατμό, ηλεκτρικά θερμαινόμενο ή θερμαινόμενο με αέριο βραστήρα και η θερμοκρασία ανεβαίνει στους 65° (150°F). Παραμένοντας σε αυτήν την θερμοκρασία μπορεί να πάρει από 15 έως 60 λεπτά εξαρτημένου του εξοπλισμού που χρησιμοποιείται στην εγκατάσταση του εξοπλισμού. Σε κανονική παστερίωση το υλικό κρατείται στους 65°C για 15 λεπτά. Σε μικρότερα δοχεία αφήνεται πιο μετά να κρυώσει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος με ακτινοβολία και /ή συναγωγή. Σε μεγαλύτερα δοχεία, εναλλάκτες θερμότητας επιστρατεύονται για την πιο γρήγορη μείωση της θερμοκρασίας του ζελέ στο σημείο που να δύναται πλέον να είναι εύκολα χειριζόμενος. Κατά την διάρκεια αυτών των διεργασιών θέρμανσης και ψύξης ο βραστήρας είναι καλυμμένος, παρόλο που καμία προσπάθεια για αποκλεισμό του οξυγόνου δεν επιχειρείται. Ανάδευση σάρωσης υιοθετείται, με σκοπό να επιταχυνθούν οι αλλαγές θερμοκρασίας με την καλύτερη επαφή των ψυχρών και των θερμών φάσεων. Συχνά ο αποχρωματισμός, ενεργοποιείται με απορρόφηση σε ενεργό άνθρακα, και συμβαίνει μετά από την λήψη της διεργασίας θέρμανσης και ξεκίνημα της διεργασίας ψύξης.

Ωστόσο, δεν είναι σπάνιο ότι οι υπεύθυνοι επεξεργασίας να χρησιμοποιούν έξυπνα την βακτηριολογία για να θεσπίσουν παραμέτρους για την παστερίωση πριν από την οποιαδήποτε εκτέλεση κατεργασίας και τον μεταγενέστερο έλεγχο ποιότητας της αλόης για βακτήρια.

► Υπάρχει αρκετός χρόνος ανάμεσα στην υποδοχή του ζελέ στο εργοστάσιο κατεργασίας, και την έναρξη της ενδιάμεσης κατεργασίας για να επιτραπεί η αναμενόμενη βακτηριολογία που θα εφαρμοστεί.

Ωστόσο, εάν ο ακατέργαστος ζελέ είναι υπό καλλιέργεια κάτω από μία ρουτίνα και η εικόνα των εισερχόμενων ακατέργαστων υλικών είναι γνωστή, τότε η παστερίωση μπορεί να ρυθμιστεί σε μία μέση τιμή και να προβλεφθεί το βακτηριακό περιεχόμενο του εισερχόμενου ζελέ. Στην πραγματικότητα μια θερμοκρασία 65°C είναι σπάνια χρησιμοποιήσιμη στην βιομηχανία λόγω του ότι είναι σπάνιο για έναν ακατέργαστο χυμό αλόης να έχει τιμή μικρότερη από 100.000 CFU/mL. Ακόμα, μετρίως υψηλές συγκεντρώσεις οργανισμών ( $10^6$ / mL) μπορούν να αποτελέσουν μια ανεπαρκή παστερίωση κάτω από κανονικές συνθήκες (65°C για 15 min). Πολλές βιομηχανίες ως εκ τούτου υιοθετούν παρατεταμένο κύκλο παστερίωσης και υψηλές θερμοκρασίες σε ξεσκέπαστους βραστήρες έτσι ώστε να διασφαλίσουν την ολοσχερή καταστροφή των βακτηρίων. Τα αποτελέσματα αυτής της συμπεριφοράς θα συζητηθούν παρακάτω.



**Εικόνα 14.** Μέθοδοι για την καταστροφή των μικροοργανισμών

Ο αριθμός βακτηρίων των Εκχυλισμάτων Ολόκληρου Φύλλου είναι τόσο υψηλοί που οι κανονικές συνθήκες παστερίωσης αποτυγχάνουν να τους αντιμετωπίσουν. Ο μικρότερος αριθμός που παρατηρήθηκε σε ακατέργαστο εκχύλισμα είναι  $\geq 35.000$  CFU/mL με συνήθη τον αριθμό 500.000CFU/mL. Αυτό εξηγείται στο ότι η θερμοκρασία θανατώνει ένα συγκεκριμένο ποσοστό των οργανισμών εξαρτημένης της θερμοκρασίας και του χρόνου ή αλλιώς της **καμπύλης θανάτωσης**. Οι

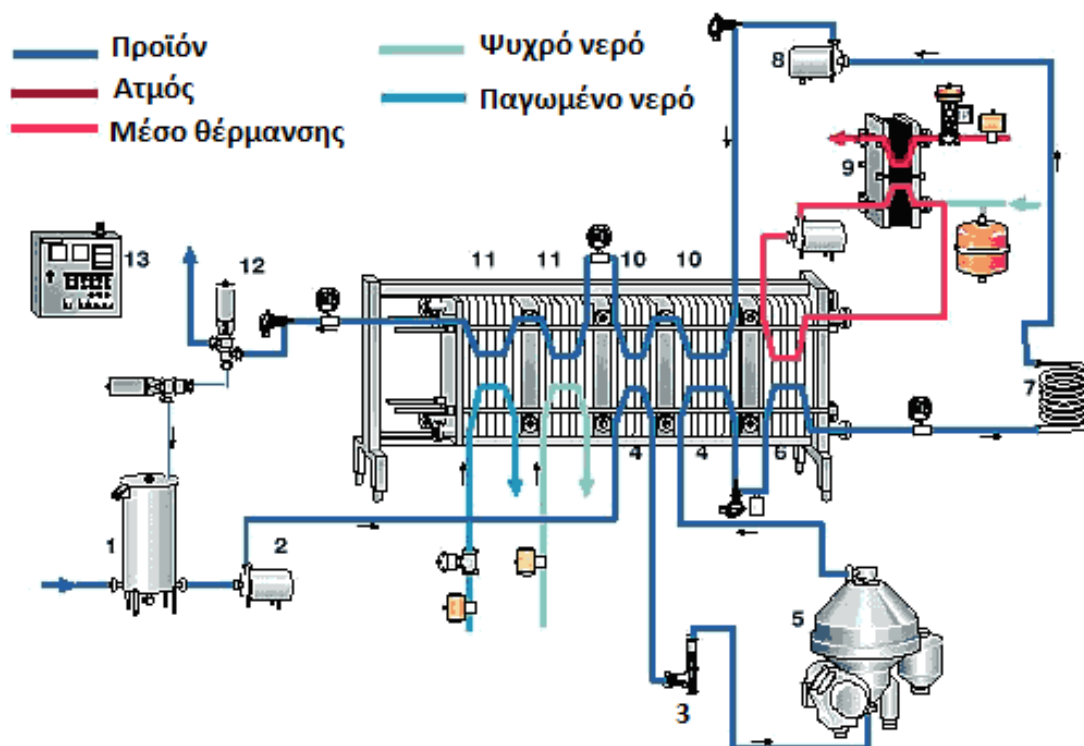
καμπύλες θανάτωσης είναι διαφορετικές για διαφορετικούς οργανισμούς γεγονός που εξαρτάται από την ευαισθησία τους. Οι σταφυλόκοκκοι και στρεπτόκοκκοι που απαντώνται στο ανθρώπινο δέρμα και τα μαλλιά επίσης καλούνται "συνήθεις" βαθμού θερμικές ευαισθησίες και την πραγματικότητα αυτό το "συνήθεις" έχει προσδιοριστεί, αφού μπορούν να αντιμετωπιστούν με ήπιες θερμικές μεθόδους. Οι μικρόκοκκοι θανατώνονται λιγότερο εύκολα με θερμότητα από τους "συνήθεις" και σχετιζόμενους με την αλόη Gram -ve οργανισμούς σε σχήμα ραβδίων που θανατώνονται πολύ πιο εύκολα. Ωστόσο, εάν η κατεργασία είναι 99,99% αποτελεσματική στην θανάτωση, θα απολυμάνει ένα διάλυμα  $10^3$ CFU/mL αλλά θα είναι αναποτελεσματικό σε ένα διάλυμα με  $10^6$ CFU/mL οργανισμούς, καθώς 100 οργανισμοί θα επιβιώσουν. Εάν ένας οργανισμός είναι λιγότερο ανεκτικός από τον μέσο (όπως τα σχετιζόμενα με την αλόη Gram -ve ραβδία) η παραπάνω διαδικασία θα θανατώσει το 99,9999% των θερμικά ευαίσθητων οργανισμών και το διάλυμα των  $10^5$ CFU/mL θα απολυμανθεί. Απ' την άλλη, ένας οργανισμός που είναι θερμοάντοχος, όπως τα μικροκοκκία της αλόης, θα υποστούν μόνο μία μείωση κατά 99% σε αριθμό και το βακτηριακό ξέσπασμα μπορεί να συμβεί σε υλικά με αρχικές συγκεντρώσεις  $10^3$ CFU/mL. Με σκοπό να επεξεργαστεί αξιόπιστα ένα ΕΟΦ με βακτηριακούς αριθμούς που να ξεπερνούν πολύ συχνά και τα  $10^6$  θερμοάντοχα μικροκοκκία CFU/mL, ένας ρυθμός 99,9999% θα πρέπει να επικρατεί. Αυτό μπορεί να συμβεί στους  $65^\circ\text{C}$  για 15 λεπτά.

Λόγω των περιορισμών που σκιαγραφήθηκαν παραπάνω, μεγάλα και πιο σύγχρονα εργοστάσια επεξεργασίας υιοθετούν την παστερίωση υψηλής θερμοκρασίας- μικρού χρόνου **HTST** (εικόνα 14, **Διεργασία Κ**). Αυτό το σφραγισμένο σύστημα αλλά όχι υψηλής πίεσης χρησιμοποιεί μία σειρά από εναλλάκτες οι οποίοι ακαριαία, μέσα σε λίγα δευτερόλεπτα, αυξάνουν την θερμοκρασία και έπειτα την χαμηλώνουν στα υγρά. Η διαδικασία είναι η εξής:

- i. Στον κύκλο αναγέννησης το προϊόν που εισέρχεται στον κύκλο αναγέννησης του HTST αρχικά **θερμαίνεται** στο πρώτο τμήμα του εναλλάκτη από προϊόν που φεύγει από τον HTST (εικόνα 15).
- ii. Στην συνέχεια περνά μέσα από έναν **τομέα θέρμανσης** όπου η θερμοκρασία αυξάνεται στους  $90-95^\circ\text{C}$  και τότε ακολουθεί μια ομάδα από σπείρες όπου λαμβάνει χώρα η παστερίωση. Η διάρκεια της παστερίωσης συμβαίνει από το μήκος των σπείρων και τον ρυθμό παροχής. Τυπικοί χρόνοι παστερίωσης βρίσκονται ανάμεσα σε ένα και πέντε λεπτά.
- iii. Το παστεριωμένο προϊόν ξαναδιέρχεται τότε από τον εναλλάκτη αναγέννησης όπου χρησιμοποιείται για να αυξήσει την θερμοκρασία του εισερχόμενου ακατέργαστου ζελέ στους περίπου  $50-60^\circ\text{C}$  ενώ η ίδια του η θερμοκρασία μειώνεται (**Ψύξη**) στους  $35-45^\circ\text{C}$ .
- iv. Ένας τελικός εναλλάκτης **ψύχει** τον εξερχόμενο ζελέ στην επιθυμητή θερμοκρασία με κατεψυγμένη γλυκόλη ή νερό.

Από βακτηριολογικής σκοπιάς, η αποδοτικότητα θανάτωσης σε αυτήν την HTST διεργασία είναι ελάχιστα καλύτερη από την κατεργασία σε δοχεία-batch processing. Ωστόσο η HTST είναι ικανή να διαχειρίζεται μεγαλύτερους όγκους ζελέ και λειτουργεί σε αυτοματοποιημένο τρόπο. Επίσης, η HTST είναι πιο αποτελεσματική, αφού μπορεί να αγγίζει υψηλές θερμοκρασίες που απαιτούνται για τον χειρισμό των μικροκοκκίων. Ωστόσο οι περιορισμοί που είναι έμφυτοι με τα μεγάλα βακτηριακά φορτία όπως των ΕΟΦ εξακολουθούν να ισχύουν.

Πρόσφατα, μία μετατροπή του HTST έχει αποδειχθεί πολύ επιτυχημένη στην βιομηχανία γάλακτος και γενικά γαλακτοκομικών. Αυτή η διεργασία καλείται υπερπαστερίωση-ultrapasteurization ή διαφορετικά **Ultra High Temperature παστερίωση-UHT**. Σε αυτήν την περίπτωση ο ατμός του προϊόντος δεν είναι απλά σφραγισμένος αλλά και πεπεισμένος σε θερμοκρασίες που μπορούν να ξεπεράσουν του  $100^\circ\text{C}$ . Με την μέχρι τώρα γνώση αυτή η υποσχόμενη διεργασία δεν έχει υιοθετηθεί σε μεγάλη κλίμακα από την βιομηχανία αλόης.

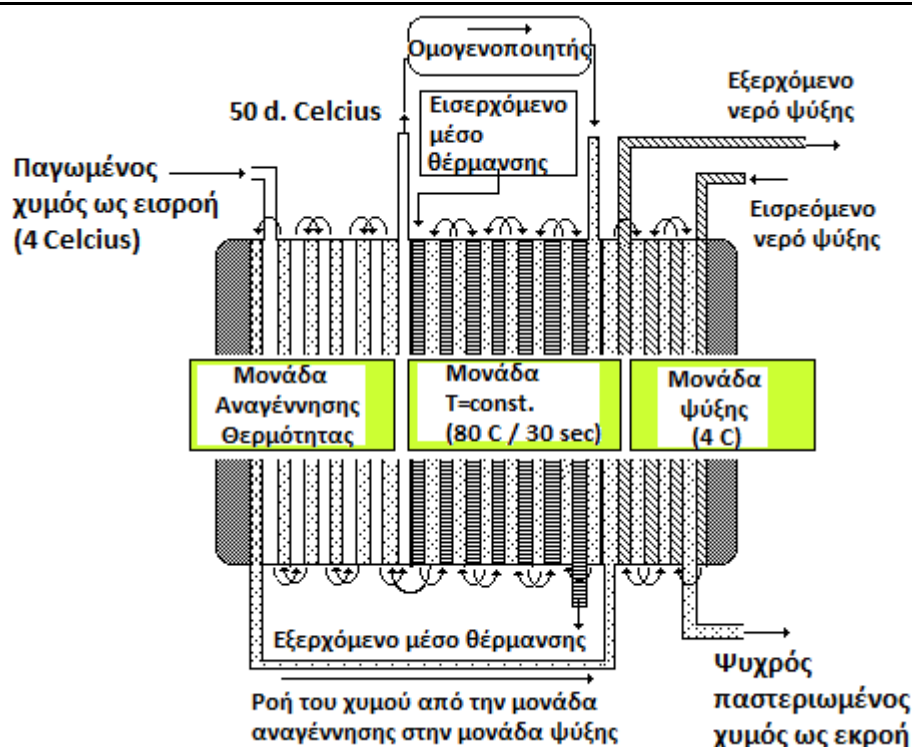


**Εικόνα 15.** Μία αναπαράσταση της παστερίωσης του χυμού της αλόης. Ο χυμός εισρέει στον HTST παστεριωτή στο **σημείο 1**, όπου η θερμοκρασία φθάνει τους 70-72°C για 15 δευτερόλεπτα. Ακολουθεί, ψύξη του ζελέ στους 60°C για 30 λεπτά στο **σημείο 2**. Στο **σημείο 3** πραγματοποιείται παστερίωση με εκτόνωση πάλι με συνθήκες υψηλών θερμοκρασιών για 3 με 15 δευτερόλεπτα. Εν συνεχεία ακολουθεί ψύξη και συσκευασία. Η παρούσα παστερίωση χρησιμοποιείται για προϊόντα και άλλα υγρά που μπορούν να αποθηκευτούν για μεγάλη περίοδο χωρίς κατάψυξη. Στο **σημείο 4** με την παστερίωση με ατμό, πεπιεσμένος ατμός χρησιμοποιείται για την θανάτωση πιθανών βακτηρίων τύπου *Escherichia coli*, *Salmonella* και *Listeria*. Στην παστερίωση με ακτινοβολία, **σημείο 5**, γίνεται πρόληψη μερικών μικροβίων, ενώ στην υπερπαστερίωση πραγματοποιείται η θέρμανση του προϊόντος για 2 δευτερόλεπτα στους 138°C επεκτείνοντας τον χρόνο ζωής του προϊόντος από 60 με 90 μέρες. Τέλος στο **σημείο 7** με την υπερύψηλης θερμοκρασίας παστερίωση στους 138°C με 150°C για 1 με 2 δευτερόλεπτα ακολουθεί πακετάρισμα υπό φτωχό αέρα έτσι ώστε το προϊόν να μπορεί να συντηρηθεί χωρίς κατάψυξη για περισσότερες των 90 ημερών.

Πρέπει να αναφερθεί ότι το παραπάνω σχήμα αποτελεί την πορεία παστερίωσης του γάλακτος. Ωστόσο η ίδια μπορεί να εφαρμοστεί και στην παστερίωση του χυμού της *Aloe barbadensis* Miller. Ο βαθμός στον οποίο θα επιτελούνται οι παραπάνω διεργασίες χρήζει ερευνητικής μελέτης. Η εφαρμογή των ήδη υπάρχοντων συστημάτων παστερίωσης στην βιομηχανία τροφίμων-με λίγες τροποποιήσεις- μπορεί να οδηγήσει σε πιο οικονομικές λύσεις για τον επιχειρηματία που επιθυμεί μεγαλύτερα κέρδη.

Από θερμοδυναμικής απόψεως είναι καλύτερα πολλαπλά μικρά βήματα, παρά μια μόνη παστερίωση με ακραία θερμοκρασία. Αυτό εξηγείται λόγω του ότι το προϊόν πρέπει να αφήνεται να ηρεμεί έτσι ώστε τα συστατικά του να ισορροπούν για καλύτερη διασφάλιση της ποιότητας. Γίνεται εμφανές ότι οι χρόνοι παραμονής εξαρτώνται από το βακτηριακό φορτίο της πρώτης ύλης του χυμού. Υπερβολικός χρόνος παραμονής σε συνδυασμό με υψηλές θερμοκρασίες μπορούν να οδηγήσουν σε προϊόντα με την επιγραφή...«*Aloe falsa*»!

<http://kevin-mysciencblog.blogspot.com/2010/12/milk-pasteurisation.html>



**Εικόνα 16.** Σε μία διεργασία HTST ο χυμός της αλόης κρατείται από 1 έως 5 λεπτά σε θερμοκρασία 90-95°C ή εναλλακτικά στους 80°C για 30 sec . Ο ρόλος της μονάδας ψύξης είναι πολύ σημαντικός για την σταθεροποίηση του χυμού αφού εγγυάται την διασφάλιση των ωφέλιμων συστατικών του και την πρόληψη πολλαπλασιασμού των βακτηρίων.

<http://mevenky.blogspot.com/2009/11/pasteurization-of-milk.html>

Στην φαρμακευτική βιομηχανία η αποστείρωση –ή απολύμανση- των υγρών μέσω φίλτρα μεμβρανών σε μικρά ήταν συχνή για δεκαετίες και αυτή η διεργασία χρησιμοποιείται σε έναν χαμηλότερο βαθμό από την βιομηχανία τροφίμων και ποτών. Αυτή η διεργασία (εικόνα 14, **Διεργασία L**) δεν έχει υιοθετηθεί ευρύτερα από την βιομηχανία της αλόης, παρόλο που σε μερικές παραγωγές μικρής κλίμακας, προϊόντα υψίστης σημασίας παρασκευάζονται με αποστείρωση μεμβράνης. Αυτή η διεργασία είναι βιομηχανικά μη πρακτική για υψηλής ποιότητας ακατέργαστο ζελέ αλόης αφού η υπερβολική ψευδοπλαστικότητα συντελεί σε μη αποδεκτές αρνητικές πιέσεις. Εάν η ψευδοπλαστικότητα σπάσει με υποβάθμιση του πρωτογενούς ζελέ πολυσακχαριτών με ένζυμα, τότε το υγρό της αλόης μπορεί να αποστειρωθεί με μεμβράνη, παρόλο που δεν είναι πλέον ο φυσικός ζελέ. Σε εργαστηριακή κλίμακα, η διήθηση με μεμβράνη είναι πολύ συχνά χρησιμοποιούμενη για την απολύμανση της αλόης. Για σκοπούς ανάλυσης με HPLC μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένα φίλτρο 25mm , 0,2μm για την κατεργασία του ακατέργαστου ζελέ από 1-2mL αποδίδοντας τα 100-200μL του υλικού που απαιτείται για την HPLC ανάλυση. Ωστόσο, είναι φυσικά πολύ δύσκολο να παρασκευαστούν έστω και 10mL υψηλής ποιότητας ζελέ αλόης για απευθείας πέρασμα μέσα από φίλτρο 0,2 μm. Ο ζελέ πρέπει πρώτα να "σπάσει" περνώντας μέσα από πολλαπλά φίλτρα μειωμένου πορώδους, συνήθως φίλτρο γυάλινης ίνας, ακολουθούμενο από 20 μm φίλτρο, έπειτα 5 μm και τότε 1,2 μm πριν από το τελικό φιλτράρισμα 0,2 μm. Ερευνητές που δεν έχουν δεν δουλέψει με τον πρωτογενή ζελέ δεν είναι σε θέση να εκτιμήσουν την ψευδοπλαστικότητα του από την στιγμή που τα εμπορικά προϊόντα αλόης δεν παρουσιάζουν αυτήν την δραστηριότητα.

### ✦ Τελική κατεργασία- συμπύκνωση και ξήρανση

Πριν από περίπου 20 χρόνια ένας από τους πιο ακριβούς τομείς στην βιομηχανία αλόης ήταν οι αποστολές. Ο παστεριωμένος ζελέ αλόης (**Προϊόν Μ**) και ο παστεριωμένος αποχρωματισμένος ζελέ της αλόης (**Προϊόν Q**) αποτελούνται από 99% νερό. Καθώς η αγορά της αλόης αύξησε οι επιχειρήσεις που μπορούσαν να μειώσουν δραστικά τα έξοδα αποστολών μπορούσαν επίσης να μειώσουν το τελικό κόστος των stocks παροχής αλόης στα 2/3 της τιμής. Δοθέντος ότι στην πρωτογενή κατάσταση για τον έλεγχο ποιότητας της αλόης το ενδιαφέρον ήταν αποκλειστικά για τα στερεά, ιόντα και οργανικά οξέα, η μείωση του κόστους κατά 1/3 σήμανε σημαντικό πλεονέκτημα.

#### ☑ Συμπύκνωση του ζελέ της αλόης

Ένα βιομηχανικό σύστημα εξάτμισης κενού λεπτής στοιβάδας με θερμοκρασίες να διατηρούνται στους 35-45 °C και με όγκο επεξεργασίας συνήθως στο εύρος των μερικών εκατοντάδων λίτρων ανά ώρα συντελεί σε μια "συμπυκνωμένη αλόη" (εικόνα 17, **Προϊόν T**). Αυτό το προϊόν έχει ένα κάπως περιπετειώδες παρελθόν. Μερικά από τα προβλήματα είναι έμφυτα με την σύσταση των παρασκευασμάτων "ζελέ". Άλλα προβλήματα οφείλονται στην έλλειψη επιστημονικής εξουχιστικής μελέτης στην ίδια την βιομηχανία αλόης.

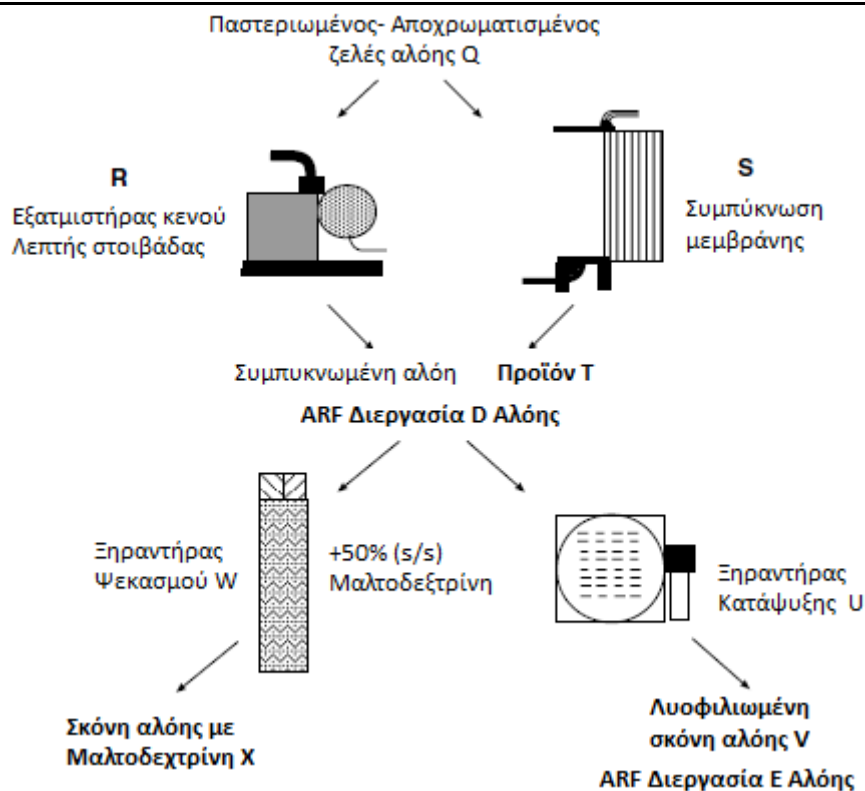
Υπάρχουν τρία είδη φυσικοχημικών προβλημάτων:

- i. **Η απορρόφηση**, κατά την διεργασία εξάτμισης, **των τερπενίων** που δίνουν στα φρέσκα εκχυλίσματα αλόης τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της "φρέσκιας μύτης". Το εάν αυτό καταστρέφει το προϊόν ή το βελτιώνει είναι αντικείμενο διαμάχης. Ωστόσο, δεν παύει να αποτελεί μια αλλαγή στην χημική σύσταση του προϊόντος.
- ii. Η εξάτμιση είναι το βήμα κατά το οποίο συχνά παρατηρείται **σκούρο χρώμα**. Εάν κατά την διάρκεια μιας νωρίτερης διεργασίας παράχθηκε κάποιο κόκκινο υλικό από οξειδωση των THAs, η θέρμανση που συμβαίνει κατά την διάρκεια της εξάτμισης μπορεί να προκαλέσει μια πολυφαινολική συμπύκνωση που να οδηγήσει σε μία καφέ/μαύρη χροιά, που θα γίνεται ολοένα και πιο εμφανής στα συμπυκνωμένα προϊόντα.
- iii. Το πιο σημαντικό είναι πιθανόν η **σημαντική μεταβολή της χημικής σύστασης** κατά την διάρκεια την συμπύκνωσης με την καταστροφή των πολυσακχαριτών λόγω δράσης εξωγενών κυτταρινάσων. Στην περίπτωση των ΕΟΦ οι κυτταρινάσες προστίθονταν στην αρχή της γραμμής παραγωγής όταν το ιξώδες της "γουακαμόλης της αλόης" μειωνόταν πριν από την αποχύμωση. Η υψηλή θερμοκρασία λειτουργίας των διεργασιών λεπτής στοιβάδας (45 °C) είναι πολύ κοντά στην θερμοκρασία βέλτιστης λειτουργίας των κυτταρινάσων των μυκήτων. Εάν η συμπύκνωση γίνεται έως ότου το περιεχόμενο των στερεών γίνει 15-20% τότε το 90% των ακετυλιωμένων γλυκομαννάνων μπορεί να σπάσει. Σε αυτό το σημείο οι μόνοι εναπομείναντες πολυσακχαρίτες είναι οι γαλακτάνες και πηκτίνες. Παρόμοια υποβάθμιση από κυτταρινάσες των πολυσακχαριτών ενμετρώνται όταν ο παστεριωμένος χυμός αλόης (**Προϊόν Μ**) ή ο παστεριωμένος αποχρωματισμένος ζελέ (**Προϊόν Q**) συμπυκνώνονται. Με σκοπό η εξάτμιση κενού λεπτής στοιβάδας να εξελιχθεί αποτελεσματικά, το υλικό που υφίσταται αυτήν την διεργασία συμπύκνωσης πρέπει να διαθέτει ιξώδες κοντά στο νερό.

➡ Πολλές επιχειρήσεις με σκοπό να ενισχύσουν την ταχύτητα εξάτμισης προσθέτουν κυτταρινάσες για να μειώσουν το ιξώδες. Αυτό συντελεί σε σημαντική απώλεια πολυσακχαριτών.

Δεν είναι όλοι οι παρασκευαστές που υιοθετούν την κατεργασία με κυτταρινάσες, δημιουργώντας μια διασπορά στο περιεχόμενο πολυσακχαριτών ανάμεσα στα νόμιμα δείγματα των συμπυκνωμένων υλικών της αλόης από φιλέτα ζελέ, εξαρτώμενου του εάν οι κυτταρινάσες εφαρμόστηκαν κατά την διεργασία συμπύκνωσης και σε ποιο βαθμό και ποιο επίπεδο έγινε η συμπύκνωση.





**Εικόνα 17.** Διεργασίες συμπύκνωσης εκχυλισμάτων αλόης

Μία ξεχωριστή ομάδα διακριτών προβλημάτων, που δεν έχουν να κάνουν με την φυσικοχημεία του προϊόντος, αλλά είναι έμφυτα με την απληροφόρητη διαχείριση, είναι συχνή με την βιομηχανία της αλόης. Αυτά συνοψίζονται παρακάτω:

- i. Ένα πρόβλημα είναι η άρνηση για υιοθέτηση ονοματολογίας για τα συμπυκνώματα σε συνεννόηση με τις πρακτικές της βιομηχανίας τροφίμων και ένα άλλο πρόβλημα είναι η τάση να πιεστούν οι διεργασίες με σκοπό την αύξηση της απόδοσης/αποτελεσματικότητας σε βάρος της ποιότητας. Η βιομηχανία της αλόης έχει ευρύτερα αποδεχθεί (IASC, 1993) την «X» ονοματολογία για τα συμπυκνώματα, που υποθέτει ότι το περιεχόμενο στερεών στον ζελέ της αλόης είναι 0,5 g/dl. Τα συμπυκνώματα εκφράζονται σαν πολλαπλάσια αυτής της τιμής του περιεχομένου στερεών. Ως εκ τούτου ένα προϊόν που περιέχει 1,0 g/dl περιεχόμενο στερεών έχει την ετικέτα «2X», ένα προϊόν με περιεχόμενο στερεών 2 g/dl με το «4X» και ένα προϊόν με στερεά 20 g/dl με το «40X».
  - ⇒ Μία συνέπεια αυτού είναι ότι παρασκευαστές καταναλωτικών προϊόντων εύκολα μπερδεύουν το «X» με το περιεχόμενο στερεών. Η ξηραμένη υπό ψεκασμό αλόη, που παράγεται με 50% μελτοδεξτρίνη καλείται με την ετικέτα «100X», που εσφαλμένα θεωρείται 100%αλόη.
  - ⇒ Ένα κοινό σύστημα για την βιομηχανία τροφίμων να επισημαίνουν τους χυμούς βασιζόμενους στον δείκτη διάθλασης κατά Balling σύμφωνα με το περιεχόμενό τους σε στερεά (**BRIX**). Η βιομηχανία αλόης πρέπει να υιοθετήσει αυτήν την επισήμανση και να βασίσουν την ονοματολογία του απευθείας στο περιεχόμενο στερεών, αλλιώς τα προϊόντα αλόης θα θεωρούνται υπό καχύποπτο βλέμμα από τις άλλες βιομηχανίες.
  - ⇒ Οι **βαθμοί BRIX** ή **°Brix** ή **°Bx** στην βιομηχανία των εσπεριδοειδών αποτελούν ένα μέτρο για την μέτρηση του ολικού περιεχομένου σε στερεά σε έναν χυμό. Αυτά τα διαλυτά στερεά είναι κυρίως σάκχαρα: σουκρόζη, φρουκτόζη και γλυκόζη. Το κιτρικό οξύ και τα μεταλλικά σε έναν χυμό συνεισφέρουν επίσης στα διαλυτά

στερεά. Οι βαθμοί °Bx είναι ισοδύναμοι με το κοινό ποσοστό. Για παράδειγμα ένας χυμός που έχει 12 °Bx έχει ένα περιεχόμενο με ολικά διαλυτά στερεά ίσο με 12%.  
<http://www.picse.net/GROWSMART/docs/orangeJuicePrac.pdf> )

#### Ένθετο: Περί χυμών

Χυμός καλείται στην ευρύτερη έννοια εκείνα τα εξαγόμενα υγρά των κυττάρων και των ιστών. Παρόλο που πολλοί χυμοί φρούτων είναι το φανερό αποτέλεσμα έκφρασης των υγρών από ένα ολόκληρο ή κομμένο φρούτο, υπάρχουν μερικά φρούτα που η διάκριση δεν είναι τόσο προφανής. Για παράδειγμα στύβοντας κομμένο μάνγκο αποδίδεται λίγος χυμός, ακόμη και όταν αποκοπεί η φλούδα. Και τότε ακόμη ένας παχύς πουρές είναι το αποτέλεσμα της άλεσης. Σε αντίθεση, αλεσμένα φρούτα μήλου αποδίδουν έναν εύκολα εκφρασμένο χυμό. Προσθέτοντας νερό στον πουρέ από μάνγκο θα μειωθεί η ιδιότητά του ως πουρές αλλά και πάλι αυτό δεν καλείται χυμός. Τα υγρά που εξάγονται από λεμόνια, λάιμ είναι εξαιρετικά όξινα, αλλά ακόμα είναι τόσο ξινά για απευθείας κατανάλωση χωρίς διάλυση ζάχαρης και προσθήκη νερού σε αυτά για την παραγωγή λεμονάδας.

Σύμφωνα με τον κώδικα τροφίμων –Codex Alimentarius- χυμός είναι «το μη ζυμωμένο αλλά ζυμώσιμο υγρό, που προτείνεται για απευθείας κατανάλωση, προέρχεται από μηχανική κατεργασία από υγιή, ώριμα φρούτα και διατηρείται αποκλειστικά με φυσικά μέσα. Ο χυμός μπορεί να είναι θολός ή διαφανής. Ο χυμός μπορεί να έχει συμπυκνωθεί και να έχει ανασυσταθεί με νερό κατάλληλο για την διατήρηση της ουσιαστικής σύστασής του και των χαρακτηριστικών ποιότητας του χυμού. Η προσθήκη σακχάρων ή οξέων μπορεί να επιτρέπεται αλλά πρέπει να επικυρωθεί από μεμονωμένους κανόνες» (FAO, 1992).

Είναι απόλυτα απαραίτητο για κάποιον που πρόκειται να ξεκινήσει την λειτουργία παρασκευής ενός χυμού να καταστεί οικείος με τους κανονισμούς και τις απαιτήσεις της αγοράς. Για εμπορικούς σκοπούς είναι σημαντικό να προσδιοριστούν προσεκτικά οι διαφορές και να διασφαλιστεί ότι οι προδιαγραφές και η ετικέτες είναι σωστές. Υπάρχουν περιπτώσεις όπου ένας 100% χυμός ή πουρές είναι μη πρακτικός, ενώ η διαλυτοποίηση με άλλους χυμούς και/ή νερό με γλυκαντικές είναι πρακτική, από την στιγμή που τα προϊόντα είναι σωστά προσδιορισμένα. Νερό, σάκχαρο, οργανικά οξέα και χαμηλού κόστους καθαροί χυμοί είναι πιο φθηνά από τα υψηλής αξία φρούτα με τα χαρακτηριστικά τους που προσδιορίστηκαν στον αρχικό ορισμό του χυμού. Ως εκ τούτου, μη επισημασμένη διαλυτοποίηση και νόθευση είναι συχνές, ανήθικες πρακτικές εμπορίου που πρέπει εξονυχιστικά να αποφεύγονται και να καταδικάζονται.

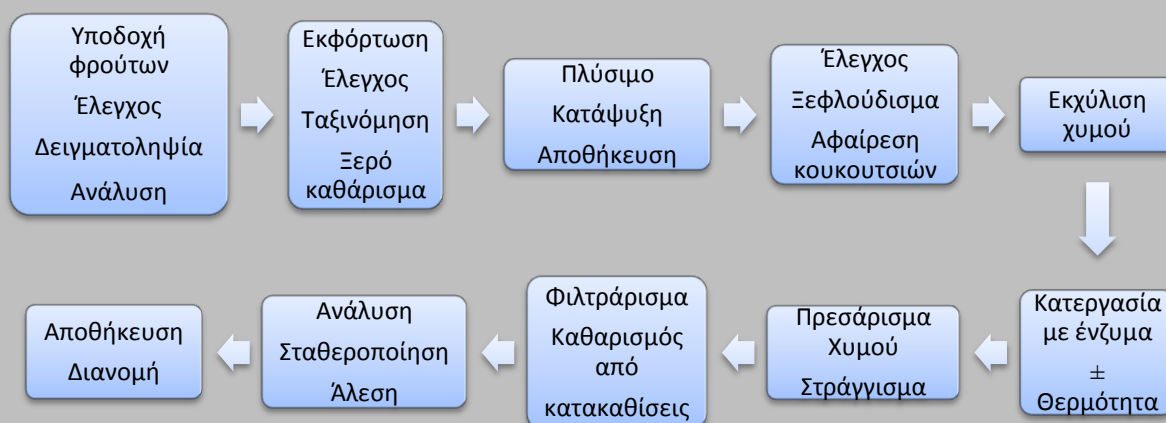
#### Κριτήρια χυμού

Για τους σκοπούς αυτής της εργασίας, ο χυμός είναι εκείνο το υγρό που εκφράζεται από ένα φυτικό υλικό με θραύση, τεμαχισμό και πρεσάρισμα τους. Είναι ξεκάθαρο ότι μπορεί να είναι διαφανής, αδιαφανής ή πολύ πιο παχύρρευστος -"ζυμώδης"- . Ο χυμός μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σαν πουρές εάν η συνοχή του σαν ρευστό είναι να ρέει με πολύ μικρό ρυθμό. Για να φανερωθεί η πολυπλοκότητα της ύλης των χυμών, αυτοί οι χυμοί που συμπυκνώνονται για διατήρηση, εύκολο χειρισμό και αποθήκευση εν συνεχεία ανασύστανται για κατανάλωση (υπό την ετικέτα «χυμός από συμπύκνωμα») και θα πρέπει να διαλυτοποιούνται πίσω στο ίδιο επίπεδο στερεών (σχεδιασμένο σαν °Bx ή ποσοστό διαλυτών στερεών) του αρχικού χυμού. Το ποσό του προστιθέμενου νερού μπορεί να ποικίλει στοιχειωδώς ακόμα και μέσα σε ένα δοθέν φρούτο, με συνέπεια αιτιολογημένα εμπορικά πρότυπα να έχουν ήδη τεθεί (FDA, 1999).

Τα όρια επανασύστασης του Codex Alimentarius διαφέρουν μόνο ελαφρώς από τα επίπεδα του FDA (FAO, 2000b) και είναι σε όλες τις περιπτώσεις μικρότερα. Για παράδειγμα, ο χυμός μήλων μπορεί να είναι 10,2 °Bx αλλά τα όρια επανασύστασης του συμπυκνώματος θα πρέπει να διατηρούν 11,2 °Bx εκτός εάν ο αρχικός χυμός ήταν λιγότερων °Bx. Επιπροσθέτως, ο Codex

καθορίζει τον ελάχιστο χυμό και /ή πουρέ που θα περιέχει το νέκταρ φρούτων, ανάμεσα στο 25 και 50 %, εξαρτώμενου του δοθέντος φρούτου.

- ➔ Στην περίπτωση των χυμών-συμπεριλαμβανομένων και της αλόης- για ένα προϊόν χωρίς σχετικό καθορισμένο επίπεδο βαθμών Brix ο FDA, 1999 αναφέρει: «Ένα δεν υπάρχει κάποιο επίπεδο καθορισμένο, το επισημασμένο ποσοστό ενός χυμού από το συμπύκνωμα σε ένα χυμό ή ποτό θα υπολογιστεί στην βάση της πρώτης δύναμης του χυμού που χρησιμοποιείται για να παράγει αυτόν τον συμπυκνωμένο χυμό.» (FDA, 1999). Η πρώτη δύναμη ενός πουρέ ή χυμού είναι το τελικό προϊόν που προκύπτει από την εκχύλιση του φρούτου, το οποίο εν συνεχεία κοσκινίζεται για την απομάκρυνση των ινωδών ιστών, συμπεριλαμβανομένων και των φλουδών, μεμβρανών, φλοιών και σπόρων και διατηρεί τους αρχικούς, μη συμπυκνωμένους βαθμούς Brix των φρέσκων και /ή κατεψυγμένων φρούτων ως πρώτη ύλη. Ως εκ τούτου τα αρχικά διαλυτά στερεά του αρχικού γνήσιου χυμού ή οι βαθμοί Brix προσδιορίζουν τα όρια επανασύστασης. Αυτό δεν είναι απλά γενικότητα, από την στιγμή που μέσα σε ένα είδος οι βαθμοί Brix μπορεί να ποικίλουν πάνω από δύο φορές. Για παράδειγμα εξαρτώμενου του είδους και της καλλιέργειας, τα διαλυτά στερεά στον χυμό των σταφυλιών μπορεί να διαφέρουν από 12 έως και 26 °Bx.



Το γενικό σχήμα ροής του χυμού από την πρώτη ύλη έως το τελικό προϊόν.

[http://wiki.answers.com/Q/What is the definition of single strength fruit puree](http://wiki.answers.com/Q/What_is_the_definition_of_single_strength_fruit_puree)

<http://www.fao.org/docrep/005/y2515e/y2515e03.htm>

- ii. Ένα δεύτερο πρόβλημα σχετικό με την διαχείριση-management είναι η τάση για πίεση διεργασιών. Με αυτό νοείται η τάση που παίρνει μια διεργασία για έναν ικανοποιητικό χρόνο εργασίας και υπό πρίσμα οικονομικού κέρδους, να πιεστούν μερικά βήματα διεργασιών χωρίς την επιστημονική παρακολούθηση των συνεπειών της γραμμής επεξεργασίας. Για παράδειγμα, εάν ο ζελές της αλόης μπορεί να συμπυκνωθεί σε ένα περιεχόμενο 20 g/dl απ' ότι σε 5 g/dl, αυτό θα διασώσει μέχρι και 60% των εξόδων διανομής και μεταφοράς του προϊόντος. Αυτό υπολογίζεται δίχως να υπολογιστεί ότι:
- το επόμενο βήμα θα προκαλέσει σημαντική μείωση πολυσακχαριτών,
  - συγκεκριμένες βιολογικές δραστηριότητες θα χαθούν και
  - σε αυτής την υψηλή συγκέντρωση, στις θερμοκρασίες διανομής μερικά από τα συστατικά θα κατακρημνιστούν έξω από το διάλυμα.
- ➔ Φθάνοντας στα άκρα αποκλειστικά και μόνο των οικονομικών γεγονότων, δίχως αναλύοντας τις βασικές βιολογικές και χημικές επιπτώσεις της γραμμής κατεργασίας είναι ένα πολύ κοινό χαρακτηριστικό στην βιομηχανία αλόης. Συνέπεια αυτού είναι ότι τα προϊόντα, παρόλο που χαρακτηρίζονται νόμιμα ως αλόες και μάλιστα μη νοθευμένες, εντούτοις έχουν χάσει τα χημικά συστατικά-κλειδιά τους και τις βιολογικές δράσεις τους.

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι υπάρχουν εναλλακτικές στην εξάτμιση κενού λεπτής στοιβάδας για την συμπύκνωση των υλικών της αλόης. Διήθηση πίεσης σε μεμβράνες (εικόνα 17, Διεργασία S) μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί. Αυτή είναι κατά κάποιον τρόπο μια διεργασία παρόμοια με την αντίστροφη όσμωση, που χρησιμοποιείται για τον καθαρισμό του νερού, αλλά το αντίθετο προκύπτει υλικό διατηρείται από την μεμβράνη από το να περάσει απ' αυτήν. Αυτή η διαδικασία χρησιμοποιείται από μια εταιρεία για να συμπυκνώσει μερικώς τον ζελέ πριν από την διανομή του από τις φυτείες στα κεντρικά εργοστάσια κατεργασίας. Παρόλο που η διεργασία λειτουργεί αποδοτικά, δεν έχει γίνει καμία συστηματική ανάλυση για τα αποτελέσματα στην χημεία και βιολογία των διεργασιών συμπύκνωσης μεμβράνης.

#### ✦ Η οσμωτική αφυδάτωση της *Aloe barbadensis* Miller

Η οσμωτική αφυδάτωση χρησιμοποιείται ευρύτερα για την απομάκρυνση μέρους του νερού και του περιεχομένου ενός φρούτου έτσι ώστε να προκύψει ένα ενδιάμεσης υγρασίας προϊόν ή σαν προκατεργασία πριν από περαιτέρω κατεργασία. Απαιτεί χαμηλές ποσότητες ενέργειας και μπορεί να επιτευχθεί σε χαμηλές θερμοκρασίες. Αυτό συνεισφέρει στην χαμηλή θερμική υποβάθμιση των θρεπτικών συστατικών λόγω της χαμηλής θερμοκρασίας αφαίρεσης νερού. Οι μεταβλητές σε μία διεργασία όσμωσης (προκατεργασία, θερμοκρασία, συγκέντρωση διαλύματος, ανάδευση, χρόνος βύθισης) έχει αναφερθεί να επηρεάζουν την μεταφορά μάζας και την ποιότητα του προϊόντος. Εντός από την μείωση του χρόνου ξήρανσης, η οσμωτική αφυδάτωση σαν διεργασία προκατεργασίας επίσης παρεμποδίζει την ενζυματική ανάπτυξη, διατηρεί το φυσικό χρώμα καθώς επίσης και διατηρεί τα πτητικά VOCs αρώματα κατά την διάρκεια της ξήρανσης.

Στην διεθνή βιβλιογραφία δύο απόπειρες για την οσμωτική αφυδάτωση έχουν επιχειρηθεί. Οι García-Segovia, Mognetti, Andrés-Bello και Martínez-Monzó το 2010 προχώρησαν στην οσμωτική αφυδάτωση της *Aloe barbadensis* Miller σαν συνάρτηση την συγκέντρωσης της σουκρόζης και της θερμοκρασίας με σκοπό να προσδιορίσουν την πραγματική διαχυτότητα στην υγρή φάση της προς οσμωτικά αφυδατωμένης αλόης. Επίσης προσδιόρισαν τις κινητικές σταθερές της καθαρής μεταφοράς μάζας στις συνθήκες της διεργασίας. Χρησιμοποίησαν λοιπόν δύο θερμοκρασίες (25 και 40°C), για την ξεφλουδισμένη και μη αλόη και για διάφορους βαθμούς Brix (35, 50 και 60) στην κάθε θερμοκρασία. Τα αποτελέσματά τους συνοψίζονται κάτωθι:

#### Απώλεια νερού και κέρδος σε στερεά

- Ο γενικός κανόνας είναι: η επίδραση της συγκέντρωσης του οσμωτικού διαλύματος έχει παρατηρηθεί κυρίως στην απώλεια του νερού: μεγαλύτερη συγκέντρωση  $\Rightarrow$  μεγαλύτερη απώλεια νερού.
- Η μεταβλητή που επηρεάστηκε περισσότερο από την θερμοκρασία ήταν η απώλεια νερού σε σχέση με την αρχική μάζα. Μεγαλύτερη θερμοκρασία  $\Rightarrow$  μεγάλη απώλεια νερού αλλά και σε μεγαλύτερο συντελεστή διάχυσης. Οι 50 °Bx παρουσίασαν τις μεγαλύτερες τιμές πρόσληψης σακχάρων {κάτι που έρχεται σε αντίθεση με τον παραπάνω γενικό κανόνα αύξησης της απώλειας νερού με αύξηση της συγκέντρωσης}. Η διακύμανση αυτών των δύο φαινομένων (θερμοκρασία, °Bx) μπορεί να αποδοθεί στην μικροδομή του υλικού της αλόης και συγκεκριμένα στο πορώδες. Η επίδραση του ξεφλουδίσματος αποδείχτηκε σημαντική, αφού η μεγαλύτερη απώλεια νερού πραγματοποιήθηκε στα ξεφλουδισμένα δείγματα.

#### Καθαρή μεταφορά μάζας

- Οι κινητικές σταθερές  $k$  και  $k_w$  αυξάνουν με την αύξηση των βαθμών Brix. Μεγαλύτερες τιμές  $k_w$  παρατηρούνται για τα μη ξεφλουδισμένα δείγματα, αφού τα λιγνιτοποιημένα κύτταρα διατηρούν την δομή την δομή της φέτας της αλόης, παρέχοντας μεγαλύτερο χώρο για την διαφυγή των μορίων του νερού από κύτταρο.

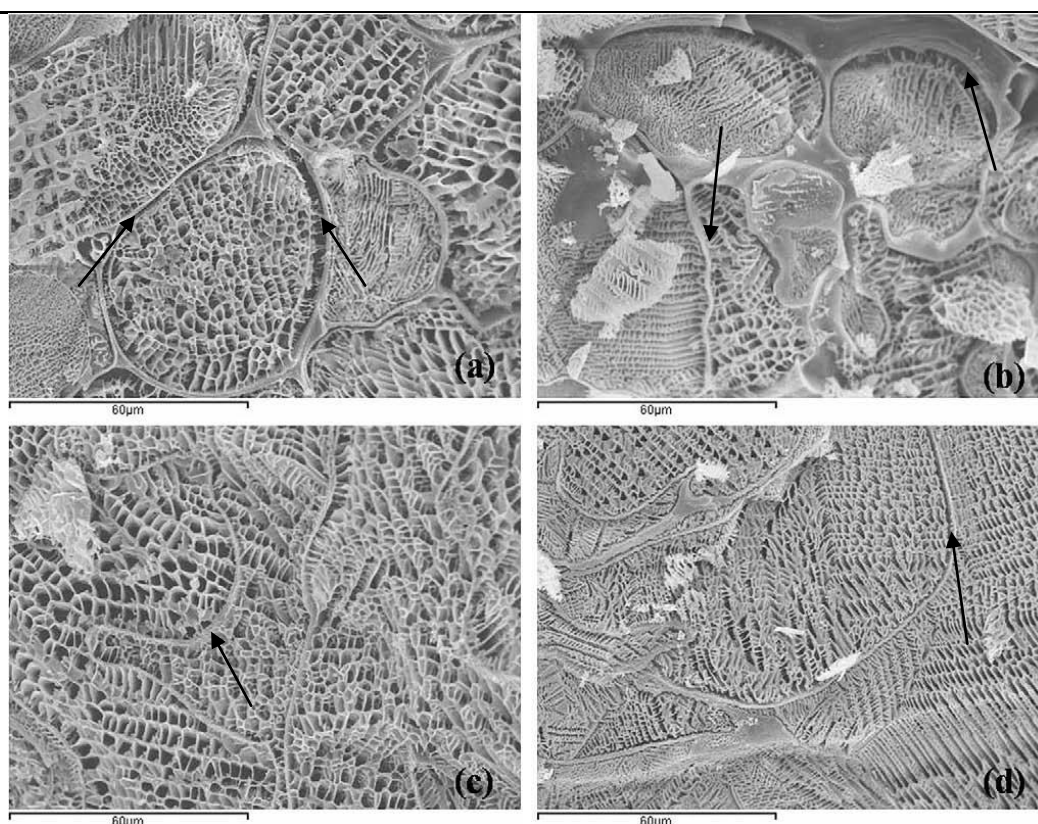
- Μεγαλύτερη απώλεια της πίεσης σπαργής, σμίκρυνση και αποσηματισμός παρατηρείται στα παρεγχυματικά κύτταρα των ξεφλουδισμένων δειγμάτων, παρέχοντας μια πιθανή κυτταρική κατάρρευση καθώς και μείωση της μεταφοράς μάζας ανάμεσα στο φρούτο και το οσμωτικό διάλυμα. Επομένως, επέρχεται και η μείωση ταχύτητας πρόσληψης σακχάρων.

#### Δομικές αλλαγές στην υγρή φάση και συντελεστής διάχυσης

- Αύξηση της συγκέντρωσης, οδήγησε σε αύξηση στο ιξώδες του οσμωτικού διαλύματος και οι διαλυμένες ουσίες είχαν μεγαλύτερες δυσκολίες στην διείσδυση. Αυτό αντικατοπτρίζεται από το ότι για μικρότερες συγκεντρώσεις ο πραγματικός συντελεστής διάχυσης είναι μεγαλύτερος.

#### Ανάλυση μικροδομής

- Οι μηχανισμοί που συμβαίνουν κατά την μεταφορά μάζας στην οσμοφυδάτωση των κυτταρικών ιστών εξαρτώνται από το δομικό επίπεδο του ιστού. Τα σπασμένα εξωτερικά κύτταρα μπορούν εύκολα να καταληφθούν από το εξωτερικό διάλυμα, και η καθαρή ροή διαλύματος, νερού και διάχυση διαλυμένων ουσιών συμβαίνουν στους εξωκυττάριους χώρους.
- Παρατηρήθηκε ότι κατά την οσμοφυδάτωση της *Aloe barbadensis* Miller η πλασμόλυση συνοδεύεται από απώλεια της πίεσης σπαργής, σμίκρυνση και διάλυση κυττάρων, καθώς και συμπύκνωση του πρωτοπλάσματος στην υγρή φάση. Επίσης, παρατηρείται αποκόλληση της κεντρικής δομής σύνδεσης των φύλλων-lamella- ή διαφορετικά διαχωρισμός των κυττάρων λόγω της υποβάθμισης ή μετουσίωσης των συστατικών της (Εικόνα 18). Αυτό το φαινόμενο εντοπίζεται κυρίως στα παρεγχυματικά κύτταρα των ξεφλουδισμένων δειγμάτων.



**Εικόνα 18.** Η ξετσαζόμενη *Aloe barbadensis* Miller σε ανάλυση με Cryo-SEM ( $\times 1000$ ). Με τα βέλη απεικονίζονται οι χώροι της lamella. (a) & (b): επιδερμικά κύτταρα στους 35 °Bx & 50 °Bx αντίστοιχα για 4 ώρες, (c) & (d): παρεγχυματικά κύτταρα στους 35 °Bx & 50 °Bx αντίστοιχα για 4 ώρες

Σε μία άλλη μελέτη των Pisalkar & Jain & Jain το 2011, επιχειρείται η οσμωτική επίδραση στην απώλεια νερού WL, κέρδος στερεών SG και στην συμβατική ξήρανση του ζελέ της *Aloe barbadensis*. Χρησιμοποιούν διαλύματα 30, 40 και 50°Bx ζάχαρης σε θερμοκρασίες 30 και 50°C για 4 ώρες με σταθερό τον λόγο σιρόπι προς ζελέ 5:1. Επίσης πραγματοποίησαν ξήρανση σε ρεύμα αέρα για θερμοκρασίες 50, 60, 70 και 80°C με σταθερή ταχύτητα αέρα 1,5m/s.

#### Επίδραση στην απώλεια νερού

- Η WL αυξάνεται με αύξηση της θερμοκρασίας του σιροπιού. Αυτό βρίσκεται σε συμφωνία με την προηγούμενη έρευνα. Δηλαδή, η υψηλότερη θερμοκρασία προήγαγε την γρηγορότερη WL μέσω φουσκώματος και πλαστικοποίησης των κυτταρικών μεμβρανών.
- Επίσης όπως βρήκαν οι García-Segovia et al, η διάχυση του νερού μέσα στο προϊόν προωθούταν από την αυξανόμενη θερμοκρασία, με καλύτερα χαρακτηριστικά μεταφοράς του νερού στην επιφάνεια του προϊόντος, λόγω χαμηλού ιξώδους του οσμωτικού μέσου. Ο ρυθμός WL αρχικά παρουσίασε μία απότομη αύξηση και εν συνεχεία παρέμεινε πρακτικά σταθερός. Η αύξηση αυτή κυμάνθηκε από 2,2 έως 4,5% κατά την αύξηση από 30 σε 50°C.

#### Συνδυασμός επίδρασης απώλειας νερού και πρόσληψης σουκρόζης

- Τελικά ο ρυθμός απώλειας νερού μπορεί να αυξηθεί με αύξηση της θερμοκρασίας σιροπιού ή αύξηση την συγκέντρωσης του διαλύματος. Η αύξηση απώλειας νερού με αύξηση της συγκέντρωσης έρχεται σε αντίθεση με τους García-Segovia et al, που επισημαίνουν ότι με αύξηση από τους 50°Bx στους 65°Bx παρατηρείται μείωση της απώλειας. Βέβαια παρατηρούμε ότι οι Pisalkar et al, δεν ξεπέρασαν το όριο των 50°Bx.
  - Προτείνεται λοιπόν, η ύπαρξη ενός κρίσιμου σημείου κορεσμού, σε σταθερή θερμοκρασία, σχετικά με τον ρυθμό απώλειας νερού και ρυθμού διάχυσης των σακχάρων στον διακυττάριο χώρο της *Aloe barbadensis*. Πάνω απ' αυτό το σημείο αναστρέφεται η διαδικασία και τα κύτταρα χάνουν λιγότερο νερό. Όπως παρατήρησαν και οι García-Segovia et al, η αύξηση συγκέντρωσης σουκρόζης αυξάνει το ιξώδες του οσμωτικού μέσου και άρα επικρατούν ολοένα μεγαλύτερες αντιστάσεις στην διάχυση προς την αλόη.
- Την μεγαλύτερη επίδραση στην πρόσληψη σουκρόζης έχει η μεταβολή της θερμοκρασίας. Αυξάνεται σημαντικά η πρόσληψη, με ουσιαστική αύξηση θερμοκρασίας κατά περίπου 10°C.

#### Επίδραση στην συμβατική ξηραντική συμπεριφορά της *Aloe barbadensis*

- Με αύξηση της θερμοκρασίας παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του χρόνου ξήρανσης τόσο σε δείγματα υπό όσμωση όσο και σε χωρίς όσμωση δείγματα.
- Η μείωση του χρόνου όμως παρατηρήθηκε να είναι πολύ πιο σημαντική στα δείγματα που είχαν υποστεί όσμωση. Αυτό οφείλεται κυρίως στην απώλεια του νερού λόγω διάχυσης στο οσμωτικό μέσο, αλλά και στην διάνοιξη διόδων ευκολότερης μεταφοράς του νερού λόγω πλαστικοποίησης των διόδων αλλά και διάνοιξης του ενδοκυττάριου χώρου-lamella-(βλέπε καθαρή μεταφορά μάζας των García-Segovia et al, και επίδραση στην απώλεια νερού των Pisalkar et al).

#### Διάχυση υγρασίας των κύβων της *Aloe barbadensis*

- Όπως είναι αναμενόμενο, η αύξηση της θερμοκρασίας ξήρανσης αυξάνει την διαχυτότητα της υγρασίας στα οσμωτικά δείγματα κύβων αλόης. Εν γένει, η τιμή της διαχυτότητας της υγρασίας για ένα τρόφιμο επηρεάζεται από το περιεχόμενο σε υγρασία και την θερμοκρασία. Σε χαμηλό περιεχόμενο υγρασίας η διαχυτότητα ήταν μικρότερη απ' αυτήν σε υψηλό περιεχόμενο.
- Η διαχυτότητα της υγρασίας κυμάνθηκε από  $2,9 \times 10^{-9}$  σε  $8,0 \times 10^{-9}$  για τα δείγματα υπό όσμωση και  $2,7 \times 10^{-9}$  σε  $4,6 \times 10^{-9}$  για δείγματα χωρίς όσμωση.

### ■ Η ξήρανση υπό κατάψυξη ή λυοφιλίωση της αλόης

Τα **Προϊόν Τ**, η συμπυκνωμένη αλόη (εικόνα 17), αποτελεί ένα σημαντικό παρακλάδι της παράγωγης ή τελικής κατεργασίας των προϊόντων αλόης. Μία μεγάλη μοιρασιά πάνω στον συμπυκνωμένο χυμό αλόης είναι στην αγορά σαν πρώτη ύλη, χρησιμοποιώντας το σύστημα συντηρητικών που αναλύθηκε παραπάνω. Πολλά απ' αυτά τα συμπυκνώματα πηγαίνουν στην βιομηχανία ποτών. Ωστόσο, μερικοί παρασκευαστές καταναλωτικών προϊόντων αλόης, ειδικότερα στα καλλυντικά, προτιμούν τα ξηρά προϊόντα. Ένα ξηρό προϊόν έχει μία ευρεία ποικιλία από πλεονεκτήματα όπως η ευκολία μεταφοράς και αποθήκευσης, η διασφάλιση του περιεχομένου των στερεών και σε μερικές περιπτώσεις η καλύτερη προστασία από βακτηριακή μόλυνση. Η ξήρανση υπό κενό, είναι σίγουρα η πιο κομψή μέθοδος για σταθεροποίηση των προϊόντων αλόης (εικόνα 17, **Διεργασία U**).

Το υλικό με ένα περιεχόμενο από 5 έως 20 g/dl σε στερεά τοποθετείται σε ατσάλινους δίσκους και ψύχονται σε θερμοκρασίες κάτω των -40 °C. Το κατεψυγμένο υλικό τοποθετείται τότε κάτω από υψηλό κενό (50 milliTorr). Το νερό σταδιακά εξαχνώνεται από το κατεψυγμένο υλικό και θερμαίνεται. Ο ρυθμός στον οποίο ο ρυθμός με τον οποίο θερμαίνονται οι δίσκοι ελέγχει εκείνον τον ρυθμό στον οποίο το νερό θα εξαχνωθεί από τα παγωμένα τμήματα του υλικού και επομένως η όλη διαδικασία ελέγχεται. Μετά από έναν κύκλο από 36 έως 72 ώρες, το περισσότερο νερό έχει φύγει, διατηρείται ένα πολύ υψηλό κενό (<25 milliTorr) και η θερμοκρασία του προϊόντος διατηρείται ίση με του περιβάλλοντος.

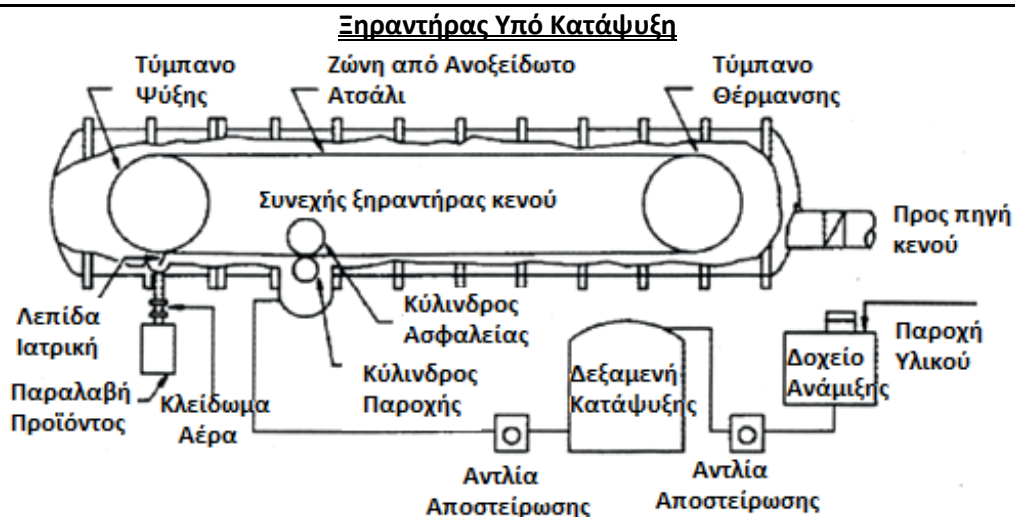
Αυτή η διεργασία, υιοθετώντας τεχνολογία υψηλού κενού και ακριβή έλεγχο θερμοκρασίας, είναι προφανώς πολύ ακριβή. Έχει εκτενώς χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή των ARF προτύπων, που είναι εμπορικός εφικτός προϊόντα. Λόγω του οικονομικού παράγοντα, η εμπορική απασχόληση της ξήρανσης υπό κατάψυξη ή ομοίως της λυοφιλίωσης λειτουργεί πιο αποτελεσματικά όταν η παροχή είναι ένα υψηλά συμπυκνωμένο προϊόν. Τα πιο οικονομικά υλικά για την λυοφιλίωση είναι τα πιο συμπυκνωμένα, τα πιο οξειδωμένα, που έχουν τον μεγαλύτερο βαθμό αλλαγής χρώματος και διαθέτουν τους περισσότερους υποβαθμισμένους πολυσακχαρίτες. Σε αυτήν την περίπτωση όπου η πρώτη ύλη προς λυοφιλίωση έχει περιεχόμενο σε στερεά 5 g/dl αποδίδει ένα πολύ καλύτερο προϊόν από ένα μία πρώτη ύλη με 30 g/dl, μολονότι ένα με την πρώτη περιεκτικότητα κοστίζει τρεις φορές περισσότερο για επεξεργασία.

Η λυοφιλίωση είναι δυναμικά μια μέθοδος επιλογής για την παραγωγή προϊόντων της καλύτερης δυνατής ποιότητας για χρήση στην βιομηχανία καλλυντικών. Εάν η υψηλής ποιότητας αλόη, που παρασκευάστηκε από τα φιλέτα του ζελέ και έχει υποβληθεί σε προσεκτική προκαταρκτική και ενδιάμεση κατεργασία είναι η πρώτη ύλη για λυοφιλίωση, προκύπτει ένα προϊόν πολύ υψηλής ποιότητας. Ωστόσο, είναι πιο οικονομικό να αποτελεί παροχή πρώτης ύλης ένα υλικό αλόης χαμηλής ποιότητας, υπερβολικά κατεργασμένο, υπερσυμπυκνωμένο με αλλαγή χρώματος και υψηλό περιεχόμενο σε στερεά μέσα στην διεργασία.

### ■ Η ξήρανση υπό ψεκάσμο του ζελέ της αλόης

Αυτή η μέθοδος είναι δυναμικά μία εξαιρετική μέθοδος για την συμπύκνωση και διατήρηση των εκχυλισμάτων αλόης. Ωστόσο, η φήμη του προϊόντος έχει αμαυρωθεί σημαντικά κατά τις αρχές του 1990, λόγω της διαδεδομένης απάτης που περιείχε μήτρα μαλτοδεξτρίνης στα προϊόντα αλόης. Η ξήρανση υπό ψεκάσμο (εικόνα 17, **Διεργασία W**) μπορεί να είναι μια διεργασία 2 βημάτων.

Πρώτα, τα συμπυκνώματα αλόης αναμιγνύονται με την μήτρα και τότε ψεκάζονται σε ένα ζεστό ρεύμα αέρα, που ξηραίνει το μίγμα της αλόης με την μήτρα. Η διεργασία ξεκινά όταν η μήτρα προστίθεται στο υγρό συμπύκνωμα της αλόης.



**Εικόνα 19.** Ένας ξηραντήρας υπό κατάψυξη σε βιομηχανική κλίμακα. Τέτοιος εξοπλισμός είναι πολύ ακριβός αφού το κόστος απομάκρυνσης του νερού ξεπερνά τα US\$2 ανά κιλό αφαιρούμενου νερού. Με επαρκή προστασία από υψηλές θερμοκρασίες, την υγρασία και το οξυγόνο ο επανασυσταμένος χυμός μπορεί να έχει έναν υψηλό χρόνο ζωής μερικών χρόνων ή το περισσότερο που μπορεί να επιτύχει το εκάστοτε σύστημα λυοφιλίωσης. Παρά του κόστους χρησιμοποιείται κυρίως από βιομηχανίες τροφίμων αστροναυτών.

[http://www.fao.org/docrep/005/y2515e/y2515e09.htm#P481\\_45415](http://www.fao.org/docrep/005/y2515e/y2515e09.htm#P481_45415)

Η μήτρα, είτε δισακχαρίτης της λακτόζης είτε μεγαλύτερου μοριακού βάρους σακχαρίτης, όπως η μαλτοδεξτρίνη, χρησιμοποιείται για να παράσχει έναν γρήγορο σχηματισμό και εύκολα ξηρανόμενο πυρήνα πάνω στον οποίο η αλόη να μπορεί να μεγαλώνει και να ξηρανθεί. Η μήτρα προστίθεται σε έναν λόγο περίπου 1g μήτρα / 1g στερεών. Οι βιομηχανίες στην βιομηχανία της αλόης που χρησιμοποιούν ξήρανση ψεκασμού, φαίνεται να προτιμούν την μαλτοδεξτρίνη, ειδικότερα την Lodex-10, μήτρα σε μήτρα λακτόζης. Το διάλυμα της αλόης και η μήτρα της μαλτοδεξτρίνης αντλούνται στην κορυφή του πύργου ψεκασμού, που μπορεί να έχει και ύψος 10 μέτρων. Το υγρό



τότε ψεκάζεται σε μία καθοδική πορεία από μία σειρά από στόμια σαν τέλεια ομίχλη. Ο πύργος, που είναι ένας κλειστός χώρος έχει μια θετική ροή αέρα που θερμαίνεται ανάμεσα στους 50 με 90 °C. Καθώς η ομίχλη πέφτει μέσω του θερμού αέρα κάτω στον άξονα του πύργου, το νερό εξατμίζεται και τα στερεά της αλόης/μήτρα ξηραίνονται. Το ξηρό προϊόν που αποτελείται από μικροσκοπικούς κόκκους, πέφτει σε έναν κωνικό συλλέκτη από τον οποίο απομακρύνεται συνεχώς. Υπάρχει μία δυναμική ισορροπία ανάμεσα τον ρυθμό ψεκασμού, την θερμοκρασία και την ταχύτητα του ρεύματος του θερμού αέρα με την φυσική χημεία του υγρού. Διατηρώντας αυτήν την ισορροπία είναι εύκολο να επιτευχθεί εάν συντηρηθεί ο εξοπλισμός καθώς πρέπει. Το ελεύθερο προϊόν είναι γενικά λευκό, ή εάν το συμπύκνωμα της αλόης έχει υποστεί μία μικρή αλλαγή χρώματος, ξεθωριασμένο λευκό με ελάχιστο προφανές άρωμα. Εάν η μαλτοδεξτρίνη υιοθετηθεί σαν μήτρα έχει μικρό περιεχόμενο σε μικρούς σακχαρίτες, το προϊόν μπορεί να διαθέτει μια ελαφρώς γλυκιά γεύση.



**Εικόνα 20.**

[http://www.powderandbulk.com/pb\\_services/news\\_center/publish/article\\_002748.shtml](http://www.powderandbulk.com/pb_services/news_center/publish/article_002748.shtml)  
<http://www.sanjivaniherbals.com/aloe.html>

## 6. Το προϊόν

**Ο**ι διεργασίες που περιγράφηκαν παραπάνω αποδίδουν ένα ελαφρώς κίτρινο με άσπρο υγρό. Στην περίπτωση του υψηλής ποιότητας ζελέ, το υλικό είναι σημαντικά ψευδοπλαστικό. Στις μελέτες των Strickland και Pelley σχετικά με την χημεία και την βιολογία της *Aloe barbadensis* Miller, το υλικό του ζελέ, λυοφιλωμένο και χωρίς προσθήκη συντηρητικών ή άλλης κατεργασίας ονομάζεται προϊόν ARF **Διεργασίας Β**. Αυτό το υλικό συνήθως με την προσθήκη συντηρητικών επισημαίνεται σαν "1:1 Ζελέ Aloe vera" (IASC, 2001). Ιδανικά όταν η μόλυνση του μεσόφυλλου είναι χαμηλή, η παστερίωση δεν επιδρά στο χρώμα του ζελέ της αλόης και η προκύπτουσα παστεριωμένη αλόη έχει επισημανθεί στην ετικέτα "χωρίς απορρόφηση σε ενεργό άνθρακα". Αυτό το υλικό καλείται σαν "**μη χρωματισμένο**" από την στιγμή που δεν έχει υποστεί κατεργασία αποχρωματισμού σε ενεργό άνθρακα. Ωστόσο, λόγω της δυσκολίας να διαχωρίσουμε όλο το μεσόφυλλο, ο περισσότερος μη αποχρωματισμένος ζελέ υφίσταται αλλαγή χρώματος μετά από την παστερίωση κατά πατρίδες-batch pasteurization.

- Τα πιο κοινά συντηρητικά που χρησιμοποιούνται σε αυτό το σημείο για να προλάβουν την βακτηριακή ανάπτυξη είναι το βενζοϊκό έως 0,1% και τα θειώδη έως και 0,1% για καλλυντικά.

- Το σορβικό σε συγκεντρώσεις μέχρι 0,1% χρησιμοποιείται για την καθυστέρηση της ανάπτυξης των μυκήτων.
- Αντιοξειδωτικά επίσης προστίθενται σαν μια προσπάθεια για να μην αλλάξει το χρώμα. Το ηγετικό σε αυτήν την κατηγορία είναι το ασκορβικό έως 0,1%. Τα θειώδη διαθέτουν επίσης αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Το κιτρικό μέχρι και 0,2% ή άλλα αποδεκτά οξέα τροφίμων συνήθως προστίθενται σαν ρυθμιστικά για να διατηρήσουν το pH σε ένα κατάλληλο εύρος μικρότερο του 4,5, το οποίο και από μόνο του έχει ήπιες βακτηριοστατικές επιδράσεις. Το κιτρικό από μόνο του έχει ελαφριά αντιοξειδωτική δράση.
- Σε ένα "1:1 Ζελέ" που είναι προορισμένος για καλλυντική χρήση, Germaben II είναι ένα εξαιρετικό αντιμικροβιακό συντηρητικό. Τα μέθυλο paraben, πρόπυλο paraben, Germall 115 (ημαζολινυδίνη ουρίας), είτε μεμονωμένα είτε σε συνδυασμό σαν Germaben II, είναι η βάση των καλλυντικών αντιμικροβιακών συντηρητικών.

<http://www.sielc.com/Compound-Propyl-Paraben.html>

Ο "Ζελέ Aloe vera, 1:1" ήταν το πρώτο προϊόν που πωλήθηκε από την βιομηχανία αλόης ακόμα και μέχρι σήμερα ενδέχεται να είναι το πιο ευρύτερα πωληθέν stock παροχής αλόης. Εντούτοις κανένα δεδομένο παραγωγής των διάφορων εκχυλισμάτων *Aloe barbadensis* είναι μέχρι σήμερα διαθέσιμο. Το IASC κάνει μόνο εκτιμήσεις αλλά παραδέχεται ότι αυτοί οι αριθμοί είναι μόνο 'μαντεψιές'. Οι τρεις μεγαλύτεροι παραγωγοί της *Aloe barbadensis* στον κόσμο είναι ιδιωτικά διαχειριζόμενοι και επομένως δεν παρουσιάζουν ούτε τα κέρδη τους αλλά και ούτε τα σχήματα παραγωγής. Ο "Ζελέ Aloe vera, 1:1" έχει χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή ποτών με την προσθήκη γλυκαντικών και γεύσεων, και στην παρασκευή καλλυντικών. Στην Συμπληρωματική και Εναλλακτική Ιατρική κοινότητα, είναι ευρύτερα πιστευτό να διαθέτει την καλύτερη βιολογική δραστηριότητα. Από την στιγμή που η παστερίωση δεν μεταβάλλει μόνο θεωρητικά την σύσταση της ύλης του υλικού, η χημική σύσταση του "Ζελέ Aloe vera, 1:1" θα πρέπει να είναι ίδια με τα πρότυπα των IASC και ARF. Στην πραγματικότητα η χημεία και βιολογική δραστηριότητα των εμπορικά διαθέσιμων υλικών διαφέρει σημαντικά.

#### ■ Συσχετίσεις της βακτηριολογίας με την υπερβολική επεξεργασία

Είναι γενικό συμπέρασμα το ότι εάν η αλόη περιέχει περισσότερα από  $10^6$  CFU βακτήρια, θα πρέπει να απορρίπτεται ή να μη υφίσταται κατεργασία. Ο πίνακας 6 αποτυπώνει έναν λόγο γι' αυτήν την γνώμη- η αλόη είναι πολύ πιθανό να χάσει την βιολογική της δραστηριότητα. Επιπλέον, η κατεργασία της αλόης που έχει μεγάλο βακτηριακό φορτίο είναι πολύ πιθανό να επιμολύνει τον εξοπλισμό επεξεργασίας και το περιβάλλον επεξεργασίας, επηρεάζοντας με αυτόν τον τρόπο μελλοντικές ποσότητες αλόης. Ωστόσο πολλές βιομηχανίες θα την κατεργαστούν υπό οποιαδήποτε μορφή, ελπίζοντας ότι η εφαρμογή υψηλής θέρμανσης για μεγάλη περίοδο θα θανατώσει όλους τους μικροοργανισμούς. Οι παρασκευαστές τέτοιων καταναλωτικών προϊόντων πρέπει να είναι ικανοί να προσδιορίσουν τέτοια υλικά έτσι ώστε να τα αποφύγουν να τα ενσωματώσουν στα προϊόντα τους.

Μία κοινή διαδικασία είναι η έντονη παστερίωση του επιμολυσμένου υλικού της αλόης σε υψηλότερη θερμοκρασία και για περισσότερο χρόνο από το σύνηθες. Σε παστερίωση κατά παρτίδες θερμοκρασίες  $80^{\circ}\text{C}$  και χρόνοι 30-45 min δεν είναι ασυνήθεις. Στην HTST παστερίωση, η πιο συχνή θερμοκρασία είναι αυτή των  $95^{\circ}\text{C}$ . Όταν υπάρχει έστω και μία υποψία για βακτηριακή μόλυνση, οι χρόνοι σταθεροποίησης στην θερμοκρασία των  $95^{\circ}\text{C}$  αγγίζουν τα 5-19 λεπτά. Αν το υλικό βρεθεί να είναι πάλι επιμολυσμένο τότε υφίσταται και πάλι παστερίωση. Αυτή η διεργασία πολυεπεξεργασίας συχνά συνοδεύεται με επιπρόσθετους χειρισμούς με ενεργό άνθρακα σε μία προσπάθεια να απομακρυνθούν τα αποτελέσματα της καραμελοποίησης και της οξειδωσης των ανθρακινονών που συμβαίνουν κατά την διάρκεια εκτεταμένης θέρμανσης.

Το αποτέλεσμα αυτού του υλικού έχει χαρακτηριστεί οργανοληπτικά "υπερβολικά επεξεργασμένο". Παρόλη της χρήσης του ενεργού άνθρακα, υπάρχει συχνά ένα κίτρινο-καφέ χρώμα λόγω των προϊόντων οξειδωσης που είναι ιδιαίτερα υδροφιλικά, και έχουν περάσει μέσα από τον ενεργό άνθρακα. Μπορεί να υπάρχει η τάση για αυτό το χρώμα να γίνεται πιο έντονο και σκούρο με την πάροδο του χρόνου. Αυτό το χρωματικό πρόβλημα αλλαγής είναι ιδιαίτερα κοινό στις ασυνεχείς διεργασίες απ' ότι στην HTST παστερίωση. Πολλά από τα τερπένια και τους εστέρες που δίνουν στην αλόη το διακριτό ξυλώδες άρωμα έχουν χαθεί λόγω της εξάτμισης. Αυτά αντικαθίστανται από τις οσμές οξειδωμένων υλικών που θυμίζουν καμένη ζάχαρη. Τελικά, η γεύση της αλόης αλλάζει. Παρόλο που η ακατέργαστη αλόη είναι κάπως πικρή, έχει έναν τόνο γλυκύτητας, λόγω των περίπου 10-20% στερεών που είναι η γλυκόζη. Αυτή η διακριτή γεύση χάνεται και το υλικό είναι πολύ πικρό με την γλυκιά γεύση να αντικαθίσταται από μια έντονη "καψαλισμένη" γεύση.

**Πίνακας 8.** Συμπτώματα και Λόγοι της Υπερβολικά Κατεργασμένης Αλόης

Σύστημα	Ιδιότητα/Αναλύτης	Λόγος
Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά	Χρώμα	Οξείδωση των τετραυδροξυάνθρακινόνων σε "κόκκινα συστατικά" με την επακόλουθη πύκνωση των καφέ/ μαύρων πολυφαινολικών συστατικών
	Χρώμα	Καραμελοποίηση της γλυκόζης και των πολυσακχαριτών λόγω θερμότητας
	Άρωμα	Απώλεια αρώματος λόγω εξάτμισης τερπενίων κτλ
	Γεύση	Απώλεια των γλυκών τόνων – κατανάλωση γλυκόζης λόγω βακτηρίων Παραγωγή γαλακτικού οξέος από τα βακτήρια
	Γεύση	Καψαλισμένη γεύση – οξείδωση σακχάρων
Εργαστήριο	Μαλικό οξύ	Απόν
Υπολείμματα γλυκόζης	Απόντες πολυσακχαρίτες	Απόντες οι ακετυλιωμένες γλυκομαννάνες
	Γαλακτικό οξύ	Παρόν

- Χημικά η υπερβολική επεξεργασία σχετίζεται με αλλαγές όπως:
  - i. Απώλεια του περιεχομένου πολυσακχαριτών,
  - ii. Απώλεια του χρώματος,
  - iii. Παρουσία γαλακτικού οξέος και
  - iv. Απόντα επίπεδα μαλικού οξέος.

Το κανονικό περιεχόμενο σε πολυσακχαρίτες στον ζελέ της αλόης είναι περίπου 6 με 12%, με τις εξόζες που κατακρημνίζονται με αλκοόλη σαν ένα ποσοστό των ολικών στερεών. Η υπερβολική κατεργασία ή εσφαλμένη κατεργασία γενικά μειώνει το επίπεδο πολυσακχαριτών σε 1 με 2% των ολικών στερεών λόγω της μη ελεγχόμενης δραστηριότητας των ενδογενών και εξωγενών β1→4 γλυκοσιδάσων. Ειδικότερα, οι ακετυλιωμένες γλυκομαννάνες υδρολύονται και οι μόνοι πολυσακχαρίτες που απομένουν είναι οι γαλακτάνες και ηλεκτίνες (Pelley, 1998). Αυτή η απώλεια πολυσακχαριτών παρατηρείται επίσης όταν τα ΕΟΦ υφίστανται εξοντωτική κατεργασία με κυτταρινάσες κατά την προκατεργασία για να ενισχύσουν την απόδοση του χυμού. Οι μικρόκοκκοι που προκαλούν την περισσότερη βακτηριακή επιμόλυνση εμφανίζονται να αφομοιώνουν το μαλικό οξύ. Αυτό συμβάλλει στην απώλεια της "κορυφής Ε" στην HPLC ανάλυση της αλόης.

Είναι από την εμπειρία των ερευνών ότι τα μισά εμπορικά προϊόντα της αλόης στην αγορά εμφανίζουν μερικές χημικές μετατροπές και τουλάχιστον το 20% όλων των προϊόντων αλόης παρουσιάζουν ολόκληρο το φάσμα της αλλαγής υποβάθμισης (Pelley, 1998). Αυτό δεν σημαίνει ότι

αυτά τα υλικά δεν είναι νομοθετικά, "αυθεντικές αλόες", αλλά ότι έχουν νοθευτεί ή διαλυτοποιηθεί. Ωστόσο σημαίνει ότι είναι απλώς υπερβολικά κατεργασμένα υλικά και δεν είναι υψηλής ποιότητας αλόες. Αυτά τα υλικά είναι απλά αλόες που έχουν αφεθεί να αποσυντεθούν κατά την διάρκεια της κατεργασίας.

- ➔ Αυτή η υπερβολική κατεργασία είτε εξαιτίας έλλειψης γνώσεων των σωστών τεχνικών –μία αποτυχία τήρησης των σωστών παρασκευαστικών κανόνων- ή με σκοπό να καλυφθεί το υλικό που μια περίοδο είχε υποστεί σοβαρή βακτηριακή μόλυνση.

Η αρμόζουσα χημική ανάλυση, που πρέπει να επιτευχθεί από τον προμηθευτή την πρώτης ύλης, πρέπει να ενημερώνει τον ενημερωμένο καταναλωτή του προϊόντος της αλόης για την πραγματική ιστορία του εκάστοτε παρασκευάσματος.

# ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



## Κεφάλαιο 1

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ  
ΓΙΑΝΝΟΥΚΟΣ

Ε.Μ.Π 2011

## Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή- Σκοπός
2. Προκατεργασία των φύλλων της *Aloe barbadensis* Miller
3. Παραγωγή σκονών από τα φιλέτα της *Aloe barbadensis* Miller
  - ✦ Ξήρανση υπό κατάψυξη
  - ✦ Ξήρανση υπό κενό σε  $T=const$
  - ✦ Ξήρανση υπό ατμοσφαιρικό αέρα σε  $T=const$ .
4. Η οπτική μικροσκοπία της *Aloe barbadensis* Miller
5. Ενόργανες μέθοδοι φυσικής ανάλυσης της *Aloe barbadensis* Miller
  - ✦ Φασματομετρία υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier-FTIR
  - ✦ Φασματομετρία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού-NMR
  - ✦ Φασματομετρία ατομικής εκπομπής με πηγή επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος-ICP-AES
  - ✦ Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης- SEM
6. Αποτελέσματα από τις ενόργανες μεθόδους ανάλυσης
7. Αποτελέσματα ξηράσεων

## 1. Εισαγωγή- Σκοπός

Στις μέρες μας η κατεργασία του χυμού της *Aloe barbadensis* Miller που προκύπτει από τα φύλλα του ζελέ του φυτού έχει γίνει μια μεγάλη βιομηχανία παγκοσμίως, με την ιδιαίτερη εφαρμογή της στην βιομηχανία τροφίμων. Σχεδόν όλοι οι καταναλωτές προϊόντων αλόης είναι πεπεισμένοι ότι τα προϊόντα αυτά, είτε υπό μορφή σκόνης, ποτού ή ιατρικού σκευάσματος, εξετάζονται εξονυχιστικά και κάτω από επιστημονική εποπτεία. Ωστόσο, μια γενικότερη σύγχυση στην αγορά αλόης επικρατεί σχετικά με την αποτελεσματικότητα της μεγάλης αυτής ποικιλίας προϊόντων αλόης.

**Οι περισσότεροι καταναλωτές συχνά αναρωτιούνται «ποια είναι η "αληθινή" Aloe vera;».**

Επιτακτική ανάγκη είναι λοιπόν μία λεπτομερέστερη ανάλυση του ίδιου του φυτού καθώς και των παρασκευασμάτων του από χημικής απόψεως αλλά και η ποιότητα αυτών. Σε αυτό το κεφάλαιο λοιπόν καθώς και στα δύο επόμενα θα γίνει η έκθεση των διαδικασιών και των αποτελεσμάτων στα εξής:

- προκατεργασία των φύλλων της *Aloe barbadensis* Miller,
- παραγωγή σκονών της *Aloe barbadensis* Miller με τρεις διαφορετικές μεθόδους ξήρανσης,
- ενόργανη ανάλυση αυτών των σκονών βάσει φυσικών μεθόδων ανάλυσης,
- μέτρηση αντιοξειδωτικών στην σκόνη της *Aloe barbadensis* Miller και
- παστερίωση και ανάπτυξη χυμών της *Aloe barbadensis* Miller.

Σε αυτό το κεφάλαιο θα γίνει η έκθεση των τριών πρώτων ζητημάτων ενώ τα υπόλοιπα δύο θα μας απασχολήσουν στο επόμενο κεφάλαιο. Τέλος στο τρίτο κεφάλαιο θα συγκριθούν και θα συζητηθούν τα αποτελέσματα μας με προηγούμενες μελέτες άλλων ερευνητών.

## 2. Προκατεργασία των φύλλων της *Aloe barbadensis* Miller

Αρχικά σε πρώτο στάδιο πραγματοποιήθηκε η υποδοχή των φύλλων της *Aloe barbadensis* Miller. Στα τρία πρώτα θέματα αυτού του κεφαλαίου η ανάλυση πραγματοποιείται για φύλλα από τρεις διαφορετικές γλάστρες ενώ για τα επόμενα δύο θέματα του επόμενου κεφαλαίου τα φύλλα προέρχονταν από επίγειες φυτείες της περιοχής Αμαλιάδος Πελοποννήσου. Τα φύλλα από τις γλάστρες εν συγκρίσει με τα φύλλα από τον αγρό είχαν τα εξής χαρακτηριστικά:

- Μικρότερα από τα φύλλα του αγρού. Στον πίνακα 3 (υποκεφάλαιο 7) δίνονται τα χαρακτηριστικά των φύλλων που χρησιμοποιήθηκαν από τις γλάστρες.
- Πιο καθαρά από επιμολύνσεις.
- Διέθεταν πιο ανοιχτό χρώμα εξαιτίας του σκιερού μέρους όπου μεγάλωναν.
- Η απόδοση σε χυμό ήταν κατά πολύ μικρότερη από τα φύλλα του αγρού.
- Ο χυμός σε ορισμένα φύλλα γλάστρας είχε το ίδιο χρώμα με το αντίστοιχο χρώμα που αναπτυσσόταν το φυτό.

Σε κάθε φύλλο η διαδικασία καθαρισμού ήταν η ίδια. Αντίθετα από την κατεργασία των φύλλων με υποχλωριώδες νάτριο όπως αναφέρθηκε στην βιομηχανία, η πορεία που ακολουθήθηκε ήταν πολύ απλούστερη. Αρχικά τα φύλλα κόβονταν κάθετα, έτσι ώστε να αφαιρεθεί το άσπρο τμήμα που ήταν πιο κοντά στο στέμμα του φυτού. Από τα φύλλα εν συνεχεία αποκοπτόταν η κορυφή του φύλλου έως το πρώτο παράπλευρο εξόγκωμα -αγκάθι- και αφήνονταν για περίπου μία ώρα ή όσο χρειαζόταν έτσι ώστε να στάξει όλο το δυνατό περιεχόμενο εξιδρώματος που περιέχει τις ανθρακινόνες. Το πλύσιμο των φύλλων γινόταν με καθαρό νερό βρύσης παράλληλα με τον καθαρισμό από διάφορες ακαθαρσίες

με την χρήση βούρτσας. Τα φύλλα του αγρού όπως ήταν λογικό περιείχαν τις περισσότερες ακαθαρσίες είτε αυτές ήταν χώμα, είτε διάφοροι οργανισμοί τύπου μυκήτων. Το πλύσιμο πραγματοποιήθηκε τόσο πριν από την αποκοπή των άκρων των φύλλων, όσο και μετά απ' αυτήν. Αυτό μπορεί να δικαιολογηθεί από το ότι ήταν πολύ πιο αποτελεσματική η εξαγωγή του υπόλοιπου κίτρινου εξιδρώματος που δεν είχε εξαχθεί από το στάξιμο, υπό την ροή νερού πάνω στα φύλλα. Η χρήση σαπουνιού ή άλλων καθαριστικών μέσων αποφεύχθηκε αφού δεν είναι γνωστό το αν οι τασιενεργές ουσίες των σαπουνιών διεισδύουν στον παρεγχυματικό ιστό επιμολύνοντάς τον.

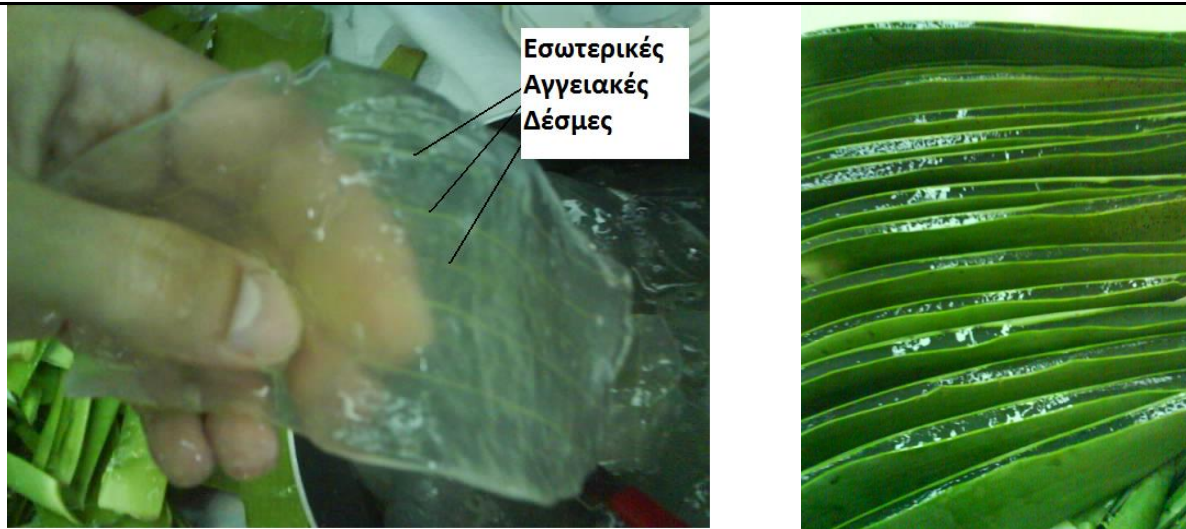
Μετά μισή ώρα περίπου κόβονται με ιδιαίτερη προσοχή τα άκρα, κατά παράλληλο τρόπο με τον επιμήκη άξονα του φύλλου, έτσι ώστε να φαίνεται το παρέγχυμα όσο το δυνατόν λιγότερο αλλά και να έχει γίνει πλήρης απομάκρυνση των παράπλευρων αγκαθωτών επιφανειών. Ακολουθεί η αποκοπή σε μικρά κομμάτια των 8-12cm κάθετα στον επιμήκη άξονα με σκοπό την όσο το δυνατόν μεγαλύτερη απόδοση του φύλλου σε χυμό. Στην βιομηχανική κλίμακα αυτό είναι ιδιαίτερα χρονοβόρο, κατά το χειρονακτικό φιλετάρισμα, και γι' αυτό επιχειρείται μόνο στην εργαστηριακή περίπτωση. Προτείνεται η χρήση μαχαιριού ή λεπίδας χωρίς δόντια με ευλύγιστο μετταλικό μέρος. Το μαχαίρι διαδραματίζει μεγάλη σημασία στην ευκολία αλλά και την καθαρότητα του προϊόντος.



**Εικόνα 1.** Ένα τυπικό φύλλο *Aloe barbadensis* Miller από τον αγρό. Είναι εμφανές το ιδιαίτερο πράσινο χρώμα του γεγονός που οφείλεται στον εξωτερικό χώρο που βρισκόταν, στην συνεχή πρόσληψη θρεπτικών συστατικών απευθείας από το έδαφος, την μεγαλύτερη έκθεσή του στο ηλιακό φως και την συνεχή ανανέωση του αέρα. Ένα αντίστοιχο φύλλο που μεγαλώνει σε γλάστρα έχει πιο ανοιχτό πράσινο χρώμα και το μέγεθος του τόσο σε πλάτος όσο και μήκος είναι περίπου το μισό του παραπάνω φύλλου. Το παραπάνω φύλλο έχει μήκος περίπου 65cm.

Το τελευταίο και μεγαλύτερο τμήμα του πράσινου μεσόφυλλου αφαιρείται από τις κύριες επιφάνειες των τμημάτων του φύλλου αποκαλύπτοντας μας το διαφανές άχρωμο παρέγχυμα. Αυτό είναι φανερό και από την ανάλυση των εικόνων της οπτικής μικροσκοπίας ενός τμήματος διατομής του φύλλου που παρουσιάζονται σε ξεχωριστό τομέα κάτωθι. Σε αυτό το σημείο δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή έτσι ώστε να μην παραμείνει ούτε ένα μικρό πράσινο τμήμα στα κομμάτια του παρεγχύματος, ενώ οι πιο παχυλές αγγειακές δέσμες της επιφάνειας αφαιρέθηκαν με ιδιαίτερη προσοχή. Το προϊόν απ' αυτήν την διαδικασία ήταν τα φιλέτα του παρεγχύματος.





**Εικόνα 2.** Ένα τυπικό φιλέτο παρεγχύματος της *Aloe barbadensis* Miller. Είναι εμφανείς οι πράσινες αγγειακές δέσμες. Στην δεξιά φωτογραφία απεικονίζονται τα φύλλα της αλόης χωρίς τις παράπλευρες αγκαθωτές επιφάνειες. (φωτογραφίες προκατεργασίας φύλλων του εργαστηρίου)

### 3. Παραγωγή σκονών από τα φιλέτα της *Aloe barbadensis* Miller

Τα φιλέτα έπειτα τοποθετήθηκαν σε μεγάλα δοχεία όπου προστέθηκε απιονισμένο νερό και αφήθηκαν για 10-15min. Σε αυτό το σημείο πρέπει να σημειώσουμε δύο διαφορετικούς τρόπους περαιτέρω κατεργασίας. Ο πρώτος που μας ενδιαφέρει στο προκείμενο κεφάλαιο είναι και ο λιγότερο καταστρεπτικός τρόπος για την ανάλυση του φυτού. Αυτός έχει να κάνει με την παραγωγή σκόνης αλόης με σκοπό την ενόργανη ανάλυση της. Η λήψη των φιλέτων από τα δοχεία έγινε ένα προς ένα, και αφότου καθαρίστηκαν με κοινό χαρτί κουζίνας έτσι ώστε να φύγει το λατέξ τοποθετήθηκαν σε επιφάνειες αλουμινόχαρτου και τοποθετήθηκαν στους χώρους ξήρανσης. Το αλουμινόχαρτο επιλέχθηκε σε σχέση με κεραμικές κάψες αφού έχει μικρό βάρος και οι ζυγίσεις με αναλυτικό ζυγό είναι πιο ακριβείς. Το λατέξ παρατηρήθηκε ότι δεν αποσπώταν από τα φιλέτα με απλή πλύση με νερό βρύσης αλλά μόνο με τα χέρια. Η συνολική πορεία λοιπόν προς την ξήρανση ήταν διασφαλισμένη ότι δεν περιελάμβανε καθόλου χημικά μέσα ενώ η διαδικασία της συγκομιδής από τις γλάστρες μέχρι και την τοποθέτηση στους χώρους ξήρανσης δεν ξεπερνούσε τις 2 ώρες.

Η ξήρανση έλαβε χώρα λοιπόν αποκλειστικά για τα φιλέτα του παρεγχύματος με τρεις διαφορετικές μεθόδους:

- ξήρανση υπό κατάψυξη-λυοφιλίωση,
- ξήρανση υπό κενό σε σταθερή θερμοκρασία,
- ξήρανση υπό ατμοσφαιρικό αέρα σε σταθερή θερμοκρασία.

Και στις τρεις τεχνικές ξήρανσης η αρχική διαδικασία ήταν κοινή. Τα φιλέτα προέρχονταν από τρία φύλλα γλάστρας, για κάθε τεχνική, έτσι ώστε τα φιλέτα από το κάθε φύλλο να είναι σε μία επιφάνεια αλουμινόχαρτου για ευκολία ζύγισης. Τα δείγματα παρακολουθούνταν και ζυγίζονταν ανά τακτά χρονικά διαστήματα έτσι ώστε να προκύψει η καμπύλη ξήρανσης.

#### ✦ Ξήρανση υπό κατάψυξη

Αυτή η τεχνική ξήρανσης απαιτεί το δείγμα να είναι σε θερμοκρασίες κάτω των  $-30^{\circ}\text{C}$  προτού ξηρανθεί. Τα καθαρά από το λατέξ φιλέτα μας λοιπόν αποθηκεύτηκαν στους  $-33^{\circ}\text{C}$  για 24 ώρες αφότου είχαν προζυγιστεί. Μετά 24 ωρών τα κατεψυγμένα φιλέτα τοποθετήθηκαν στον θάλαμο ξήρανσης. Λόγω της φάσης των δειγμάτων η μείωση της πίεσης σε μόλις μερικά  $\text{milliTorr}$  υπό σταθερή θερμοκρασία οδηγεί σε μετάβαση από την φάση του στερεού στην φάση του αέριου σε ένα φαινόμενο που καλείται εξάχνωση. Ο χρόνος αναμονής για την ολική ξήρανση του υλικού ήταν περίπου 48 ώρες.

#### ✦ Ξήρανση υπό κενό σε $T=\text{const.}$

Εδώ τα φιλέτα όπως ακριβώς προέκυψαν από την συνολική κατεργασία των 2 ωρών, οδηγήθηκαν απευθείας σε έναν θάλαμο κενού ελεγχόμενης θερμοκρασίας. Η θερμοκρασία του θαλάμου ορίστηκε στους  $60^{\circ}\text{C}$  και τα δείγματα χρειάστηκαν περίπου 30 ώρες.

#### ✦ Ξήρανση υπό ατμοσφαιρικό αέρα σε $T=\text{const.}$

Σε αυτήν την περίπτωση τα φιλέτα τοποθετούνται σε θάλαμο ελεγχόμενης θερμοκρασίας μεν, αλλά σε επαφή με τον ατμοσφαιρικό αέρα. Η θερμοκρασία ήταν επίσης  $60^{\circ}\text{C}$  και ο χρόνος ξήρανσης ήταν περίπου 35 με 40 ώρες.

### 4. Η οπτική μικροσκοπία της *Aloe barbadensis* Miller

Οι δημοσιεύσεις πάνω στην δομή του φύλλου της *Aloe barbadensis* Miller έχουν ρίξει ιδιαίτερο φως πάνω σε ένα πολύ σημαντικό θέμα. Οι Y. Ni, D. Turner, K.M. Yates, I. Tizard το 2004 παρουσίασαν κάποια χαρακτηριστικά οπτικής μικροσκοπίας παράλληλα με ιστολογικές αναλύσεις των φύλλων της *Aloe barbadensis* Miller. Αν και οι εικόνες τους ξεκαθάρισαν την μορφολογία του εσωτερικού των φύλλων πολλά δομικά χαρακτηριστικά παραμείνανε άγνωστα, όπως η δομή των αγγειακών δεσμών και οι περιοχές ανάπτυξης του φύλλου. Πιο πριν το 1976 οι Chin-Yi Lu και Su-Hwa Tsai Chiang μελετώντας την πλευρική πάχυνση του στέμματος της *Aloe barbadensis* Miller είχαν ήδη απαντήσεις σε αυτά τα ερωτήματα και εξήγαγαν χονδρικά αλλά σημαντικά συμπεράσματα σχετικά με την ανάπτυξη του ίδιου του φύλλου της. Τα συμπεράσματα των ανωτέρω βρίσκονται σε καλή συμφωνία με τα ευρήματα από την οπτική μικροσκοπία που διεξήχθη στο εργαστήριό μας (εικόνα 3). Οι παρακάτω εικόνες αποτελούν ζωντανό δείγμα φύλλου αλόης από γλάστρα .

### 5. Ενόργανες μέθοδοι φυσικής ανάλυσης της *Aloe barbadensis* Miller

Η χημική σύσταση των σκονών αλόης απετέλεσε τον βασικό άξονα της παρούσας εργασίας. Είναι γνωστό από το κεφάλαιο περί χημείας της αλόης ότι η ίδια περιέχει πολλά συστατικά, μερικά εύκολα μετρήσιμα και μερικά μετρήσιμα μετά από διαδοχικές εκχυλίσεις και απομονώσεις. Ωστόσο στην πειραματική μας διαδικασία ενδιαφέρον παρουσίασαν οι εξής πειραματικές μέθοδοι:

#### ✦ Φασματομετρία υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier-FTIR

Σ' αυτήν καθορισμένες ποσότητες σκόνης αλόης και βρωμιούχου καλίου-KBr αναμίχθηκαν και έγιναν με την βοήθεια πρέσας ένα δισκίο. Αυτό τοποθετήθηκε στην θέση του δειγματοφορέα στο όργανο FTIR και έλαβε χώρα η μέτρηση. Η παραπάνω διαδικασία έγινε τρεις φορές για κάθε τύπο ξήρανσης. Η

μεθοδολογία FTIR συνίσταται στην λήψη ενός σήματος ως συμβολογράφημα και με την βοήθεια του μαθηματικού μετασχηματισμού Fourier αποκωδικοποίησή του για την παραλαβή του φάσματος. Βασίζεται στην απορρόφηση υπέρυθρης ακτινοβολίας από τα μόρια μιας ένωσης τα οποία διεγείρονται σε υψηλότερες στάθμες δόνησης ή περιστροφής. Μόνον τα ετεροάτομα ή μόρια που αλλάζει η διπολική ροπή τους μπορούν να ανιχνευτούν.

#### ✦ Φασματομετρία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού-NMR

Η φασματομετρία NMR βασίζεται στην χημική μετατόπιση, δηλαδή τον συντονισμό χημικά μη ισοδύναμων πυρήνων σε διαφορετικές συχνότητες, λόγω του διαφορετικού βαθμού προστασίας τους από τα ηλεκτρόνια. Γενικά χρησιμεύει στην ταυτοποίηση χαρακτηριστικών ομάδων και στην διασάφηση της δομής οργανικών ενώσεων. Στην περίπτωση της αλόης το φάσμα NMR ήταν τύπου  $^1\text{H}$  και η διάλυση της σκόνης αλόης έλαβε χώρα σε  $\text{D}_2\text{O}$ , δηλαδή σε βαρύ ύδωρ.

#### ✦ Φασματομετρία ατομικής εκπομπής με πηγή επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος-ICP-AES

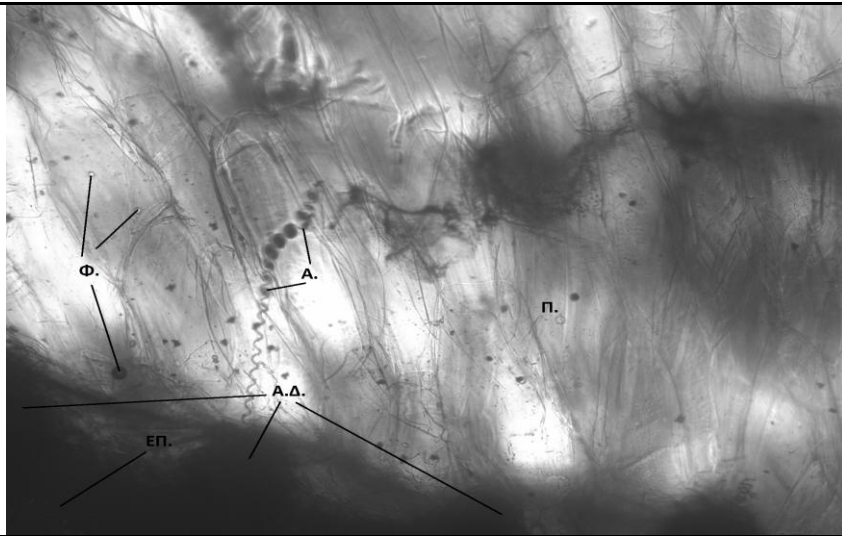
Η φασματομετρία ICP-AES αποτελεί μια παραλλαγή της κλασικής φασματομετρίας ατομικής εκπομπής με διέγερση σπινθήρα ή τόξου. Σε αυτήν την περίπτωση το δείγμα υπό μορφή διαλύματος εισάγεται στον πυρσό που αποτελείται από πλάσμα -θερμοκρασίας 10000 K, όπου με τις συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας που επικρατούν ιονίζονται τα περισσότερα στοιχεία του περιοδικού συστήματος σχηματίζοντας ως επί το πλείστον ιόντα απλού φορτίου, αφότου προηγηθούν οι διαδικασίες της εξάτμισης, διάστασης και διέγερσης. Αποτελεί μία μέθοδο προσδιορισμού μικρών συγκεντρώσεων στοιχείων που διεγείρονται και ιονίζονται δύσκολα, για αναλύσεις πολλών στοιχείων σε πολλά δείγματα και για προσδιορισμό στοιχείων από μερικά ppm μέχρι %.

Βασική χρήση της φασματομετρίας ICP-AES αποτελεί και η γεωργική χημεία όπου προκύπτει η καταλληλότητα των εδαφών για διάφορες καλλιέργειες. Βάσει αυτής της εφαρμογής πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός στις σκόνες που προέκυψαν από τους τρεις τύπους ξήρανσης για τα εξής στοιχεία: Ni, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Cd, Pd, Na, K και Ca.

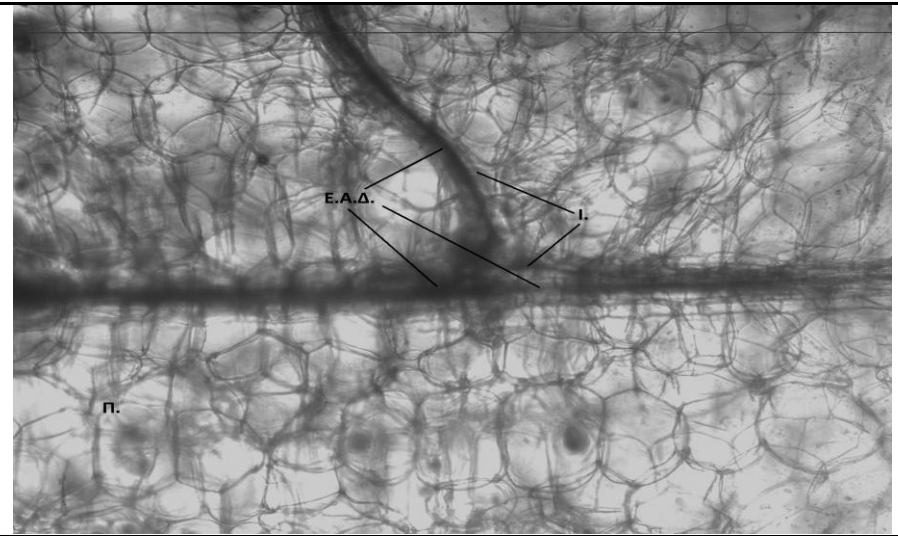
#### ✦ Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης- SEM

Με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης μπορούμε να διεξάγουμε στοιχειακές ποιοτικές αλλά και ημιποσοτικές αναλύσεις με πολλές γεωμετρικές λεπτομέρειες. Το SEM λειτουργεί όπως περίπου και ένα οπτικό μικροσκόπιο μόνο που χρησιμοποιεί δέσμη ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας αντί για φως. Τα ηλεκτρόνια λόγω της κυματικής φύσης τους δύνανται να εστιάσουν όπως και τα φωτεινά κύματα αλλά σε πολύ μικρότερη επιφάνεια. Από τα άτομα των στοιχείων που σαρώνονται με την δέσμη ηλεκτρονίων εκπέμπονται κυρίως δευτερογενή και οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια καθώς και ακτίνες X, που η ένταση όλων αυτών των εκπεμπόμενων ηλεκτρονίων επηρεάζεται από τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας. Για τα πειράματά μας χρησιμοποιήθηκε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης με φασματόμετρο ενεργειακής διασποράς ακτινών X.

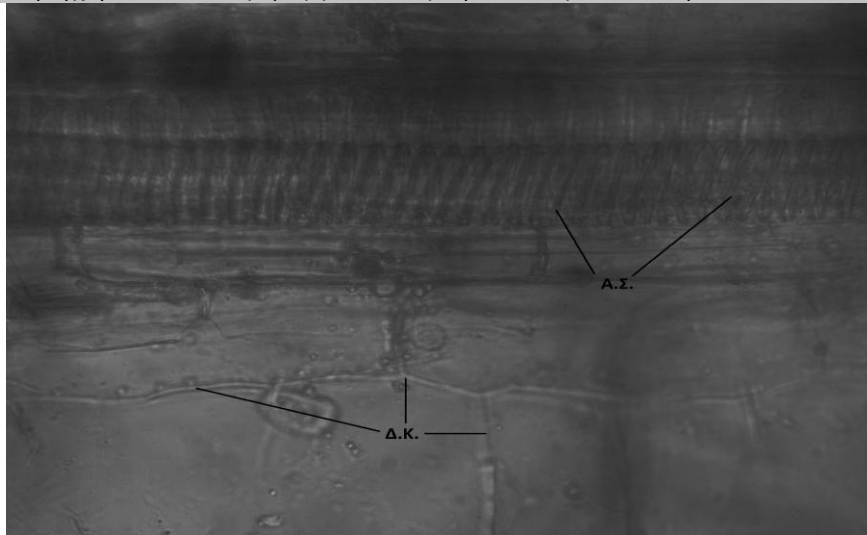
Η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης πραγματοποιήθηκε για την αποτύπωση της μικροδομής των κυττάρων του παρεγχύματος των αποξηραμένων δειγμάτων αλόης και με τις τρεις μεθόδους ξήρανσης. Η προκατεργασία του δείγματος ήταν να καταστήσουμε όλα τα δείγματα αγωγίμα με επικάλυψη από χρυσό. Η επικάλυψη αυτή ήταν μέτρια τόση ώστε να καταστεί το υλικό αγωγίμο αλλά και να μην επικαλυφθούν σημαντικές λεπτομέρειες. Οι εικόνες που αποτυπώθηκαν ήταν υψηλού βαθμού λεπτομέρειας και ανάλυσης και παρουσιάζονται στην εικόνα 4.



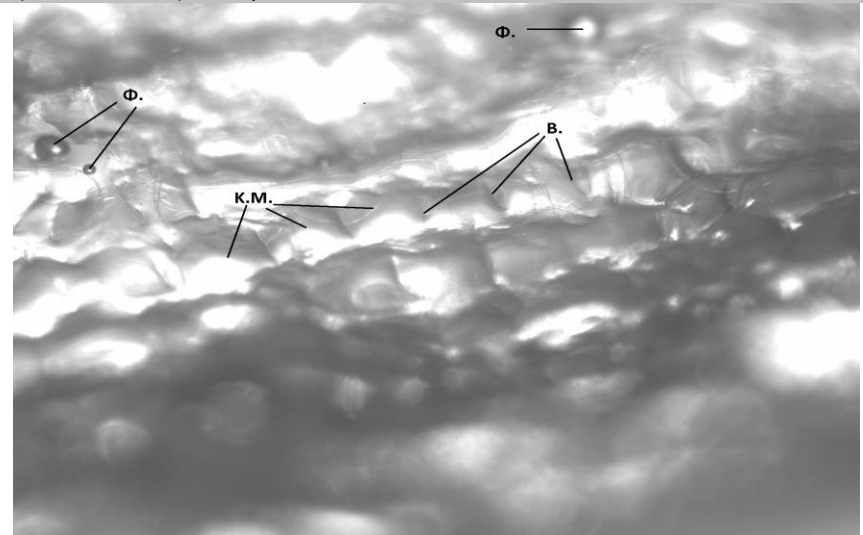
**Εικόνα 3α.** Κάθετη επιφανειακή τομή ενός φύλλου *A. barbadensis* M. Φαίνονται η επιδερμίδα ΕΠ, οι αγγειακές δέσμες ΑΔ, τα αγγεία Α. Επίσης εικονίζονται το παρέγχυμα Π, και διάφορες φυσαλίδες νερού εντός των κυττάρων.



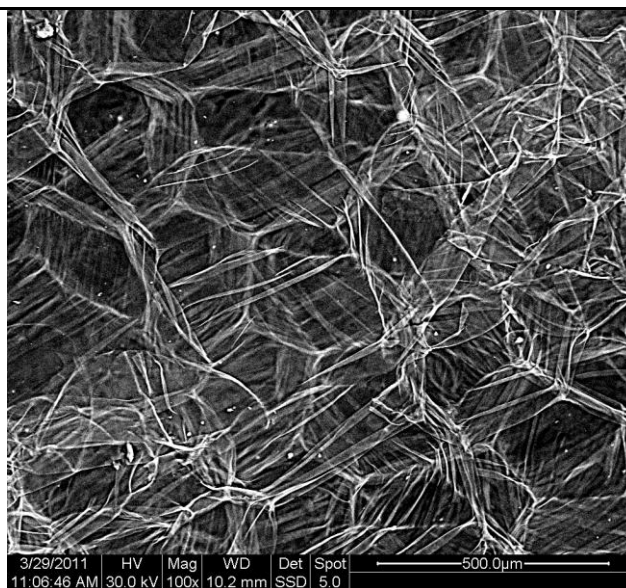
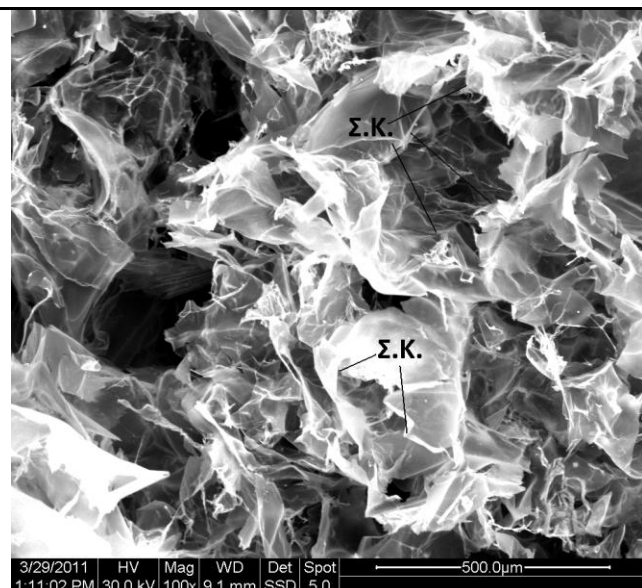
**Εικόνα 3β.** Πλάγια τομή του ίδιου φύλλου, με τις ίνες Ι να περιβάλλουν τις εσωτερικές αγγειακές δέσμες ΕΑΔ. Τα εξαγωνικά κύτταρα του παρεγγύματος φαίνονται πιο ξεκάθαρα.



**Εικόνα 3γ.** Αγγειακοί σωλήνες ΑΣ διατρέχουν όλο το παρέγχυμα ενώ διακυτταρικά κανάλια ΔΚ συμβάλλουν στην διανομή των θρεπτικών συστατικών και του νερού.

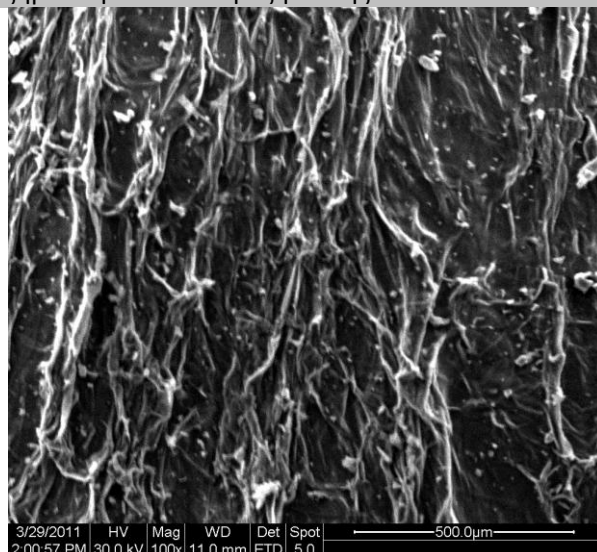


**Εικόνα 3δ.** Οι κυτταρικές μεμβράνες ΚΜ των παρεγγυματικών κυττάρων δημιουργούν ένα πέπλο με βαθμιδώσεις καθιστώντας το φύλλο λειτουργικότερο.



**Εικόνα 4α:** Αφυδατωμένα κύτταρα παρεγχύματος της *A. barbadensis* Miller σε ξήρανση υπό κατάψυξη.

**Εικόνα 4β:** Αφυδατωμένα κύτταρα παρεγχύματος της *A. barbadensis* Miller σε ξήρανση υπό κενό.



**Εικόνα 4γ:** Αφυδατωμένα κύτταρα παρεγχύματος της *A. barbadensis* Miller σε ξήρανση υπό αέρα.

## 6. Αποτελέσματα από τις ενόργανες μεθόδους ανάλυσης

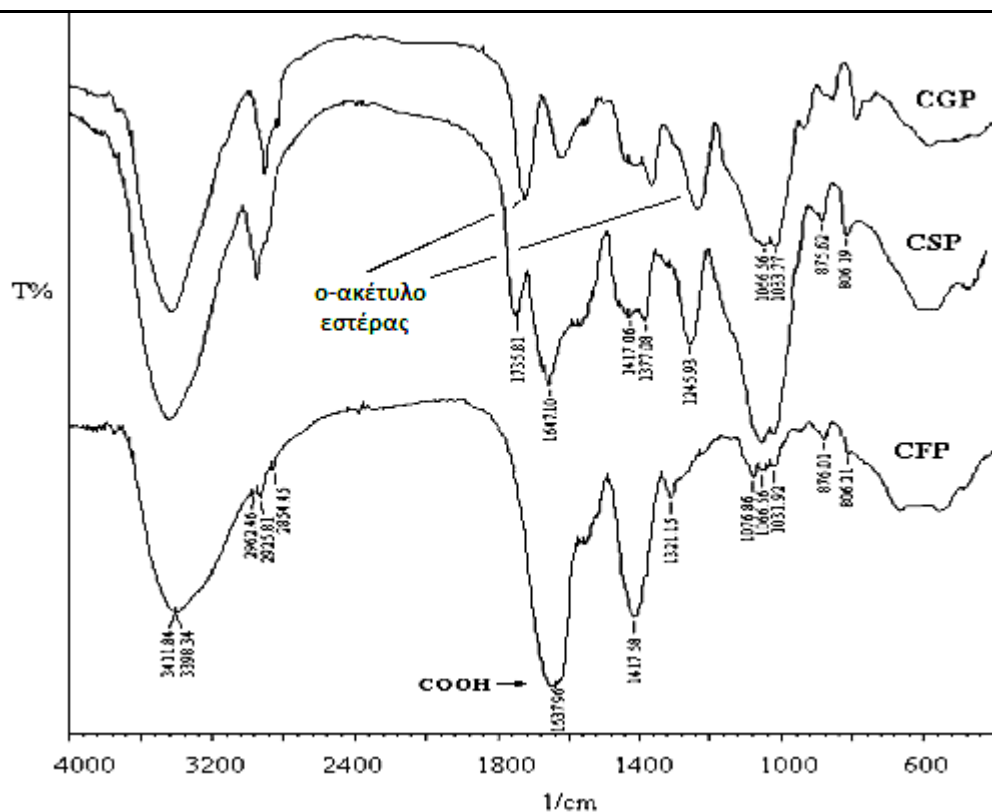
### ✦ Φασματομετρία υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier-FTIR

Τα αποτελέσματα αυτής παρουσιάζονται για λόγους έκτασης του κεφαλαίου στο παράρτημα 1 (διαγράμματα 1α, 1β και 1γ). Το κάθε δισκίο είχε μορφή παστίλιας και κατασκευάστηκε με μία πρέσα λαδιού που εφάρμοσε πίεση 10tn. Για το δισκίο απαιτήθηκαν 2mg σκόνης αλόης και 100mg KBr. Οι μετρήσεις έγιναν δις για επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων (όπως και για κάθε άλλο φάσμα). Το

όργανο μέτρησης γι' αυτήν την ανάλυση όπως και όλες τις άλλες αναλύσεις παρουσιάζονται στο παράρτημα 2.

Δια συγκρίσεως των φασμάτων μας για την ανάλυση των τριών τύπων σκόνης με την ανάλυση των Χ.Λ. Chang et al, παρατηρούμε ότι η λυοφιλιωμένη μας σκόνη περιέχει τις ίδιες απορροφήσεις με το προτεινόμενο φάσμα τους (εικόνα 5). Η ποσότητα μαννόζης γύρω στους 1031 κυματαριθμούς παραμένει η ίδια και στα δύο φάσματα ενώ και η παρουσία του ουρονικού οξέος είναι ολοφάνερη στους 1735 και 1430 κυματαριθμούς. Στην σκόνη ξήρασης υπό κενό η παρουσία της μαννόζης είναι πιο εμφανής με τις τρεις κορυφές της γύρω στους 1031 κυματαριθμούς αλλά το ουρονικό οξύ εμφανίζεται να είναι υποβαθμισμένο έως ανύπαρκτο. Παραδόξως στην ξήραση σε αέρα φαίνεται το ουρονικό οξύ να διατηρείται σε σχέση με την ξήραση υπό κενό, ενώ και η ποσότητα μαννόζης κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα.

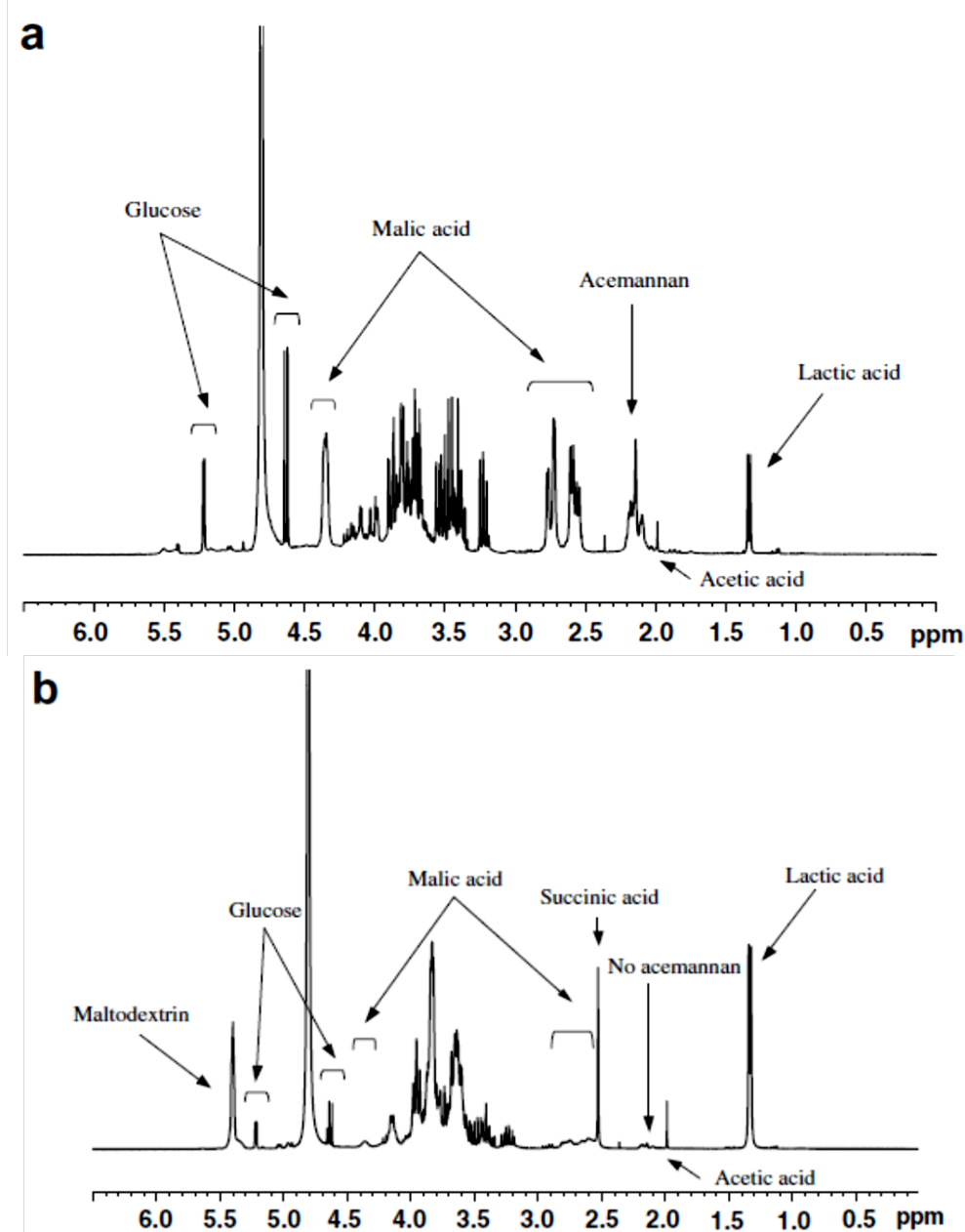
Γύρω στους 1286 και 1731 κυματαριθμούς τα φάσματα των λυοφιλιωμένων και ξηραμένων σε αέρα σκονών έδειξαν την παρουσία του ο-ακέτυλο εστέρας. Το υψηλότερο ποσό σύμφωνα με την εικόνα 5 απαντάται στους πολυσακχαρίτες του παρεγχύματος. Έχει προταθεί ότι η παρουσία των ακέτυλο-ομάδων είναι απαραίτητη για να είναι οι πολυσακχαρίτες βιολογικά ενεργοί, πιθανόν διότι καλύπτουν έναν αριθμό από τις υδροφιλικές υδροξυλομάδες και ως εκ τούτου κάνοντας το μόριο πιο ικανό να διαπεράσει τα υδροφοβικά φράγματα του κυττάρου.



**Εικόνα 5.** Το φάσμα FTIR των καθαρών πολυσακχαριτών από τον χυμό του ζελέ, τον χυμό της επιδερμίδας και του λουλουδιού της *Aloe barbadensis* Miller των Χ.Λ. Chang et al.

✚ Φασματομετρία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού- $^1\text{H-NMR}$

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο παράρτημα 1 (διαγράμματα 2α, 2β και 2γ). Το 2007 οι Bozzi et al, πραγματοποιώντας την  $^1\text{H-NMR}$  ανάλυση εμπορικά διαθέσιμων σκονών εντόπισαν την λεγόμενη κορυφή E –peak E- που χαρακτηρίζει την ύπαρξη μαλικού οξέος (εικόνα 6α).



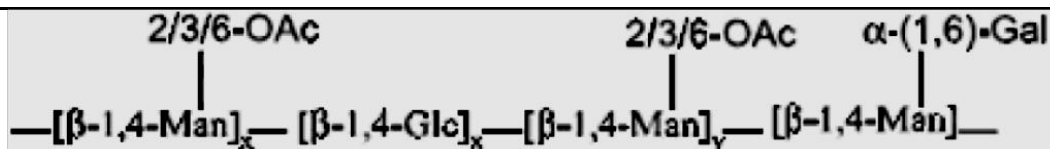
**Εικόνα 6.** Το  $^1\text{H-NMR}$  φάσμα της σκόνης ζελέ: (a) *Aloe vera* συμπυκνώματος 200:1 (b) *Aloe vera* συμπυκνώματος 100:1.

Στην δική μας περίπτωση σε κανένα από τα τρία φάσματα δεν μπόρεσε να ανιχνευτεί μαλικό οξύ. Τις επιδράσεις της θερμοκρασίας στην συσσώρευση ή απώλεια του μαλικού οξέος κατέγραψαν οι Alan N. Lakso και W. Mark Kliewer. Σε χαμηλές θερμοκρασίες αυξάνεται η διαλυτότητα του  $\text{CO}_2$  κάτι το οποίο

καταστέλλει τις αποκαρβοξυλιώσεις και ευνοεί την δέσμευση CO<sub>2</sub>. Επίσης, η παραγωγή του μαλικού οξέος είναι εξώθερμη αντίδραση, και ως εκ τούτου ευνοείται πιο πολύ σε χαμηλές θερμοκρασίες σε σχέση με την υποβάθμιση του μαλικού οξέος. Η διαθεσιμότητα του υποστρώματος είναι επίσης εξαρτώμενη και από άλλους μεταβολικούς δρόμους και την ρύθμισή τους. Πιθανόν αυτοί οι παράγοντες, καθώς και η θερμοκρασία του περιβάλλοντος, επηρεάζουν το ισοζύγιο ανάμεσα στην σύνθεση και την υποβάθμιση. Η υποβάθμιση του μαλικού οξέος λοιπόν κατά ένα μεγάλο ποσοστό οφείλεται στους εξής δύο παράγοντες:

- i. Την υψηλή θερμοκρασία του κλειστού εργαστηριακού χώρου κατά την διάρκεια του χειμώνα 2010 προς 2011 που να μείωσε σημαντικά την δέσμευση CO<sub>2</sub> και
- ii. Την αφυδάτωση του παρεγχύματος της *Aloe barbadensis* Miller. Οι Bozzi et al, εντόπισαν ότι το μαλικό οξύ είναι το μόνο οργανικό οξύ αλλά στην φρέσκια αλόη. Σε αυτό συνηγορούν και τα τρία <sup>1</sup>H-NMR φάσματα.

Επίσης η ακεμαννάνη, ο κύριος μέχρι στιγμής πολυσακχαρίτης της *Aloe barbadensis* Miller εντοπίστηκε μόνο στα φάσματα <sup>1</sup>H-NMR της λυοφιλιωμένης σκόνης και της σκόνης σε ξήρανση υπό κενό. Φαίνεται λοιπόν ότι η επαφή με την οξειδωτική ατμόσφαιρα επηρεάζει την σταθερότητα αυτού του μεγάλου πολυσακχαρίτη. Ο Femenia et al (2003), ανέλυσαν την επίδραση της μεθόδου θερμικής κατεργασίας και αφυδάτωσης στην ακεμαννάνη. Η σύσταση που βρήκαν παρουσιάζεται στον πίνακα 1. Στα διαγράμματα 1, 2 και 3 παρουσιάζονται συγκριτικά τα δεδομένα του πίνακα 1. Είναι εμφανής η μείωση με την θερμοκρασία των γλυκόζη, γαλακτόζη και αραβινόζη. Η μαννόζη παρουσιάζει μία ξαφνική μείωση από τους 60°C στους 70°C με μία ιδιαίτερη σταθερότητα από τους 30°C στους 60°C.

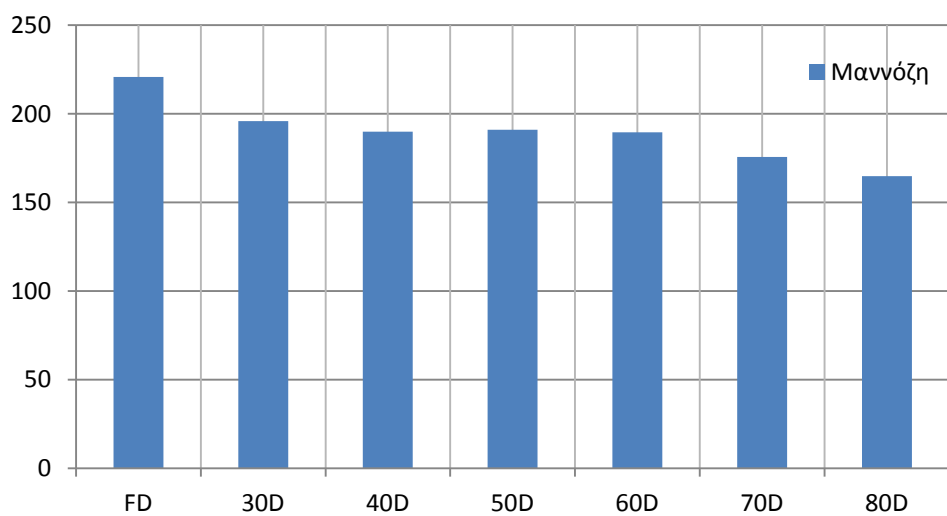
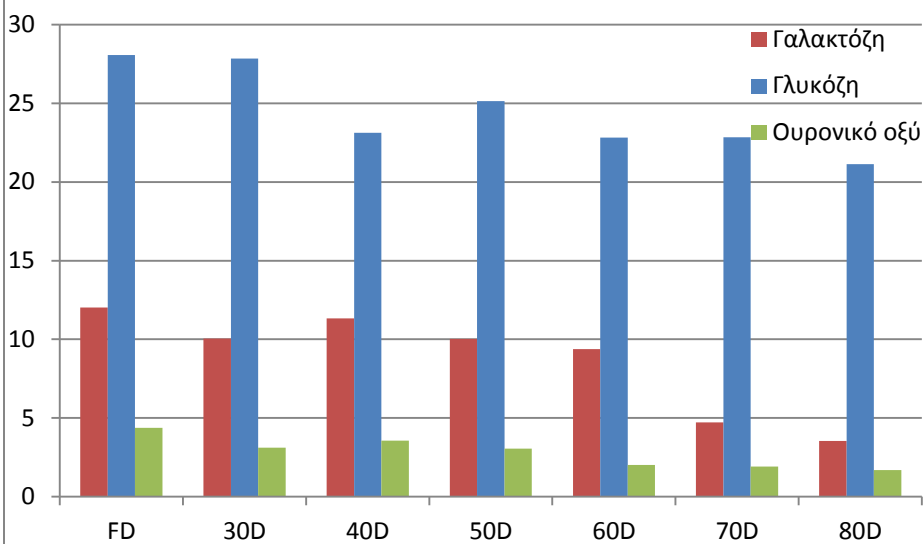
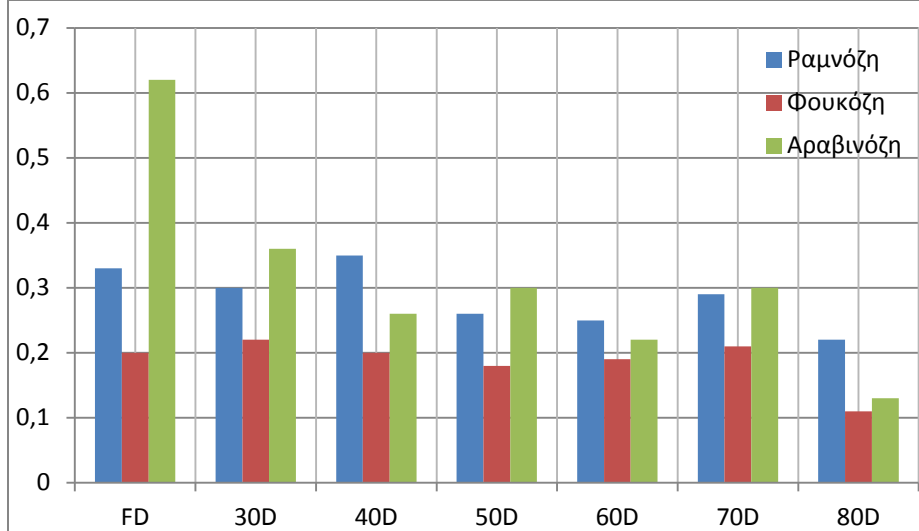


**Εικόνα 7.** Η δομή της ακεμαννάνης (για λεπτομέρειες βλέπε κεφάλαιο 2)

**Πίνακας 1.** Η σύνθεση υδατανθράκων στην απομονωμένη και καθαρή ακεμαννάνη από το παρέγχυμα της *Aloe barbadensis* Miller σε ξήρανση σε διάφορες θερμοκρασίες (μg σακχάρου/ mg ξηρής βάσης των φιλέτων)

Σάκχαρο	FD	Αφυδατωμένα φιλέτα					
		30D	40D	50D	60D	70D	80D
Ραμνόζη	0,33	0,3	0,35	0,26	0,25	0,29	0,22
Φουκόζη	0,2	0,22	0,2	0,18	0,19	0,21	0,11
Αραβινόζη	0,62	0,36	0,26	0,3	0,22	0,3	0,13
Ξυλόζη	1,57	0,82	1,8	1,44	0,82	1,03	0,56
Μαννόζη	220,74	195,92	189,96	191,09	189,55	175,7	164,88
Γαλακτόζη	12,02	10,04	11,34	10,03	9,38	4,72	3,54
Γλυκόζη	28,06	27,85	23,13	25,14	22,83	22,85	21,14
Ουρονικό οξύ	4,38	3,11	3,57	3,05	2,01	1,91	1,69
<b>Σύνολο</b>	<b>267,92</b>	<b>238.62</b>	<b>230.61</b>	<b>231.50</b>	<b>225.25</b>	<b>207.01</b>	<b>192.28</b>





**Διαγράμματα 1, 2, 3:** Συγκριτική επέκταση των δεδομένων σύστασης πολυσακχαριτών της ακεμαννάνης των *Femenia et al* (2003).

Η κατανομή των ακετυλο- και γαλακτοσυλο- ομάδων κατά την κύρια αλυσίδα της ακεμαννάνης σε συνδυασμό με τους ακετυλο εστέρες που παρατηρήθηκαν με την ανάλυση FTIR (X.L. Chang et al), συνηγορούν υπέρ του ρόλου της ακεμαννάνης σαν τον «διευθυντή» της ορχήστρας των πολυσακχαριτών, οι οποίοι σε συνδυασμό με τις γέφυρες των μεταλλικών στοιχείων του παρεγχύματος (όπως του ασβεστίου που βρέθηκε από την ανάλυση SEM και ICP-AES στην παρούσα εργασία) δημιουργούν ένα πλαίσιο με επιμέρους δομικούς λίθους τους πολυσακχαρίτες και σημεία ένωσης τα μέταλλα.

✚ **Φασματομετρία ατομικής εκπομπής με πηγή επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος-ICP-AES**

Σε αυτήν την περίπτωση 0,25 g σκόνης τοποθετήθηκαν σε φούρνο στους 550°C για ένα 24 h και εν συνεχεία διαλύθηκαν σε 25 mL πυκνό νιτρικό οξύ-HNO<sub>3</sub>.

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 2 και για τους τρεις τρόπους ξήρανσης.

**Πίνακας 2.** Η ανάλυση μετάλλων της *Aloe barbadensis* Miller με ICP-AES

Ξήρανση	Ni	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Na	K	Mg	Ca
Κενού	80,321	3,0120	471,887	10,040	3,0120	6,024	10542	803	55924	3715
Αέρα	1,994	1,994	438,771	289,190	22,935	59,832	8377	598	44475	3391
Κατάψυξης	3,018	-	291,750	503,018	27,162	442,655	18410	1811	39235	6439

## 7. Αποτελέσματα ξηράνσεων

Στον πίνακα 1 παρουσιάζονται τα τεχνικά χαρακτηριστικά των φύλλων που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή των σκονών.

**Πίνακας 3.** Χαρακτηριστικά φύλλων προς ξήρανση και τελικά ποσοστά υγρασίας τους

Φύλλο	Μήκος, cm	Πλάτος βάσης, cm	Ολόκληρο φύλλο, gr	Χυμός, gr	Ποσοστό υγρασίας, %
<b>Δείγματα προς λυοφιλίωση</b>					
1	48	9	390	249,7	98,97
2	45	8,5	371,6	199,9	99,03
3	50	8,6	416,1	251	99,04
<b>Δείγματα προς ξηραντήρα αέρα</b>					
4	47	8	383	190,3	99,21
5	45	7	375	145,8	99,25
6	49	8,5	294,1	133,7	98,82
<b>Δείγματα προς ξηραντήρα κενού</b>					
7	29	6,5	195,1	84,2	98,30
8	46	8	356,5	165,9	99,11
9	30	7	243,8	106,0	98,83

Εν συνεχεία, οι παραπάνω σκόνες τοποθετήθηκαν σε ειδικούς θαλάμους συγκεκριμένων ενεργοτήτων. Ο χρόνος που απαιτήθηκε για την επίτευξη ισορροπίας της προσρόφησης υγρασίας από τα δείγματα ήταν 3 εβδομάδες, ενώ μετά το βάρος παρέμεινε πρακτικά σταθερό. Πιο συγκεκριμένα ένα γραμμάριο κάθε σκόνης από κάθε τεχνική ξήρανσης τοποθετήθηκε σε 5 διαφορετικούς θαλάμους που είχαν

συγκεκριμένο περιεχόμενο υγρασίας. Επομένως ο κάθε θάλαμος περιείχε τρία δείγματα για κάθε τρόπο ξήρασης με τελικό αριθμό δειγμάτων ίσο με 15. Τα παραπάνω διπλασιάστηκαν σε 30 δείγματα χάριν επαναληψιμότητας των μετρήσεων. Αυτά αποτυπώνονται στον πίνακα 2. Η αρχική ποσότητα όπως αναφέρθηκε ήταν 1g για κάθε σκόνη και για κάθε ενεργότητα.

**Πίνακας 2.** Ζυγίσεις ενεργοτήτων

Άλας	Ενεργότητα	Τελικές ποσότητες (g)		
		Λυοφιλίωση	Ξήρανση υπό κενό	Ξήρανση σε αέρα
LiCl	0,11	3,595	2,0209	2,0312
MgCl <sub>2</sub>	0,33	3,5567	2,3129	1,9352
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,53	2,8172	2,9901	1,9965
NaCl	0,75	3,3919	3,7984	2,1866
KNO <sub>3</sub>	0,94	4,4655	2,8266	2,507

Στον πίνακα 3 υπολογίζονται τα γραμμάρια νερού ανά γραμμάριο ξηρής βάσης βάσει της σχέσης 1. Η μάζα του αλουμινίου που πρέπει να αφαιρεθεί από τον παρονομαστή αναφέρεται στο κομμάτι του αλουμινοχάρτου που χρησιμοποιήθηκε ως σκεύος για τις σκόνες.

$$\frac{g \text{ H}_2\text{O}}{g \text{ ξηρής βάσης}} = \frac{m_{\text{τελική}} - m_{\text{αρχική}}}{m_{\text{αρχική}} - m_{\text{αλουμινίου}}} \quad (1)$$

**Πίνακας 3.** Υπολογισμός υγρασίας ισορροπίας

Ενεργότητα	$g \text{ H}_2\text{O} / g \text{ ξηρής βάσης (\%)}$		
	Λυοφιλίωση	Ξήρανση υπό κενό	Ξήρανση σε αέρα
0,11	0,94	0,96	0,54
0,33	4,05	4,42	3,85
0,53	9,48	11,25	8,90
0,75	27,32	27,89	24,34
0,94	64,29	67,52	74,26

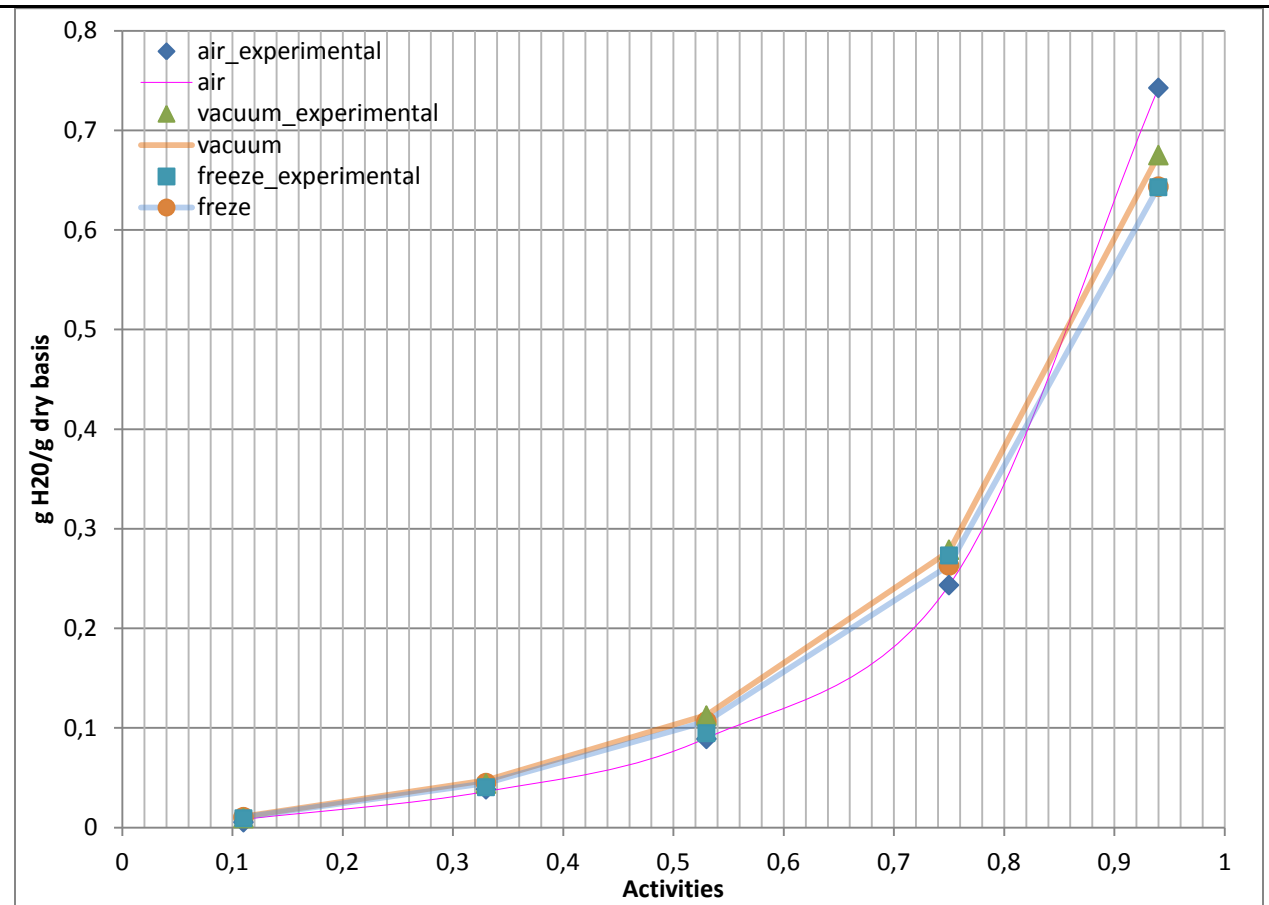
Βάσει αυτού του πίνακα προκύπτουν οι ισόθερμες ρόφησης για τους τρεις τρόπους ξήρασης (διάγραμμα 1).

Εν συνεχεία έγινε η προσαρμογή του μοντέλου GAB (Guggenheim - Anderson - De Boer) για την θεωρητική αποτύπωση των ισόθερμων ρόφησης. Το μοντέλο είναι το παρακάτω και περιέχει τρεις παραμέτρους  $X_m$ ,  $C$  και  $k$  (Elsa Uribe et al).

$$\frac{X_{we}}{X_m} = \frac{C \cdot k \cdot a_w}{(1 - k \cdot a_w) \cdot [1 + (C - 1) \cdot k \cdot a_w]}$$

Οι μεταβλητές υπολογίστηκαν σύμφωνα με την μέθοδο των Elsa Uribe et al με την χρήση του solver στο Office Excel 2007. Τα τελικά αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 4 για κάθε τύπο ξήρασης. Η συμφωνία με το παραπάνω άρθρο των Elsa Uribe et al, αποτυπώνεται επίσης στον πίνακα 4. Η ουσιαστική διαφορά εντοπίζεται στην παράμετρο  $C$  και η οποία σύμφωνα με τον Piotr P Lewicki οφείλεται στο ότι το μοντέλο GAB δεν περιγράφει πλέον της σιγμοειδή καμπύλη ισόθερμης ρόφησης. Παρόλα αυτά για τα πειράματά μας ισχύει ότι: (1)  $0,24 < k \leq 1$  και (2)  $k > 0,5$ . Το (1) είναι σε συμφωνία με Piotr P Lewicki ενώ το (2) βάσει του Matthew Caurie οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η ρόφηση στις σκόνες

της αλόης είναι πολυμοριακή και όχι μονομοριακή. Βάσει των παραπάνω συμπεραίνουμε ότι η καμπύλες ρόφησης της σκόνης των φιλέτων *Aloe barbadensis* Miller είναι τύπου III και όχι τύπου II όπως αναφέρουν οι Elsa Uribe et al. Πρέπει να σημειωθεί ότι η καμπύλες μας στο διάγραμμα 1 αντιστοιχούν πιο πολύ με την αντίστοιχη καμπύλη που προτείνουν οι Elsa Uribe et al για τους 8°C κάτι το οποίο δικαιολογείται από τις συνθήκες αποθήκευσης των δειγμάτων μας που ήταν κατά μία περίοδο (χειμώνας) που θερμοκρασίες ήταν χαμηλές και κυμαίνονταν ανάμεσα στους 8 με 20°C.



**Διάγραμμα 1.** Οι ισόθερμες ρόφησης (σημεία) και η προσαρμογή του μοντέλου GAB (γραμμές).

**Πίνακας 4.** Τιμές των παραμέτρων του μοντέλου GAB για τους τρεις τύπους ξήρανσης

	Λυοφιλίωση	Ξήρανση υπό κενό	Ξήρανση σε αέρα	Τιμές των Elsa Uribe et al
$X_m$	0,446	0,414	0,199	0,077
$C$	0,233	0,266	0,361	11,693
$k$	0,778	0,785	0,882	1,013

## Βιβλιογραφία

### Διεθνής

1. Ni Y., Turner D., Yates K.M., Tizard I. Isolation and characterization of structural components of *Aloe vera* L. leaf pulp. *Int. Immunopharmacol.* **2004**, *4*, 1745-1755
2. Chin-Yi Lu, Su-Hwa Tsai Chiang. Lateral Thickening in the Stem of *Agave rigida* Mill. and *Aloe vera* L., **1976**, Taiwania 21
3. X.L. Chang, B.Y. Chen, Y.M. Feng, Water-soluble polysaccharides isolated from skin juice, gel juice and flower of *Aloe vera* Miller, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers Volume 42, Issue 2*, March **2011**, Pages 197-203
4. A. Bozzi, C. Perrin, S. Austin, F. Arce Vera, Quality and authenticity of commercial aloe vera gel powders, *Food Chemistry* 103 (**2007**) 22–30
5. ALAN N. LAKSO AND W. MARK KLEWER, The Influence of Temperature on Malic Acid Metabolism in Grape Berries, *Plant Physiol.* (**1975**) 56, 370-372
6. Antoni Femenia, Pablo Garcia-Pascual, Susana Simala, Carmen Rossello, Effects of heat treatment and dehydration on bioactive polysaccharide acemannan and cell wall polymers from *Aloe barbadensis* Miller, *Carbohydrate Polymers* 51 (**2003**) 397–405
7. Antoni Femenia, Emma S. Sa´nchez, Susana Simal, Carmen Rossello, Compositional features of polysaccharides from *Aloe vera*(*Aloe barbadensis* Miller) plant tissues, *Carbohydrate Polymers* 39 (**1999**) 109–117
8. Elsa Uribe, Margarita Miranda, Roberto Lemus, Antonio Vega-Gálvez, Moisture Adsorption and Desorption Isotherms of *Aloe Vera* (*Aloe Barbadensis* Miller) and Determination of Sorption Heats, **2008**, *International Journal of Food Engineering*: Vol. 4: Iss. 4, Article 12.
9. Piotr P. Lewicki, The applicability of the GAB model to food water sorption isotherms, *International Journal of Food Science and Technology* **1997**, 32, 553-557
10. Matthew Caurie, The derivation of the GAB adsorption equation from the BDDT adsorption theory, *International Journal of Food Science and Technology* **2006**, 41, 173–179

### Ελληνική

1. Μ. Οξενκιουν - Πετροπούλου, “Φυσικές Μέθοδοι Ανάλυσης. Φασματομετρικές Μέθοδοι”, Εκδ. Συμμετρία, Αθήνα, 2006.

### Ιστότοποι

1. <http://goodhealth-naturalproducts.blogspot.com/>
2. ετυμολογία παρεγχύματος: <http://www.ganfyd.org/index.php?title=Parenchyma>

# Πειραματικό μέρος



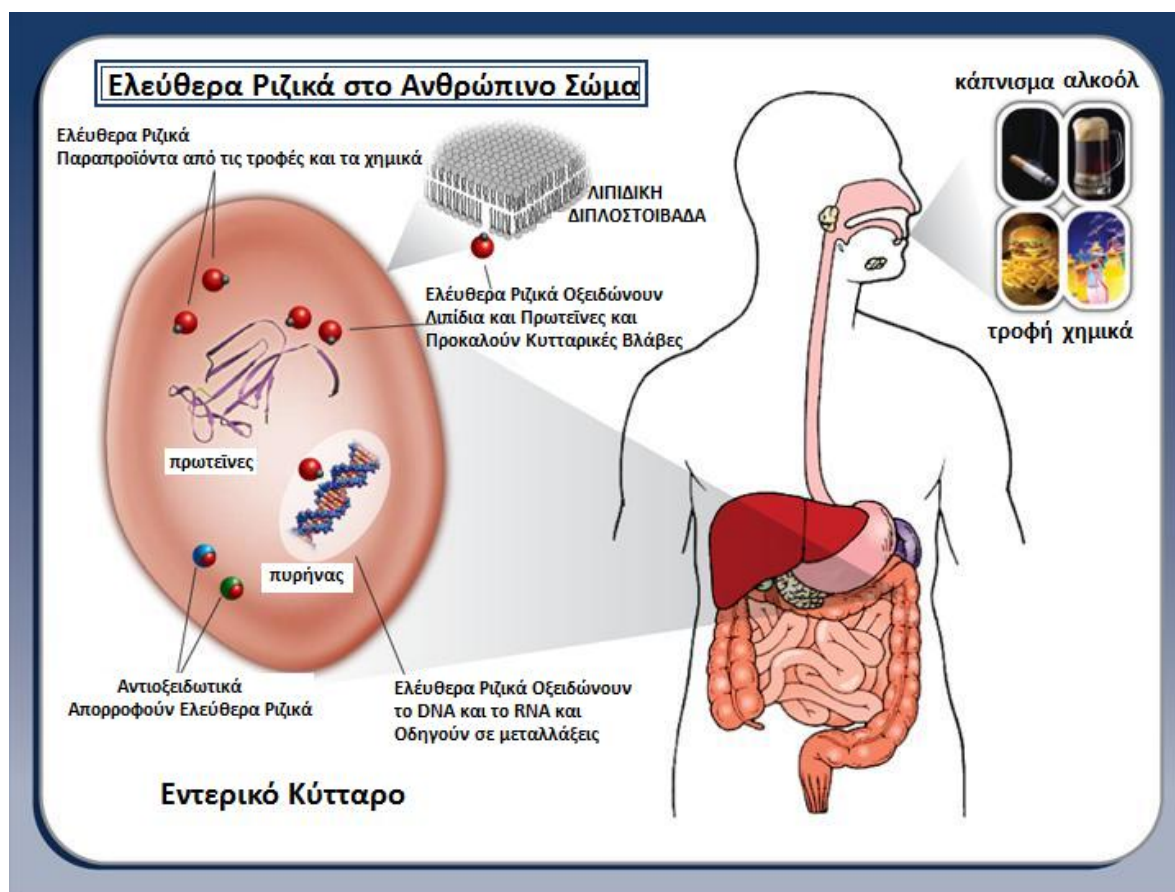
## Κεφάλαιο 2

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΓΙΑΝΝΟΥΚΟΣ

Ε.Μ.Π 2011

## Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή
2. Αντιοξειδωτική μελέτη της *Aloe barbadensis* Miller
  - ✦ Αποτελέσματα- Συζήτηση
  - ✦ Συστατικά με αντιοξειδωτική δράση στην *Aloe barbadensis* Miller
3. Παρασκευή χυμών από την *Aloe barbadensis* και η ποιοτική αξιολόγηση τους
  - ✦ Στόχος- Πειραματική διαδικασία
  - ✦ Αποτελέσματα- Συζήτηση



**Εικόνα 1.** Τα αντιοξειδωτικά δρουν στους μεταβολικούς δρόμους όλου του σώματος και κυρίως των εντερικών κυττάρων.

## 1. Εισαγωγή

Ο Max Rubner, στις διερευνήσεις σχετικά με τις σχέσεις του ρυθμού μεταβολισμού –δηλαδή της κατανάλωσης οξυγόνου- και της μάζας του σώματος πρώτος παρατήρησε, την γνωστή σε όλους μας αντίστροφη συσχέτιση ανάμεσα στον ρυθμό κατανάλωσης οξυγόνου με την μακροβιότητα στα θηλαστικά ζώα με πλακούντα. Αυτή η παρατήρηση επεκτάθηκε περαιτέρω από τον Pearl, στην αποκαλούμενη υπόθεση του ρυθμού ζωής, που δηλώνει ότι οι μεταβολικές δαπάνες σε ενέργεια της ζωής είναι πεπερασμένες και ότι η διάρκεια ζωής προσδιορίζεται από το πόσο γρήγορα αναλώνονται οι ενεργειακοί πόροι της. Μ' άλλα λόγια το διάστημα ζωής είναι αυστηρώς μια αντίστροφη συνάρτηση του ρυθμού κατανάλωσης οξυγόνου ή αλλιώς του μεταβολικού ρυθμού. Παρόλο που η υπόθεση του ρυθμού ζωής δεν είναι πλέον αποδεκτή, ωστόσο προσανατόλισε την προσοχή της θεωρίας γήρανσης στο μεταβολισμό του οξυγόνου. Η υπόθεση του ρυθμού ζωής ταιριάζει αρκετά καλά με την παρατήρηση η τάση του οξυγόνου, όταν υπερβαίνει το κανονικά υπάρχον στην ατμόσφαιρα ποσοστό , που είναι 21%, είναι τοξικό σχεδόν για όλα τα θηλαστικά -σε ποσοστό 100% είναι θανατηφόρο για όλα τα θηλαστικά-. Στα μέσα του 1930 παρατηρήθηκε ότι ο μεταβολικός ρυθμός και ο υπεροξικός θάνατος είναι στενά αλληλένδετα: ο υψηλός μεταβολικός ρυθμός που προκαλείται από τον υπερθυρεοειδισμό επιταχύνει, ενώ ο χαμηλός μεταβολικός ρυθμός που προκαλείται από τον υποθυρεοειδισμό επιβραδύνει τον θάνατο από υπεροξία σε ποντικούς.

Οι απαρχές της θεωρίας των ελευθέρων ριζών στην γήρανση πηγαινούν πίσω στα μέσα του 20<sup>ου</sup> αιώνα, όταν ανακαλύφθηκε ότι οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, παραδοσιακά θεωρούμενες πολύ δραστικές για να υπάρχουν σε βιολογικά συστήματα, δημιουργηθήκαν *in situ* ως απάντηση στην ακτινοβολία και στην δηλητηρίαση από οξυγόνο, και είναι υπεύθυνες για τις συσχετιζόμενες τοξικότητες.

Στο προηγούμενο κεφάλαιο αναπτύχθηκαν οι ενόργανες μέθοδοι ανάλυσης της σκόνης της *Aloe barbadensis* Miller αλλά και οι ισόθερμες ρόφησης αυτών για ένα μεγάλο εύρος ενεργιοτήτων. Για την κατάστρωση του πλαισίου ενός προϊόντος όμως σημαντικό ρόλο κατέχουν και μελέτες περί αντιοξειδωτικής δράσης αυτού αλλά και μικροβιακής ασφάλειας του κατά την διάρκεια του χρόνου ζωής του. Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες, επομένως, είτε αναφέρονται ως συνολική αντιοξειδωτική δράση όλων των αλληλεπιδρώντων συστατικών είτε σαν ξεχωριστές δράσεις των επιμέρους συστατικών αποτελούν ένα από τα πιο αμφιταλαντευόμενα κεφάλαια στην ιστορία της *Aloe barbadensis* Miller.

## 2. Αντιοξειδωτική μελέτη της *Aloe barbadensis* Miller

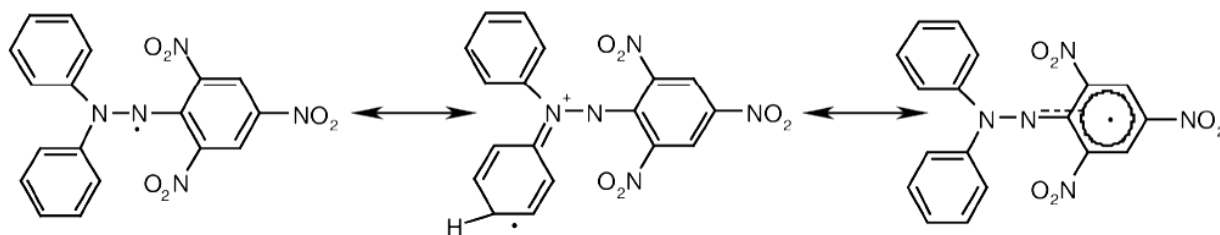
Στην παρούσα εργασία η μελέτη του φυτού της αλόης πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο ελεύθερης ρίζας DPPH. Η ιστορία των ελευθέρων ριζών και η σημασία τους για την ίδια την εξέλιξη της ζωής έδωσαν ιδιαίτερα τεράστια ώθηση για ανάπτυξη μεθόδων μέτρησής τους. Ο Denham Harman, πρότεινε ότι οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, -και ειδικότερα οι ρίζες υδροξυλίων OH<sup>·</sup> και υπεροξειδίων HO<sub>2</sub><sup>·</sup>- σχηματίζονται ενδογενώς από τις κανονικές μεταβολικές διεργασίες που χρησιμοποιούν οξυγόνο και κατέχουν μεγάλη ευθύνη για τις διεργασίες γήρανσης. Το 1972 ο ίδιος πρότεινε μία μετατροπή της θεωρίας περί ελευθέρων ριζών αποδίδοντας κεντρικό ρόλο στα μιτοχόνδρια, αφού αυτά παράγουν μη αναλογικά μεγάλα ποσά δραστικών μορφών οξυγόνου ROS στα κύτταρα. Σύμφωνα με την τροποποιημένη πρόταση του Harman τα μιτοχόνδρια βρίσκονται στο κέντρο της γήρανσης, καθώς ανακαλύφθηκε ότι οι μεταλλάξεις σημείου του μιτοχονδριακού DNA συμβαίνουν από τις οξειδωτικές πιέσεις, με δραματική συσσώρευση τους με την πάροδο του χρόνου στους οργανισμούς από τους σκώληκες έως και τους ανθρώπους.



Τα τελευταία 50 χρόνια η υπόθεση του Harman έχει επεκταθεί έτσι ώστε να περιέχει όχι μόνο τις ελεύθερες ρίζες αλλά και όλες τις μορφές ενεργού οξυγόνου όπως τα υπεροξειδία και τις αλδεΐδες. Οι τελευταίες δύο κατηγορίες δεν είναι τεχνικά ελεύθερα ριζικά αλλά διαδραματίζουν ένα ρόλο υποκινητών οξειδωτικής ζημιάς στα κύτταρα. Αυτή η επέκταση λοιπόν της θεωρίας των ελεύθερων ριζών στα κύτταρα των αερόβιων οργανισμών παρατηρείται ακόμα και κάτω από φυσιολογικές συνθήκες λόγω της απουσίας ισορροπίας ανάμεσα στα οξειδωτικά και αντιοξειδωτικά. Αυτή η ανισορροπία οδηγεί σε μία συσσώρευση υπό σταθερό ρυθμό των οξειδωτικών βλαβών σε μία ποικιλία μακρομορίων που αυξάνει κατά την διάρκεια της αύξησης της ηλικίας, με απώτερη συνέπεια την απώλεια της αποτελεσματικότητας των λειτουργιών σε πολλές κυτταρικές διεργασίες.

Τα διαιτητικά αντιοξειδωτικά, εμπιερχόμενων των πολυφαινολικών συστατικών, της α-τοκοφερόλης, του ασκορβικού οξέος και των καρετονοειδών πιστεύεται να είναι αποτελεσματικά θρεπτικά συστατικά στην πρόληψη των σχετιζόμενων με ασθένειες οξειδωτικές βλάβες. Τα αντιοξειδωτικά επομένως έχουν γίνει ένα θέμα ολοένα αυξανόμενου ενδιαφέροντος. Στην διεθνή βιβλιογραφία ο αριθμός των δημοσιεύσεων σχετικά με τα αντιοξειδωτικά και τις οξειδωτικές πιέσεις έχει σχεδόν τετραπλασιασθεί την περασμένη δεκαετία (1684 το 1993 και 6510 το 2003). Αποτελεί σημείο ενδιαφέροντος για την επιστήμη των τροφίμων και της υγείας η γνώση της αντιοξειδωτικής ικανότητας και των συστατικών στα τρόφιμα που καταναλώνονται. Λόγω της περιπλοκής φύσης στην σύνθεση των τροφίμων ο διαχωρισμός κάθε αντιοξειδωτικού συστατικού και η ξεχωριστή μελέτη του είναι χρονοβόρα και απαιτεί σημαντικό χρόνο, ενώ μερικές φορές είναι και μη αποδοτική. Για τους ερευνητές είναι ιδιαίτερα ελκυστικό να διαθέτουν μία γρήγορη και βολική μέθοδο για την ποσοτικοποίηση της αντιοξειδωτικής αποτελεσματικότητας για την πρόληψη ασθενειών.

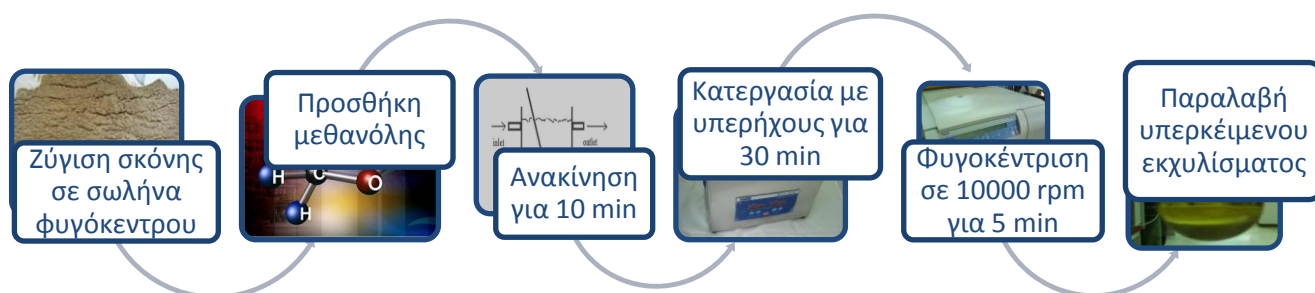
Τα DPPH είναι ένα από τα λίγα σταθερά και εμπορικά διαθέσιμα οργανικά ριζικά αζώτου και έχει μέγιστη απορρόφηση στο UV-Vis στα 515 nm. Κάτω από αναγωγή, το χρώμα του διαλύματος από αρχικό μωβ αποχρωματίζεται. Η αντίδραση παρατηρείται με ένα φασματοφωτόμετρο.



**Εικόνα 2.** Η δομή της ελεύθερης σταθερής ρίζας DPPH με τις τρεις ισομερείς μορφές της.

Μόλις το 1922, οι Goldschmidt και Renn ανακάλυψαν το μωβ ελεύθερο ριζικό 2,2-διφαινυλ-1-πικρυδραζύλιο το οποίο χρησιμοποιείται σαν πρότυπο στην φασματομετρία συντονισμού περιστροφής ηλεκτρονίου, και σαν χρωματομετρικό αντιδραστήριο για διεργασίες οξειδοαναγωγής. Λόγω του ότι το DPPH μπορεί να αποθηκευτεί με μικρή αποσύνθεση και λόγω του ότι ούτε διμερίζεται ούτε αντιδρά με το οξυγόνο αποδεικνύεται να είναι χρήσιμο σε μία ποικιλία ερευνών όπως η παρεμπόδιση πολυμερισμού ή στην χημεία ριζών, στον προσδιορισμό των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων των αμίνων, φαινολών ή φυσικών συστατικών (βιταμινών, εκχυλισμάτων φυτών, ιατρικά φάρμακα) και για παρεμπόδιση ομολυτικών αντιδράσεων. Το DPPH είναι έντονα μωβ όπως το  $KMnO_4$  και ανάγεται δίνοντας 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζίνη (DPPH-H) που είναι κίτρινη-πορτοκαλί.

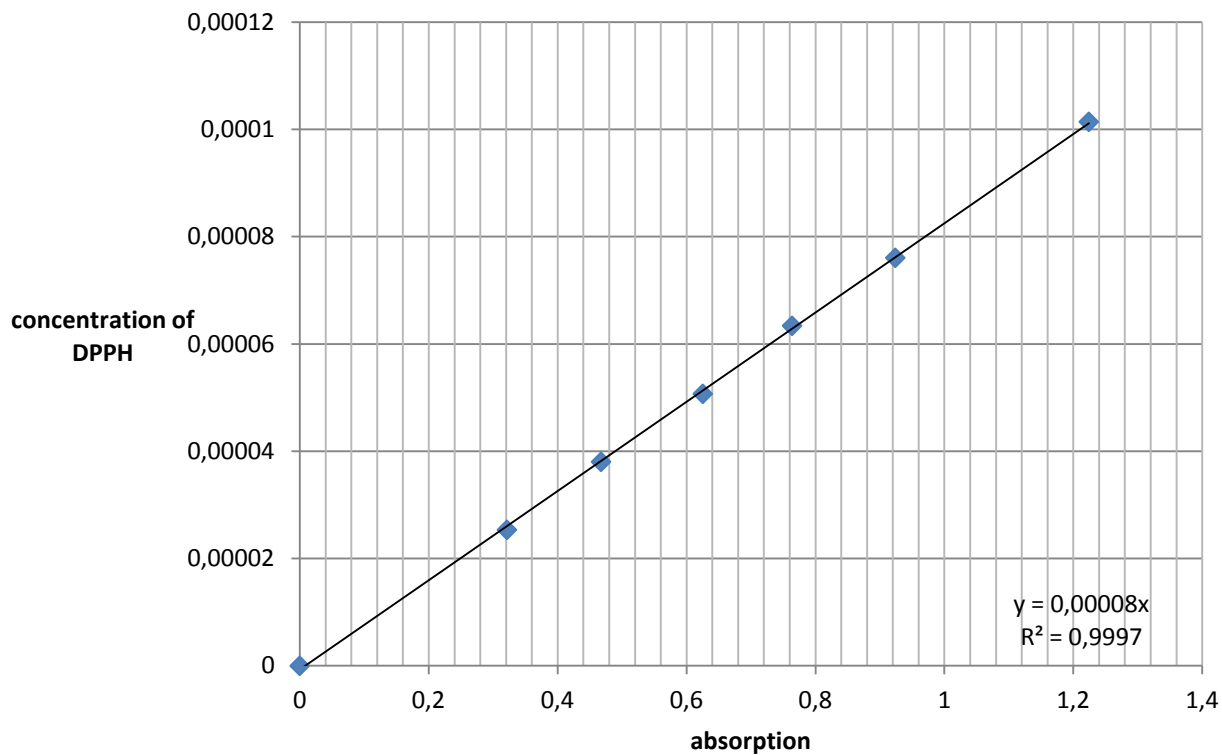
Το DPPH είναι αδιάλυτο στο νερό. Με σκοπό να γίνει διαλυτό και να προσδοθούν υδροφιλικές τάσεις προστίθενται στο DPPH ομάδες καρβοξυλίων ή σουλφονικές ομάδες. Στην πειραματική μας διαδικασία που φαίνεται στο διάγραμμα 1 το DPPH διαλύθηκε με καθαρή μεθανόλη. Το σταθερό ριζικό DPPH είναι γνωστό να είναι καλός δέκτης υδρογόνου παράγοντας DPPH-H σαν παραπροϊόν. Αυτή είναι μία αντίδραση οξειδοαναγωγής και αναφέρθηκε πρώτα από τους Goldschmidt και Renn στην DPPH οξείδωση της υδροκινόνης σε βενζοκινόνη. Πιο αναλυτικά, η διεργασία αποδείχθηκε να είναι μία ομολυτική διάσπαση από το DPPH του δεσμού H-X (X=C, O, N, S, Cl, Br) όπως στους υδρογονάνθρακες, αλκοόλες, φαινόλες, θιόλες, αμίνες, ενόλες, υδροξυλαμίνες, N-αλκοξυνιτροανιλίνες και υδροξέα.



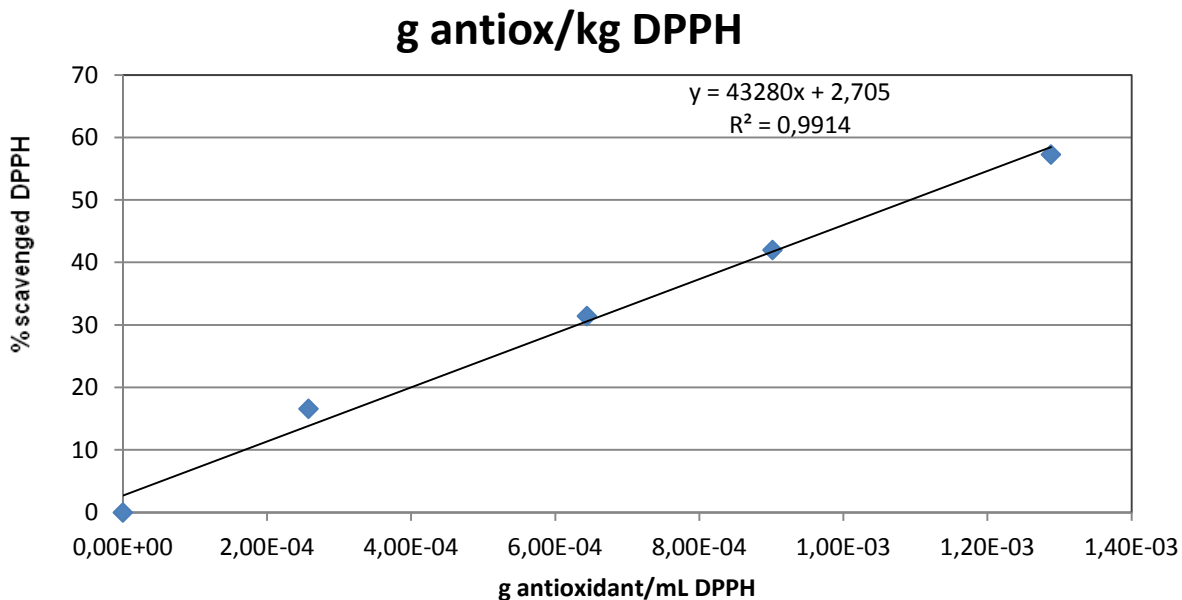
**Διάγραμμα 1.** Η διαδικασία που ακολουθήθηκε στο εργαστήριο για την μέτρηση των αντιοξειδωτικών

Στο παραπάνω διάγραμμα η ποσότητα της σκόνης αλόης ποικίλει ανάλογα με το πόσο πυκνό θέλουμε να γίνει το διάλυμα. Στην περίπτωσή μας η διάλυση έγινε για 1,8 g σκόνης *Aloe barbadensis* Miller σε 20 mL μεθανόλης. Παρατηρήθηκε ότι μόνο το 30% αυτής της ποσότητας διαλύθηκε ενώ η υπόλοιπη εναπομείνουσα σκόνη αποχρωματίστηκε σε σχέση με την αρχική σκόνη που είχε κιτρινωπό χρώμα. Σχετικά με την ρίζα, αυτή διαλύθηκε με τον τρόπο που περιγράφεται από τους Yun Hu, Juan Hu και Qiuhui Hu το 2003 με μερικές τροποποιήσεις. Δηλαδή 0,0025 g ή 2,5 mg διαλύθηκαν σε 100 mL μεθανόλης σε ένα διάλυμα συγκέντρωσης  $6,340028 \cdot 10^{-5}$  mol/L (το μοριακό βάρος του DPPH είναι 394,32). Για διάφορες αραιώσεις του παραπάνω διαλύματος προέκυψε η καμπύλη αναφοράς της συγκέντρωσης συναρτήσει της απορρόφησης του διαλύματος DPPH (διάγραμμα 2). Όλες οι παρατηρήσεις απορροφήσεως έλαβαν χώρα σε κυψελίδες χαλαζία με συνολικό όγκο 4 mL.

Η διαδικασία ανάμιξης ήταν η εξής: 3,8mL από το διάλυμα της ρίζας και 0,2 mL από το προς εξέταση διάλυμα αλόης τοποθετήθηκαν στην ίδια κυψελίδα όπου και ανακινήθηκαν με σκοπό την γρηγορότερη έναρξη της αντίδρασης αναγωγής της ρίζας. Εν συνεχεία η κυψελίδα τοποθετήθηκε στην θέση παρακολούθησης απορρόφησης του φασματόμετρου το οποίο και ήταν ρυθμισμένο στα 517 nm. Το φασματόμετρο περιείχε και μία δεύτερη θέση όπου ήταν τοποθετημένη μια άλλη κυψελίδα αναφοράς που περιείχε καθαρή μεθανόλη. Έτσι λοιπόν παρακολουθήθηκε η πορεία της αντίδρασης του διαλύματος της ρίζας έτσι ώστε να γίνει σταθερή σε σχέση με τον χρόνο. Αυτό το σημείο ήταν για όλα τα δείγματα ίσο με 2 hr. Αυτός ο χρόνος είναι σε συμφωνία με τους Yun Hu, Juan Hu και Qiuhui Hu. Τέλος για διάφορες αραιώσεις του διαλύματος της σκόνης της αλόης προέκυψε το διάγραμμα 3.



**Διάγραμμα 2.** Διάγραμμα αναφοράς της ρίζας DPPH ως προς την απορρόφηση



**Διάγραμμα 3.** Το διάγραμμα από το οποίο προκύπτει η αντιοξειδωτική δράση της σκόνης *A. barbadensis* Miller

### ✦ Αποτελέσματα- Συζήτηση

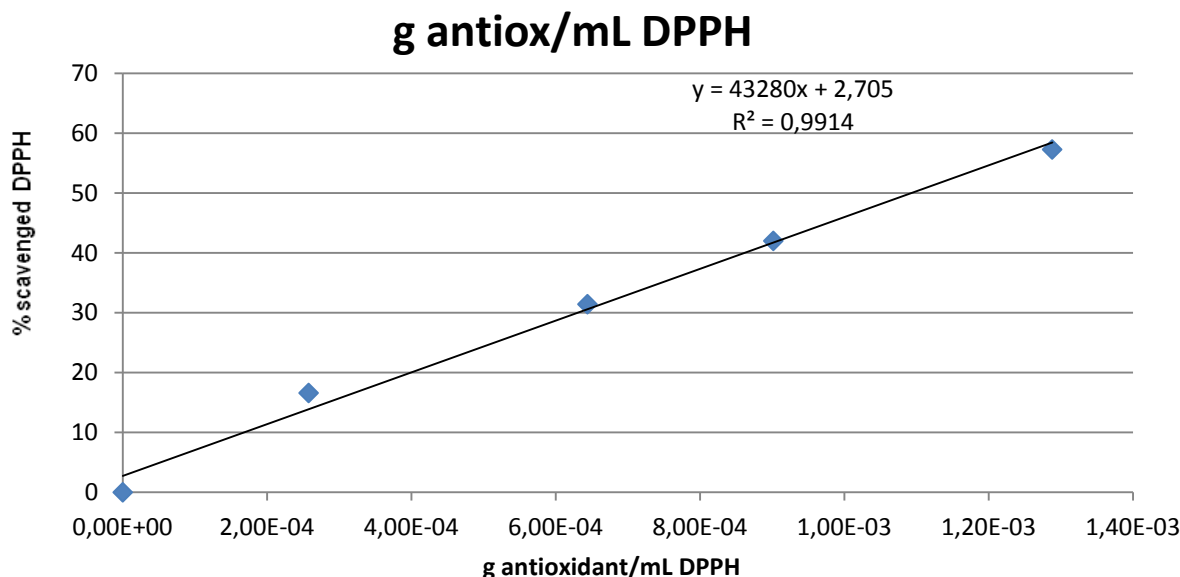
Από το διάγραμμα 3 παρατηρούμε ότι για να εξουδετερωθεί το 50% του ριζικού που χρησιμοποιήσαμε απαιτείται ποσότητα 43,7 γραμμαρίων σκόνης αλόης ανά γραμμάριο ρίζας DPPH. Αυτή η δράση είναι μικρή συγκριτικά με την ελάχιστη τιμή που δίνεται από προηγούμενες μελέτες για άλλα συστατικά. Οι Concerpcion Sanchez-Moreno et al, έδωσαν έναν πίνακα (πίνακας 1) με τις πρότυπες συγκεντρώσεις που απαιτούνται για την μείωση της αρχικής συγκέντρωσης κατά 50%, ήτοι της  $EC_{50}$ , καθώς και την απόκρισή τους με τον χρόνο για ορισμένες πολυφαινόλες των ανώτερων φυτών.

**Πίνακας 1.** Οι συγκεντρώσεις διάφορων προτύπων

Πρότυπα	$EC_{50}$ (g αντιοξειδωτικού/ kg DPPH)	$T_{E50}$ (min)	Κατηγοριοποίηση ως προς τον χρόνο αντίδρασης
Γαλλικό οξύ	26±1	14,69	Ενδιάμεση
Ταννικό	59±3	29,55	Ενδιάμεση
Καφεϊκό οξύ	69±7	5,26	Γρήγορη-ενδιάμεση
Ασκορβικό οξύ	76±7	1,15	Γρήγορη
Κουερκετίνη	84±6	63,28	Αργή
ΒΗΑ	93±6	103,85	Αργή
Ρουτίνη	102±9	46,00	Αργή
Φερουλικό οξύ	163±10	49,74	Αργή
DL-α-τοκοφερόλη	201±11	9,52	Ενδιάμεση
Ρεσβαρατρόλη	337±12	60,46	Αργή

Παρατηρούμε ότι είναι εμφανής η υπεροχή αυτών των πολυφαινόλων έναντι στην ολική αντιοξειδωτική δράση που υπολογίσαμε. Υπάρχουν πολλοί λόγοι που μπορεί να συμβαίνει αυτό. Ένας από τους επικρατέστερους, όπως περιγράφεται από τον Τσιμογιάννη Δημήτριο είναι η συνεργιστική δράση συστημάτων αντιοξειδωτικών με έμφαση στην συνέργεια των τοκοφερολών με διάφορες ενώσεις όπως το ασκορβικό οξύ, οι φαινολικές ενώσεις (και των φλαβονοειδών), φωσφολιπίδια, καροτένια και το κιτρικό οξύ. Όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 2 του θεωρητικού μέρους ο χυμός της *Aloe barbadensis* Miller περιέχει τόσο α-τοκοφερόλη όσο και ασκορβικό οξύ. Έτσι λοιπόν ενώ το ασκορβικό οξύ όπως αναφέρεται παρακάτω διατηρείται ενδέχεται η α-τοκοφερόλη να έχει υποβαθμιστεί λόγω της αυξημένης θερμοκρασίας όπως άλλωστε σημειώνουν και οι Noor Akhmazillah Mohd Fauzi et al. Αποτέλεσμα αυτής της υποβάθμισης μπορεί να οδηγήσει σε έλλειψη συνέργειας των τοκοφερολών του παρεγχύματος με τις άλλες αντιοξειδωτικές ουσίες.

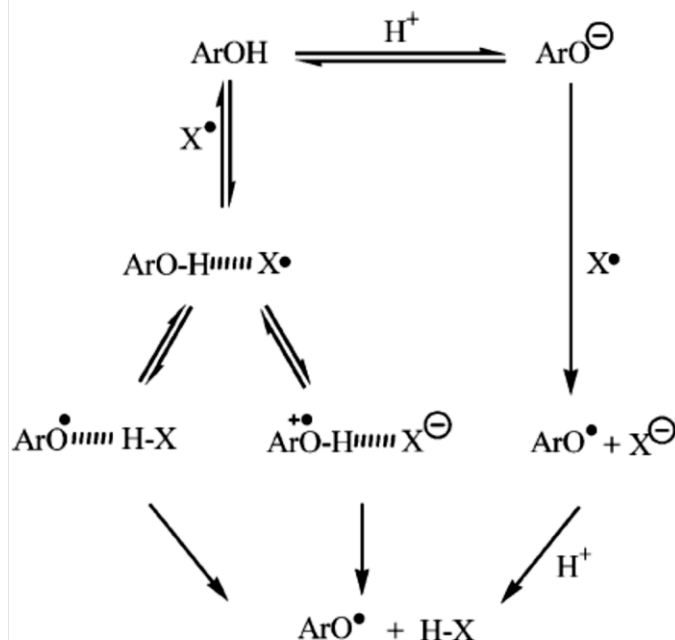
Οι Sonia Miladi και Mohamed Damak αναφέρουν ότι η μέγιστη  $EC_{50}$  είναι 406,8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , για το κλάσμα εκχύλισης με εξάνιο και η ελάχιστη  $EC_{50}$  254,2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , για το κλάσμα χλωροφόρμιου- αιθανόλης. Από το διάγραμμα 4 παρατηρούμε ότι η προκύπτουσα τιμή για τα δικά μας πειράματα είναι 1092,77  $\mu\text{g}/\text{mL}$  DPPH ή 1,09  $\text{mg}/\text{mL}$  DPPH, που είναι 2,7 φορές μεγαλύτερη από την μέγιστη δόση και 4,3 φορές μεγαλύτερη από την ελάχιστη δόση. Η διαφορά αυτή οφείλεται, αφενός στην ξήρανση του παρεγχύματος της *A. barbadensis* Miller με αποτέλεσμα να υποβαθμίζονται ορισμένα αντιοξειδωτικά συστατικά και αφετέρου η κατεργασία με υπέρηχους και/ή η έκθεση στο οξειδωτικό περιβάλλον της ατμόσφαιρας. Οι Norshahida Mohamad Shofian et al, αναφέρουν την απώλεια σημαντικών φαινολικών συστατικών και του β-καροτένιου από την ξήρανση υπό κατάψυξη ορισμένων φρούτων. Αξιοσημείωτη είναι η διατήρηση του ασκορβικού οξέος στην τελευταία μελέτη.



**Διάγραμμα 4.** Μία άλλη έκφραση της  $EC_{50}$  προκύπτει από το παρόν διάγραμμα

Από την άλλη, η τιμή των 1,09 mg/mL DPPH, είναι πολύ καλύτερη από αυτήν των Antonio Vega-Gálvez et al, για κάθε μέθοδο προκατεργασίας τους. Η μόνη μέθοδος που δίνει αντιοξειδωτική τιμή  $EC_{50}$  ίση με 3,2 mg/mL DPPH και είναι κοντά στην υπολογισθείσα τιμή είναι η κατεργασία υπό υψηλή υδροστατική πίεση. Αυτό εξηγείται από την καλύτερη εκχυλισσιμότητα των αντιοξειδωτικών, λόγω αλλαγών στην δομή των κυττάρων που να οδηγεί σε καλύτερη απελευθέρωση των συστατικών με αντιοξειδωτική δράση στον εξωκυττάριο χώρο. Επίσης η πολύ καλή τιμή μας μπορεί να αποδοθεί στο ότι η σκόνη που χρησιμοποιήθηκε, και προέκυψε από ξήρανση υπό κενό στους 70°C, βάσει πάλι των Antonio Vega-Gálvez et al, ήταν πιθανόν λόγω απελευθέρωσης αντιοξειδωτικών συστατικών της *A. barbadensis* Miller ή και δημιουργίας νέων λόγω της θερμικής επεξεργασίας. Γεγονός που ενισχύει την διατήρηση συστατικών με την θέρμανση αποτελεί και η βέλτιστη διατήρηση πολυσακχαριτών στους 70°C από τους Xiu Lian Chang et al. Αν και η χαμηλότερη δράση των ενζύμων πραγματοποιείται και άνω των 70°C ωστόσο πολλά συστατικά-μαζί με τα αντιοξειδωτικά- φαίνεται να επηρεάζονται σε μεγαλύτερο βαθμό από την θερμοκρασία απ' ότι από την ενζυμική υποβάθμιση.

Μία άλλη μελέτη από τους Ozsoy N et al, αναφέρει σημαντικά χαμηλότερη αντιοξειδωτική δράση με  $EC_{50}$  ίσο με 41,81 mg/mL από την πειραματική μας τιμή  $EC_{50}$  των 1,09 mg/mL. Οι Ozsoy N et al προτείνουν ότι η ανάλυση DPPH σχετίζεται στενά με το φαινολικό και φλαβονοειδές περιεχόμενο της *Aloe barbadensis* Miller. Ο μηχανισμός που υποστηρίζουν είναι ότι το φαινόμενο σαρώσεως των εκχυλισμάτων της *Aloe barbadensis* Miller μπορεί να εξαρτάται από την πρόσδοση ενός ατόμου υδρογόνου από τα διάφορα φαινολικά και φλαβονοειδή συστατικά στα οξειδωτικά μόρια, όπως το DPPH. Αυτό είναι σε αντίφαση με τους Foti et al, που πρότειναν ότι η αντίδραση είναι στην πραγματικότητα μεταφοράς ηλεκτρονίου ET, και ότι δεν περιλαμβάνει μεταφορά ατόμου υδρογόνου. Αυτό συμβαίνει διότι η αφαίρεση ενός υδρογόνου από μία ουδέτερη ArOH από το DPPH είναι δευτερεύον μονοπάτι αντίδρασης αφού συμβαίνει πολύ αργά σε ισχυρούς διαλύτες-αποδέκτες-υδρογόνων, όπως η μεθανόλη και η αιθανόλη. Οι Foti et al, εντόπισαν ότι το στάδιο καθοριστικό του ρυθμού της αντίδρασης είναι για την ET αντίδραση  $DPPH^{\cdot} + ArOH$  η διαδικασία γρήγορης μεταφοράς υδρογόνου από τα ανιόντα φαινοξειδίων από το DPPH. Στην εικόνα 3 παρουσιάζεται το φαινόμενο που πιθανόν ακολουθούν οι φυτοστερόλες της *Aloe barbadensis* από άποψη μηχανισμού αντίδρασης με το ριζικό DPPH.



**Εικόνα 3.** Στο παραπάνω σχήμα φαίνονται οι αντιδράσεις του DPPH<sup>•</sup> (σύμβολο X<sup>•</sup>) με τις φαινόλες ArOH. Το πρώτο μονοπάτι αντιδράσεων αποτελεί η απευθείας αφαίρεση ενός ατόμου υδρογόνου από την ρίζα DPPH<sup>•</sup> (αντιδράσεις HAT). Το δεύτερο μονοπάτι, περιλαμβάνει μια διαδικασία μεταφοράς ηλεκτρονίου από την ArOH ή το φαινοξειδίου της (ArO<sup>⊖</sup>) στην ρίζα X<sup>•</sup> (αντιδράσεις ET).

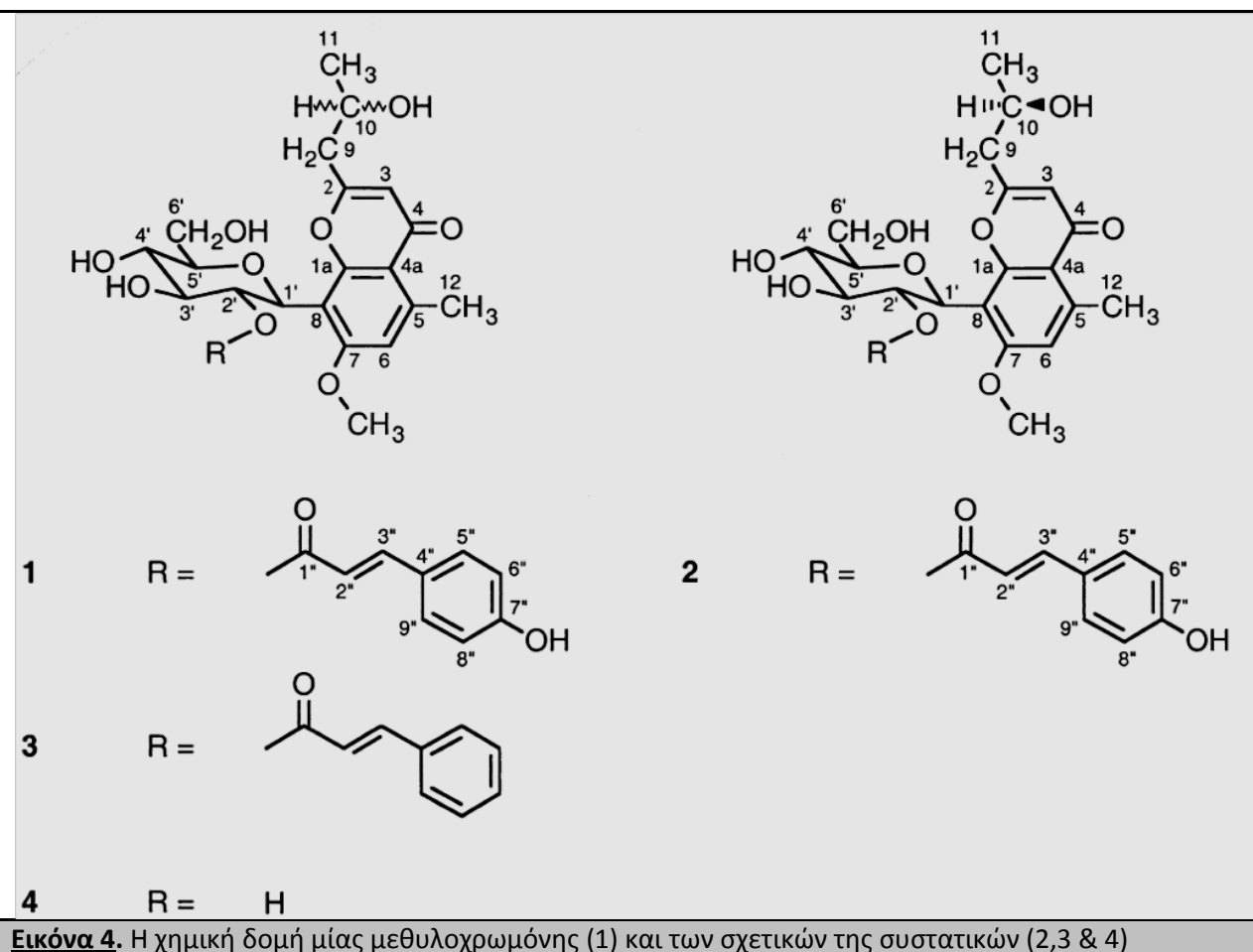
Σημαντικά συμπεράσματα μπορούν να προκύψουν και από τον τρόπο εκχύλισης των αντιοξειδωτικών συστατικών από την σκόνη. Οι Bushra Sultana et al, παρατήρησαν ότι η εκχύλιση με αναρροή (ή εκχύλιση κατά Soxhlet) οδηγεί σε καλύτερη εκχυλισιμότητα των συστατικών πολλών ιατρικών φυτών-στα οποία συμπεριλαμβανόταν και η *Aloe barbadensis* Miller- σε σχέση με την απλή εκχύλιση με ανακίνηση. Έτσι λοιπόν το δυναμικό αναγωγικής δράσης αυξήθηκε στην εκχύλιση κατά Soxhlet εν συγκρίσει με την εκχύλιση με ανακίνηση, ενώ και τα ολικά φλαβονοειδή είχαν αμελητέα αύξηση. Τα ολικά φαινολικά σε αυτήν την μελέτη είχαν καλύτερη απόδοση με πολικούς διαλύτες διαλυμένους σε νερό όπως υδατικά διαλύματα της μεθανόλης και αιθανόλης, ενώ πολύ μικρότερη σε καθαρούς πολικούς διαλύτες. Ένας λόγος λοιπόν που τόσο η αντιοξειδωτική δράση σε g αντιοξειδωτικού/kg DPPH όσο και εκφρασμένη σε g αντιοξειδωτικού /mL DPPH ήταν μικρότερη από τις προταθείσες αναφορές είναι η χρήση καθαρής μεθανόλης για την διάλυση της σκόνης αλόης, η οποία και οδήγησε σε μικρότερη εκχυλισιμότητα των ολικών φαινολικών, τα οποία βρέθηκε να προσδίδουν την δραστηριότητα σάρωσης ριζών. Τέλος η ίδια η μέθοδος εκχύλισης των Bushra Sultana et al διήρκεσε 6 ολόκληρες ώρες ενώ ο πειραματικός μας χρόνος προετοιμασίας δεν ξεπέρασε την μία ώρα. Αυτό δικαιολογεί την μικρότερη εκχυλισιμότητα των αντιοξειδωτικών από τους ιστούς του αποξηραμένου παρεγχύματος που αντανακλάται από τα πολλαπλάσια g αντιοξειδωτικού/kg DPPH σε σχέση με τα αντιοξειδωτικά του πίνακα 1.

#### ✦ Συστατικά με αντιοξειδωτική δράση στην *Aloe barbadensis* Miller

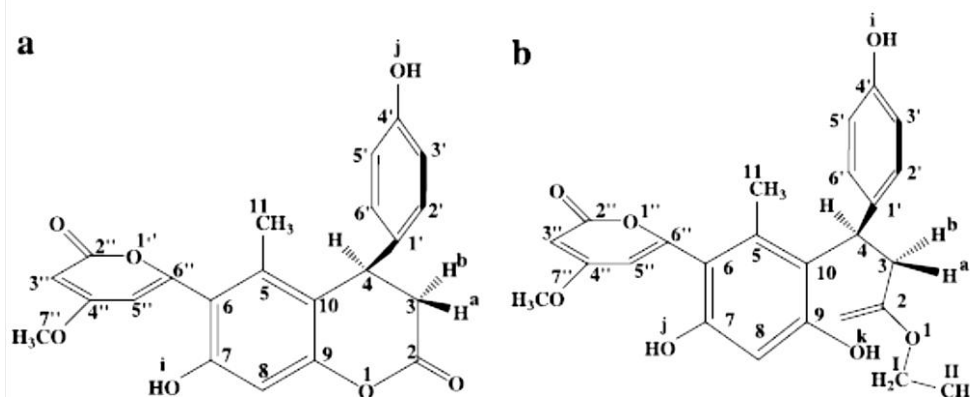
Όπως αναφέρθηκε η συνεργιστική δράση αντιοξειδωτικών συστατικών μπορεί να βασίζεται στις τοκοφερόλες. Ωστόσο αυτό δεν είναι απόλυτα εξακριβωμένο με μελέτες πάνω στην ίδια την *Aloe barbadensis* Miller. Παρολαυτά πολλές επιτυχείς προσπάθειες απομόνωσης αντιοξειδωτικών συστατικών έχουν επιχειρηθεί με θετικά αποτελέσματα. Το σημαντικό είναι ότι με στόχο την εύρεση

συστατικών με αντιοξειδωτική δράση ξεδιπλώνεται πιο ευχάριστα και αποδοτικά η χημική σύσταση της *Aloe barbadensis* Miller.

Οι Ki Young Lee et al αναφέρουν χαρακτηριστικά την απομόνωση ενός φαινολικού αντιοξειδωτικού (εικόνα 4) από την λυοφιλωμένη σκόνη της *Aloe barbadensis* Miller. Παρατηρήθηκε ότι τα περισσότερα φαινολικά εκχυλίζονται καλύτερα με καθαρό οξικό αιθυλεστέρα και αμέσως μετά με καθαρή μεθανόλη, με απόδοση 1,86 και 1,44 mg/g λυοφιλωμένης σκόνης αντίστοιχα. Η αντιοξειδωτική δράση τους ήταν παρόμοια με αυτή της τοκοφερόλης σε ανάλυση καταστολής υπεροξειδωσης ομογενοποιημάτων μυαλού ποντικών. Αυτή η μελέτη υποδεικνύει ότι η αντιοξειδωτική δράση μπορεί να οφείλεται και σε μεμονωμένα συστατικά τα οποία να ενεργοποιούνται από τους επιλεκτικούς μηχανισμούς σε *in vivo* πειράματα και όχι από την κατά πολύ ευρύτερη μέθοδο με το DPPH.

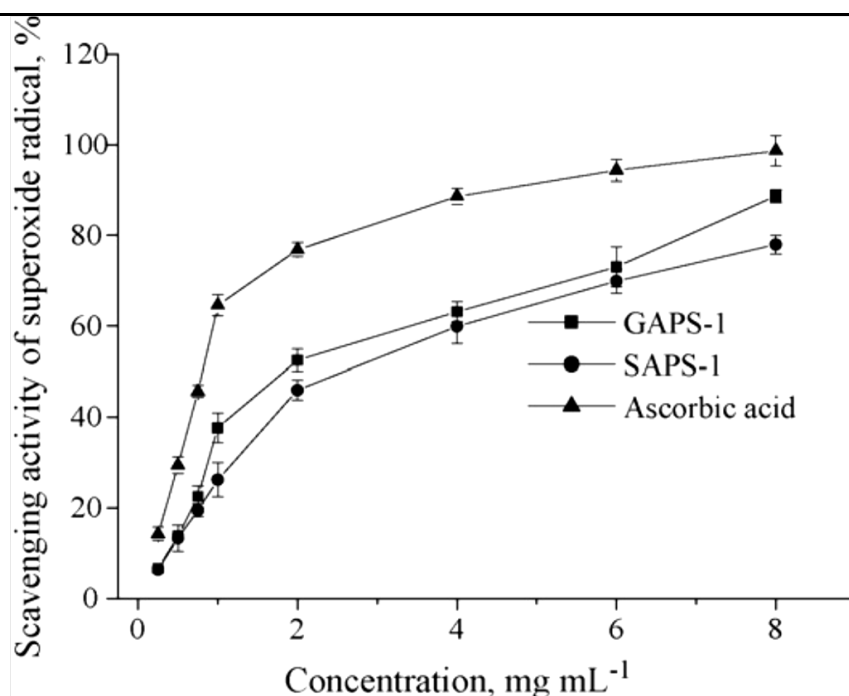


Τέλος οι Xiu-feng Zhang et al, αφού απομόνωσαν δύο διυδροκουμαρίνες (εικόνα 5) παρατήρησαν ότι η αντιοξειδωτική δράση τους κατά των ανιόντων υπεροξειδίου και ριζικών υδροξυλίων ήταν 29,83% και 43,67% για το **1** και 30,33% και 42,33% για το **2** αντίστοιχα. Σύγκριση των δύο αυτών μοριακών δομών **1** και **2**, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ο λακτονικός δακτύλιος στο **1** σε αντίθεση με το **2** έχει ρόλο ζωτικής σημασίας για την ανοσορυθμιστικότητα σε σχέση με την φαγοκυτταρική δραστηριότητα και την οξειδωτική έκρηξη, φανερώνοντας ότι και ένα απλό δομικό χαρακτηριστικό είναι ικανό να συμβάλλει στην αντιοξειδωτική ή μη δράση ενός εκχυλίσματος.



**Εικόνα 5.** Οι μοριακές δομές των διυδροκουμαρίνων **1** (a) και **2** (b)

Ένα ακόμη ενδιαφέρον παράδειγμα πολυσακχαριτών με αντιοξειδωτική δράση από την *Aloe barbadensis* Miller, παραθέτουν και οι Liu Chun-hui et al, οι οποίοι απομόνωσαν από φρέσκο ζελέ αλόης δύο κλάσματα πολυσακχαριτών. Η αντιοξειδωτική τους δράση  $IC_{50}$  προέκυψε συγκρίσιμη με του ασκορβικού οξέος (0,8 mg/mL) και ήταν 1,9 και 2,8 mg/mL για τους GAPS-1 και SAPS-1 αντίστοιχα για την εξουδετέρωση ριζικών υπεροξειδίου (εικόνα 6). Αυτή η μελέτη φαίνεται πιο κοντά στην πραγματικότητα από το DPPH αφού τα ανιόντα υπεροξειδίου είναι οι πρόδρομοι για τις ενεργές ρίζες που έχουν το δυναμικό αντίδρασης με τα βιολογικά μακρομόρια και ως εκ τούτου προκαλούν βλάβες στους ιστούς. Επίσης τα ανιόντα υπεροξειδίου έχουν μεγάλο ρόλο για την δημιουργία ROS όπως υπεροξειδία του υδρογόνου, ρίζες υδροξυλίων και μονήρων οξυγόνων που προκαλούν μαζικά βλάβες σε λιπίδια, πρωτεΐνες και DNA.



**Εικόνα 6.** Η ικανότητα σάρωσης των GAPS-1 και SAPS-1 έναντι των από την *Aloe barbadensis* Miller που αρδευόταν με θαλασσινό νερό με το ασκορβικό οξύ σαν θετικό μάρτυρα-δείγμα ελέγχου.



### 3. Παρασκευή χυμών από την *Aloe barbadensis* και η ποιοτική αξιολόγηση τους

Αφού λοιπόν ασχοληθήκαμε με την ενόργανη ανάλυση του παρεγχύματος της *Aloe barbadensis* Miller καθώς και το αντιοξειδωτικό δυναμικό της χρήσιμα συμπεράσματα μπορούν να εξαχθούν από την εφαρμογή όλων αυτών σε ένα δυναμικό καταναλωτικό προϊόν. Το να ενασχοληθεί κάποιος με το εκχύλισμα της *Aloe barbadensis* Miller, δεν είναι τόσο απλό όσο φαίνεται.

- i. Το πρώτο πρόβλημα είναι ότι η βιομηχανία αλόης είναι ιδιαίτερος ευάλωτη σε παραπλανητικές πρακτικές με τους παροχείς stock αλόης συχνά να αραιώνουν με μεγάλες ποσότητες νερού τα χρήσιμα εκχυλίσματα αλόης, ακόμα και σε βαθμό να πωλούν καθαρό νερό σαν αλόη. Σε άλλες περιπτώσεις οι παροχείς έχουν αναμίξει τα εκχυλίσματα όχι μόνο με νερό αλλά και με μαλτοδεξτρίνη, έναν φτηνό υδατάνθρακα παραγόμενο από το άμυλο καλαμποκιού, απλά και μόνο για να δείχνει το προϊόν ότι δεν έχει διαλυτοποιηθεί.
- ii. Ένα άλλο κύριο εμπόδιο για να παραλάβει κάποιος γνήσια αλόη δεν έχει να κάνει μόνο με τις απάτες αλλά με ουσιαστική έλλειψη γνώσης ή έλλειψη «στεγανότητας» στην διαχείριση του έλεγχου στις διεργασίες που περιλαμβάνουν την αλόη. Το πρόβλημα είναι ότι πολλά ενεργά συστατικά της αλόης είναι ιδιαίτερος ασταθή. Αυτό μεταφράζεται στο ότι εάν υποβληθούν σε μία απλή και στοιχειώδη κατεργασία, αυθόρμητα μεταπίπτουν σε χημικές αλλαγές και μετουσιώσεις. Αν και ο τελευταίος όρος αναφέρεται μόνο σε πρωτεΐνες στην κυτταρική χημεία, ωστόσο στην χημεία της επεξεργασίας της αλόης μπορεί να εφαρμοστεί για πολλά ενεργά συστατικά. Αποτέλεσμα αυτών των μετουσιώσεων είναι η απώλεια της βιοιατρικής δραστηριότητας που ο αγοραστής προσπαθεί να αγοράσει.

Στον παραπάνω έλεγχο των διεργασιών της αλόης μπορούμε να εντοπίσουμε μερικά ζητήματα που επηρεάζουν σε μικρότερο και σε μεγαλύτερο βαθμό την ποιότητα του τελικού προϊόντος. Στην παρούσα λοιπόν πειραματική διεργασία υιοθετήθηκαν αυστηρά κριτήρια τα οποία επέτρεψαν την όσο το δυνατόν λιγότερο καταστρεπτική κατεργασία του παρεγχύματος της *Aloe barbadensis* Miller, για την παραγωγή χυμών σε συνδυασμό με χυμό πορτοκαλιών και κόκκινων σταφυλιών.

Βασιζόμενοι λοιπόν στους Qian He et al, εκ του πλήθους των σημείων ελέγχου η παραγωγή των χυμών έγινε αποκλειστικά με τα κρίσιμα εξ αυτών σημεία έλεγχου CCP. Στον πίνακα 2 δίνονται όλα τα σημεία ελέγχου με την αντίστοιχη αξιολόγηση τους. Παρατηρούμε ότι δύο βήματα είναι ιδιαίτερα κρίσιμα:

- i. *Η προσθήκη βιταμίνης C και κιτρικού οξέος.*  
Το pH του χυμού της αλόης αποτελεί ένα μετρώ για την ενεργή οξύτητα που επηρεάζει την γεύση του, τις απαιτήσεις των διεργασιών και την ασφάλεια. Με σκοπό να διασφαλισθεί μια αποτελεσματική παστερίωση και για να επιτευχθεί μία καλύτερη γεύση, το pH πρέπει να είναι συνήθως ρυθμισμένο στο 3,0 με 3,5 με την προσθήκη του κιτρικού οξέος. Ως εκ τούτου, το βήμα της προσθήκης κιτρικού οξέος είναι ένα CCP.
- ii. *Η παστερίωση*  
Όπως οι περισσότεροι χυμοί, η επιμόλυνση με μικροχλωρίδες περιορίζεται στα όξινα ανεκτικά βακτήρια, ζύμες, μύκητες και μούχλες σε περιβαλλοντικό pH ίσο με 3,0 με 3,5. Στην παστερίωση, ο χυμός της αλόης υφίσταται θερμική κατεργασία με σκοπό την εξαφάνιση των μικροβιολογικών κινδύνων. Η HTST κατεργασία, υψηλής θερμοκρασίας μικρού χρόνου, που γίνεται στους 85-95°C για 1-2 min είναι η πιο ευρεία χρησιμοποιούμενη μέθοδος. Η παστερίωση αυτή (βλέπε κεφάλαιο 4) επιτυγχάνεται στην ίδια γραμμή παραγωγής υπό συνεχή έλεγχο της θερμοκρασίας και ελέγχοντας το

μικροβιακό φορτίο του παστεριωμένου προϊόντος για το αν συμμορφώνεται με τα μικροβιολογικά επίπεδα ελέγχου. Οι μικροβιολογικοί έλεγχοι πρέπει να υποδεικνύουν απαραίτητα την απουσία παθογόνων μικροοργανισμών. Επομένως και το βήμα 9 του πίνακα 2 αποτελεί κρίσιμο σημείο για την ποιότητα.

**Πίνακας 2.** Περιγραφή των CCP στην κατεργασία του χυμού των φιλέτων της *Aloe barbadensis* Miller

Βήμα διεργασίας	Είναι ένα CCP; (ΝΑΙ/ΟΧΙ)	Βήμα διεργασίας	Είναι ένα CCP; (ΝΑΙ/ΟΧΙ)
1. Υποδοχή πρώτων υλών (φύλλα αλόης)	ΟΧΙ	7. Προσθήκη βιταμίνης C και κιτρικού οξέος	ΝΑΙ
2. Λειτουργία καθαρισμού	ΟΧΙ	8. Απαέρωση	ΟΧΙ
3. Λειτουργία φιλεταρίσματος	ΟΧΙ	9. Παστερίωση	ΝΑΙ
4. Άλεση/ ομογενοποίηση	ΟΧΙ	10. Ψύξη εκτόνωσης	ΟΧΙ
5. Προσθήκη πηκτινολυτικών ενζύμων	ΟΧΙ	11. Πακετάρισμα	ΟΧΙ
6. Φιλτράρισμα	ΟΧΙ	12. Αποθήκευση	ΟΧΙ

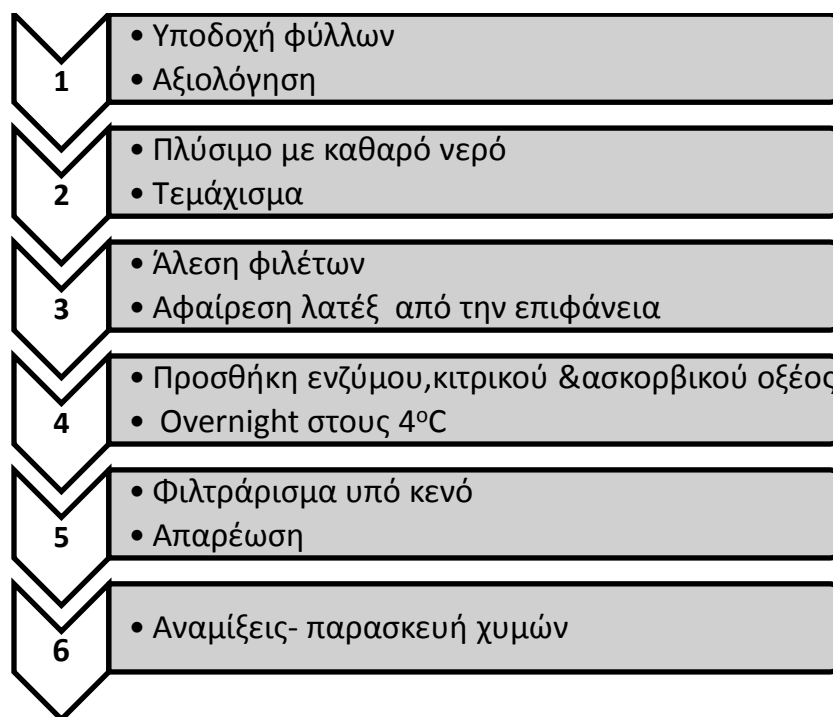
Όλα τα άλλα βήματα καθορίζονται μικροβιακά από την παστερίωση ή από τις GAP –καλές γεωργικές πρακτικές-. Όπως έχουμε αναφέρει στο κεφάλαιο 4 σημαντικότερο από όλα τα βήματα είναι η σωστή καθημερινή φροντίδα των φυτών της αλόης καθώς και η συγκομιδή τους ή με άλλα λόγια η εφαρμογή μίας οργανωμένης και πιστοποιημένης επιστημονικά αγρονομίας.

Ο όρος «ποιότητα» έχει καταστεί μία κοινή έκφραση για την καθημερινή γλώσσα λόγω της εκτενούς πρωτότερης χρήσης της από διαφημιστές για σκοπούς προώθησης. Το σημείο ελέγχου ποιότητας (QCP) σημαίνει μία διαδικασία όπου ο έλεγχος μπορεί να εφαρμοστεί και ένας κίνδυνος ποιότητας (σχετικά με την γεύση, εμφάνιση, διατροφική αξία αλλά ιδιαίτερα και τον χρόνο ζωής) να προληφθεί, να εξαφανιστεί ή να μειωθεί σε αποδεκτά επίπεδα. Οι πελάτες περιμένουν το τρόφιμο που αγοράζουν να είναι θρεπτικό, μη νοθευμένο, ασφαλές και εντός κανονισμών ποιότητας. Συστήματα ποιότητας όπως το ISO 9000 έχουν ήδη αναγνωριστεί από πολλές βιομηχανίες. Αποτελεί την υπέρτατη ευθύνη των υπευθύνων ελέγχου ότι κάθε πλευρά του προϊόντος θα πρέπει να ελέγχεται με τις καλές τεχνικές παρασκευής (GMP) της βιομηχανίας. Ο διαχείριση του ολικού ελέγχου (TQM) είναι πλέον το τρίτογενές στάδιο για την βελτίωση της ποιότητας στην βιομηχανία τροφίμων.

Στην βιομηχανία τροφίμων λοιπόν αλλά και ειδικότερα στην βιομηχανία της αλόης υπάρχουν συστήματα που διασφαλίζουν τα επίπεδα ποιότητας. Ένα τέτοιο πλαίσιο προκύπτει και από την ενσωμάτωση της ανάλυσης κινδύνου κρίσιμων σημείων ελέγχου (HACCP) στις GMP και στο SSOP (standard sanitation operation program). Τα σημεία κλειδιά σχετικά με την διασφάλιση ποιότητας του χυμού της *Aloe barbadensis* Miller περιλαμβάνουν: (1) την αποφυγή της αντίδρασης που οδηγεί σε προϊόν χρώματος καφέ αλλά και γενικότερα την καλή εμφάνιση του προϊόντος, (2) η αποφυγή υποβαθμίσεων και απώλειας βιολογικών δραστηριοτήτων του χυμού έτσι ώστε να προκύψει ένα θρεπτικό προϊόν και (3) το πώς θα προκύψει ένας χυμός με μεγάλο χρόνο ζωής.

### ✦ Στόχος- Πειραματική διαδικασία

Στην πειραματική μας διαδικασία κύριος στόχος ήταν η παρασκευή ασφαλούς προϊόντος από πλευράς μικροβιακής ασφάλειας. Έτσι λοιπόν ακολουθήθηκε η κατωτέρω διαδικασία:



Περίληπτικά η ανωτέρω διαδικασία είναι η εξής: 14 φρέσκα φύλλα *Aloe barbadensis* Miller από τον αγρό αφότου αξιολογήθηκαν ως προς την εμφάνισή και την ακεραιότητά τους και τα δομικά τους χαρακτηριστικά πλύθηκαν με καθαρό νερό βρύσης και τεμαχίστηκαν με το χέρι για την παραλαβή των φιλέτων. Ολόκληρη η διαδικασία ήταν ίδια με το υποκεφάλαιο 5 του κεφαλαίου 4. Η μόνη αρχική διαφορά ήταν ότι δεν χρησιμοποιήθηκε κανένα χημικό μέσο αφού τόσο το νερό όσο και ο καθαρισμός με βούρτσα ήταν αρκετός. Τα φύλλα αφού, τους αφαιρέθηκε το εξωτερικό πράσινο μεσόφυλλο, με ιδιαίτερη προσοχή στην πλήρη απομάκρυνση του κίτρινου εξιδρώματος, οδήγησαν στην παραλαβή των άχρωμων φιλέτων του παρεγχύματος. Τα φιλέτα αφού πλύθηκαν εκ νέου, αλέστηκαν και έπειτα αφέθηκε το όλο αφρώδες μίγμα να ηρεμήσει για 1 ώρα. Παρατηρήθηκε ο διαχωρισμός δύο φάσεων, του καθαρού χυμού και του αφρώδους λατέξ στην επιφάνεια. Το τελευταίο παρατηρήθηκε ότι ήταν πρακτικά αδύνατο να αποσπαστεί από τα φιλέτα. Η απόδοση σε χυμό ήταν περίπου 3 L.

Αφού το λατέξ αφαιρέθηκε προστέθηκαν το ένζυμο, το κιτρικό και το ασκορβικό οξύ σε ποσοστό 0,1% το καθένα. Μετά από 24 ώρες περίπου στους 4°C πραγματοποιήθηκε φιλτράρισμα υπό κενό του διαυγασμένου πλέον χυμού και αφαίρεση των φυσαλίδων αέρα από αυτόν. Τέλος παρασκευάστηκαν χυμοί δια αναμίξεως του χυμού της αλόης με χυμούς από πορτοκάλι και κόκκινο σταφύλι. Οι τελικοί χυμοί ήταν έτσι παρασκευασμένοι ώστε το περιεχόμενο σε ολικά στερεά να είναι ίσο με 12°Bx. Η παστερίωση που έλαβε χώρα ήταν batch διεργασία. Δηλαδή αφότου τοποθετήθηκαν οι χυμοί μέσα στα δοχεία σφραγίστηκαν και τοποθετήθηκαν σε λουτρό υπό ανάδευση θερμοκρασίας 80°C για 10 min.

Η πειραματική διαδικασία ήταν ο έλεγχος διατηρησιμότητας των χυμών σε θερμοκρασίες των 5, 15 και 25°C με σκοπό τον προσδιορισμό του χρόνου ζωής του.

## ✚ Αποτελέσματα- Συζήτηση

### *Μικροβιακή ανάλυση*

Για τον υπολογισμό του μικροβιακού φορτίου στα δείγματα εφαρμόστηκε η μέθοδος της επιφανειακής ανάπτυξης σε τρυβλία. Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στο ότι από ένα μικροβιακό κύτταρο αναπτύσσεται μία και μόνο αποικία και συνεπώς η μέτρηση αποικιών δίνει τον αριθμό των μικροοργανισμών από όπου προήλθαν.

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, 25g προϊόντος φέρονται σε αποστειρωμένη σακούλα και προστίθενται σε αυτό 225g αποστειρωμένου ορού Ringer. Το μείγμα ομογενοποιείται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Σε δοκιμαστικούς σωλήνες των 10mL φέρονται 9mL ορού Ringer. Από το ομογενοποιημένο δείγμα λαμβάνεται 1mL και τοποθετείται σε έναν σωλήνα και το μείγμα αναδεύεται. Από αυτόν λαμβάνεται 1mL και φέρεται στον επόμενο σωλήνα. Κάθε αραιώση αποτελεί υποδεκαπλάσια της προηγούμενης. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται έως ότου επιτευχθούν οι επιθυμητές αραιώσεις. Σημειώνεται ότι όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των μικροοργανισμών στο δείγμα, τόσο περισσότερες αραιώσεις απαιτούνται.

Οι μικροοργανισμοί που μετρήθηκαν ήταν η ολική μικροβιακή χλωρίδα, ζύμες και μύκητες. Για τη μέτρηση της ολικής μικροβιακής χλωρίδας, χρησιμοποιήθηκε κυρίως το μη επιλεκτικό υπόστρωμα Plate Count Agar (PCA) της Merck. Το θρεπτικό υλικό διανέμεται στα αποστειρωμένα τρυβλία Petri και αφήνεται να στερεοποιηθεί. Αρκετή είναι η ποσότητα που αρκεί για να καλύψει τον πυθμένα του κάθε τρυβλίου. 0,1mL δείγματος λαμβάνονται και φέρονται στην επιφάνεια του υποστρώματος και ακολουθεί επάλειψη με τη βοήθεια γυάλινης ράβδου. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται για όλες τις αραιώσεις και πραγματοποιούνται διπλά δείγματα για κάθε αραιώση. Τα τρυβλία αφήνονται να επώασουν για 3 ημέρες στους 25°C.

Για τη μέτρηση των ζυμών και των μυκητών χρησιμοποιήθηκε του επιλεκτικό υπόστρωμα Rose-Bengal Chloramphenicol (RBC) της Merck. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε είναι αντίστοιχη με αυτή που αφορά τον υπολογισμό της ολικής μικροβιακής χλωρίδας. Στην περίπτωση αυτή, η επώαση απαιτεί 2 ημέρες στους 25°C.

Τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 3. Σε αυτόν τον πίνακα τόσο η μεσόφιλη χλωρίδα όσο και οι μούχλες και μύκητες παρουσιάζονται στον ίδιο πίνακα. Αυτό δικαιολογείται από το ότι οι τιμές ήταν κοινές, δηλαδή  $< 1 \log\text{CFU/g}$ .

### *Συζήτηση*

Είναι γεγονός ότι ένα προϊόν είναι καλύτερα, σε αυτό το προκαταρκτικό στάδιο αυτής της εργασίας, να είναι ασφαλές στην υγεία. Αν και η θρεπτικότητα είναι το δεύτερο σημείο κλειδί για την ποιότητα του χυμού της αλόης, ωστόσο αυτή καλύπτεται σε μεγάλο ποσοστό από την απουσία μικροοργανισμών. Στο κεφάλαιο 4 (εικόνα 3) παρατηρούμε ότι τόσο οι μικροοργανισμοί όσο και η υπερβολική επεξεργασία με ένζυμα συμβάλλουν στην σημαντική υποβάθμιση των προϊόντων αλόης. Έτσι λοιπόν στην περίπτωση μας η μικρή ποσότητα ενζύμου συμβάλλει απλά στην μείωση του ιξώδους για την μετέπειτα κατεργασία. Εξάλλου και ο τρόπος παστερίωσης που χρησιμοποιήσαμε HTST δεν απενεργοποιεί μόνο τους παθογόνους μικροοργανισμούς αλλά και το ίδιο το ένζυμο, καθιστώντας το ανενεργό για την μετέπειτα διάρκεια αποθήκευσής του.

**Πίνακας 3:** Μεταβολή ολικής μεσόφιλης χλωρίδας και ζυμών-μυκήτων δειγμάτων χυμών για δείγματα αποθηκευμένα σε διάφορες θερμοκρασίες.

Ημέρες δειγματοληψίας	Χυμός <i>A.barbadensis</i>			Χυμός <i>A.barbadensis</i> με πορτοκάλι			Χυμός <i>A.barbadensis</i> με κόκκινο σταφύλι		
	5°C	15°C	25°C	5°C	15°C	25°C	5°C	15°C	25°C
	logCFU/g								
0	< 1			< 1			< 1		
5	< 1			< 1			< 1		
12	< 1			< 1			< 1		
19	< 1			< 1			< 1		
28	< 1			< 1			< 1		
41	< 1			< 1			< 1		
50	< 1			< 1			< 1		
58	< 1			< 1			< 1		
67	< 1			< 1			< 1		
80	< 1			< 1			< 1		
90	< 1			< 1			< 1		
105	< 1			< 1			< 1		

#### *Επίδραση προσθήκης πηκτινολυτικού ενζύμου*

Η ενζυμική κατεργασία του ζελέ της *Aloe barbadensis* για μεγάλο χρονικό διάστημα πριν την κυρίως κατεργασία του, είναι αδιαμφισβήτητα καταστρεπτική για τα βιολογικώς ενεργά συστατικά του, όπως οι πολυσακχαρίτες που είναι τα πιο σημαντικά και κυρίαρχα συστατικά αυτού. Αυτό το βήμα όπως και όλα τα βήματα του πίνακα 2 αποτελούν ένα σύνολο 10 κρίσιμων σημείων ελέγχου για την ποιότητα του χυμού της αλόης. Βέβαια παρόλη την καταστρεπτικότητα η ενζυμική κατεργασία έχει προταθεί ότι στους 50°C για 20 min δεν περιλαμβάνει απώλεια βιολογικής δραστηριότητας των πολυσακχαριτών στον χυμό της αλόης.

#### *Τελικό αποτέλεσμα διατηρησιμότητας*

Η τελική διαπίστωση έχει να κάνει με την ασφάλεια του προϊόντος σχετικά με την μικροβιολογική σύστασή του. Ο χρόνος ζωής των χυμών παρατηρήθηκε βάσει του πίνακα 3 ότι ξεπερνά τους 3 μήνες για κάθε θερμοκρασία συντήρησης, συμπεριλαμβανομένης και της θερμοκρασίας περιβάλλοντος.

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ****Άρθρα**

1. Muller FL, Lustgarten MS, Jang Y, Richardson A, Van Remmen H. Trends in oxidative aging theories, *Free Radical Biology & Medicine* **43**, **2007**, 477–503
2. Huang D, Ou B, Prior RL., The chemistry behind antioxidant capacity assays, *J Agric Food Chem.* **2005** Mar 23;53(6):1841-56
3. P. Ionita, Is DPPH Stable Free Radical a Good Scavenger for Oxygen Active Species?, Institute of Physical Chemistry, Bucharest, Romania University of York, Chemistry Department, YO10 5DD, UK, **2003**
4. Sonia Miladi, Mohamed Damak, In vitro antioxidant activities of *Aloe vera* leaf skin extracts, *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, **2008** *10*, 101-109
5. Norshahida Mohamad Shofian, Azizah Abdul Hamid, Azizah Osman, Nazamid Saari, Farooq Anwar, Mohd Sabri Pak Dek and Muhammad Redzuan Hairuddin, Effect of Freeze-Drying on the Antioxidant Compounds and Antioxidant Activity of Selected Tropical Fruits, *Int. J. Mol. Sci.* **2011**, *12*, 4678-4692
6. Antonio Vega-Gálvez, Elsa Uribe, Mario Perez, Gipsy Tabilo-Munizaga, Judith Vergara, Purificación Garcia-Segovia, Elena Lara, Karina Di Scala, Effect of high hydrostatic pressure pretreatment on drying kinetics, antioxidant activity, firmness and microstructure of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) gel, *LWT - Food Science and Technology* Volume 44, Issue 2, March **2011**, Pages 384-391
7. Xiu Lian Chang, Changhai Wang, Yongmei Feng, Zhaopu Liu, Effects of heat treatments on the stabilities of polysaccharides substances and barbaloin in gel juice from *Aloe vera* Miller, *Journal of Food Engineering* Volume 75, Issue 2, July **2006**, Pages 245-251
8. Ozsoy N, Candoken E, Akev N, Implications for degenerative disorders: antioxidative activity, total phenols, flavonoids, ascorbic acid, beta-carotene and beta-tocopherol in *Aloe vera.*, *Oxid Med Cell Longev.* **2009** Apr-Jun, 2(2):99-106.
9. Foti, M. C.; Daquino, C.; Geraci, C. Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH radical in alcoholic solutions. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 2309-2314
10. Concepcion Sanchez-Moreno, Jose A Larrauri and Fulgencio Saura-Calixto, A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols, *J Sci Food Agric* **1998**, *76*, 270-276
11. Noor Akhmazillah Mohd Fauzi, Mohamad Roji Sarmidi, Storage Stability of  $\alpha$ -tocopherol Extracted from Heated and Unheated Palm Oil Mesocarp, *Journal of Science and Technology*, Vol 2, No 1 (**2010**)
12. Bushra Sultana, Farooq Anwar 1, and Muhammad Ashraf, Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts *Molecules* **2009**, *14*, 2167-2180; doi:10.3390/molecules14062167
13. Ki Young Lee, Susan T Weintraub, Byung Pal Yu, Isolation and identification of a phenolic antioxidant from *Aloe barbadensis* *Free Radical Biology and Medicine* Volume 28, Issue 2, 15 January **2000**, Pages 261-265
14. Xiu-feng Zhang, Hong-mei Wang, Yuan-li Song, Li-hua Nie, Lan-fen Wang, Bin Liu, Ping-ping Shen and Yang Liu, Isolation, structure elucidation, antioxidative and immunomodulatory properties of two novel dihydrocoumarins from *Aloe vera*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **16** (**2006**) 949–953
15. Liu Chun-hui, Wang Chang-hai, Xu Zhi-liang, Wang Yi, Isolation, chemical characterization and antioxidant activities of two polysaccharides from the gel and the skin of *Aloe barbadensis* Miller irrigated with sea water, *Process Biochemistry* Volume 42, Issue 6, June **2007**, Pages 961-970

16. Qian He, Liu Changhong, Eshun Kojouhar, Zhang Tian, Quality and safety assurance in the processing of aloe vera gel juice *Food Control* 16 (2005) 95–104

## ΒΙΒΛΙΑ

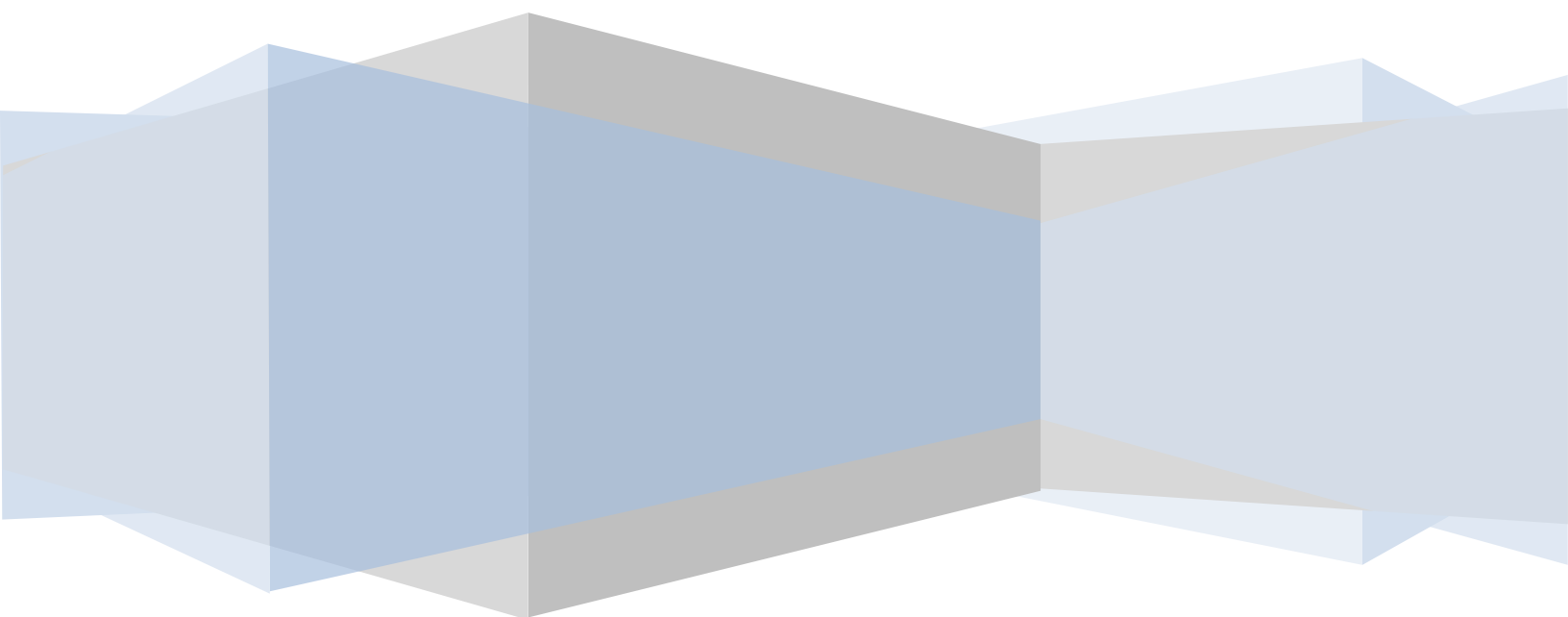
1. Τσιμογιάννης Δημήτριος, Αντιοξειδωτική δράση φλαβονοειδών ενώσεων και εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών: αναγωγή ελευθέρων ριζών και προστασία φυτικών ελαίων, Διδακτορική διατριβή, Αθήνα **2008**

## Ιστοσελίδες

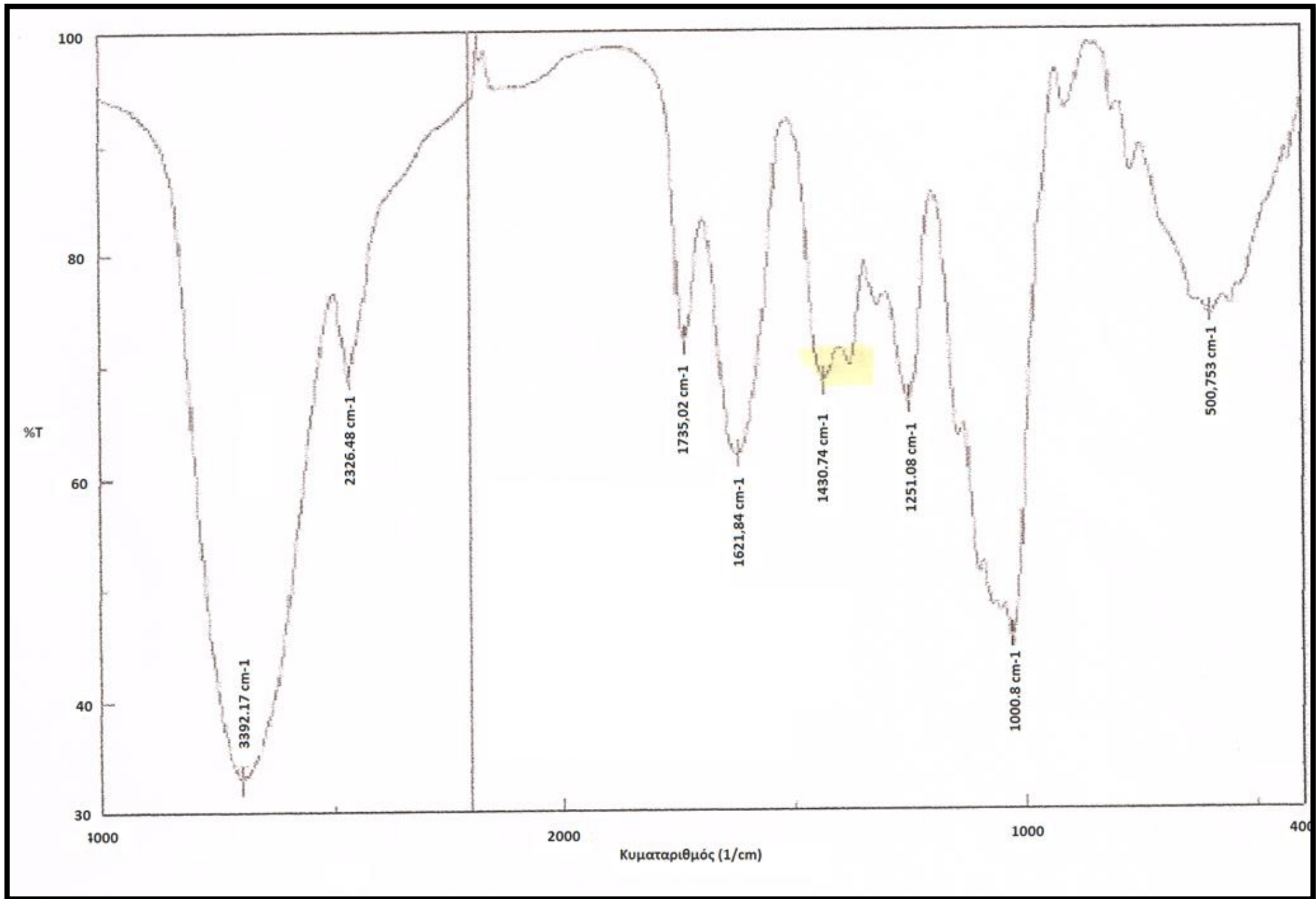
1. [http://web.mit.edu/5.33/www/ESR\\_05.pdf](http://web.mit.edu/5.33/www/ESR_05.pdf)
2. [http://web1.caryacademy.org/facultywebs/gray\\_rushin/StudentProjects/CompoundWebSites/2008/Methanol/default.htm](http://web1.caryacademy.org/facultywebs/gray_rushin/StudentProjects/CompoundWebSites/2008/Methanol/default.htm)
3. [http://www.assignmenthelp.net/assignment\\_help/chemical-reaction-engineering-CSTR.php](http://www.assignmenthelp.net/assignment_help/chemical-reaction-engineering-CSTR.php)
4. <http://www.hiwtc.com/photo/products/21/07/64/76442.jpg>
5. <http://mdaras.com/pma/tag/ma-rewards/>

# Παράρτημα 1

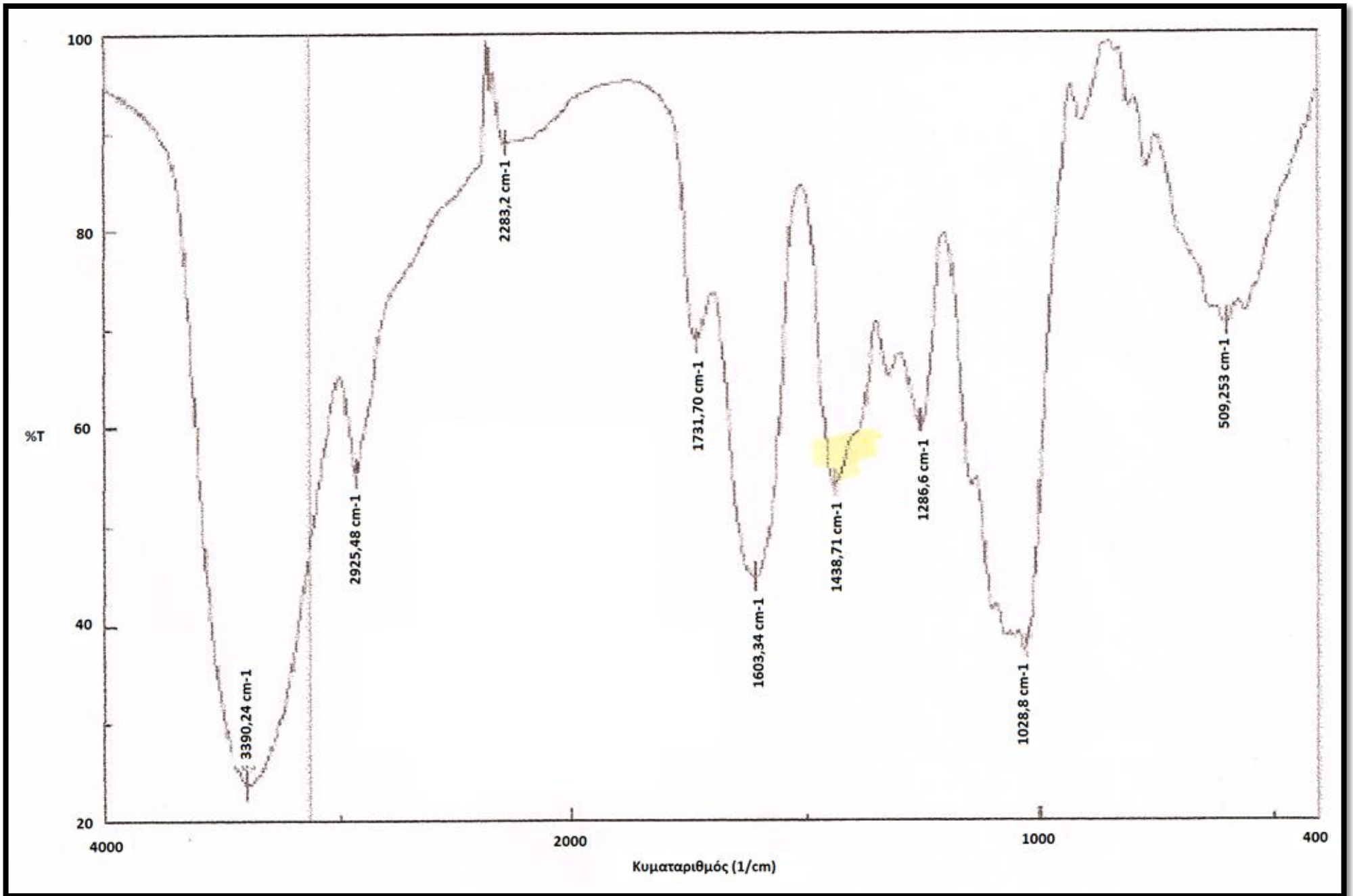
Φάσματα Ενόργανης Ανάλυσης



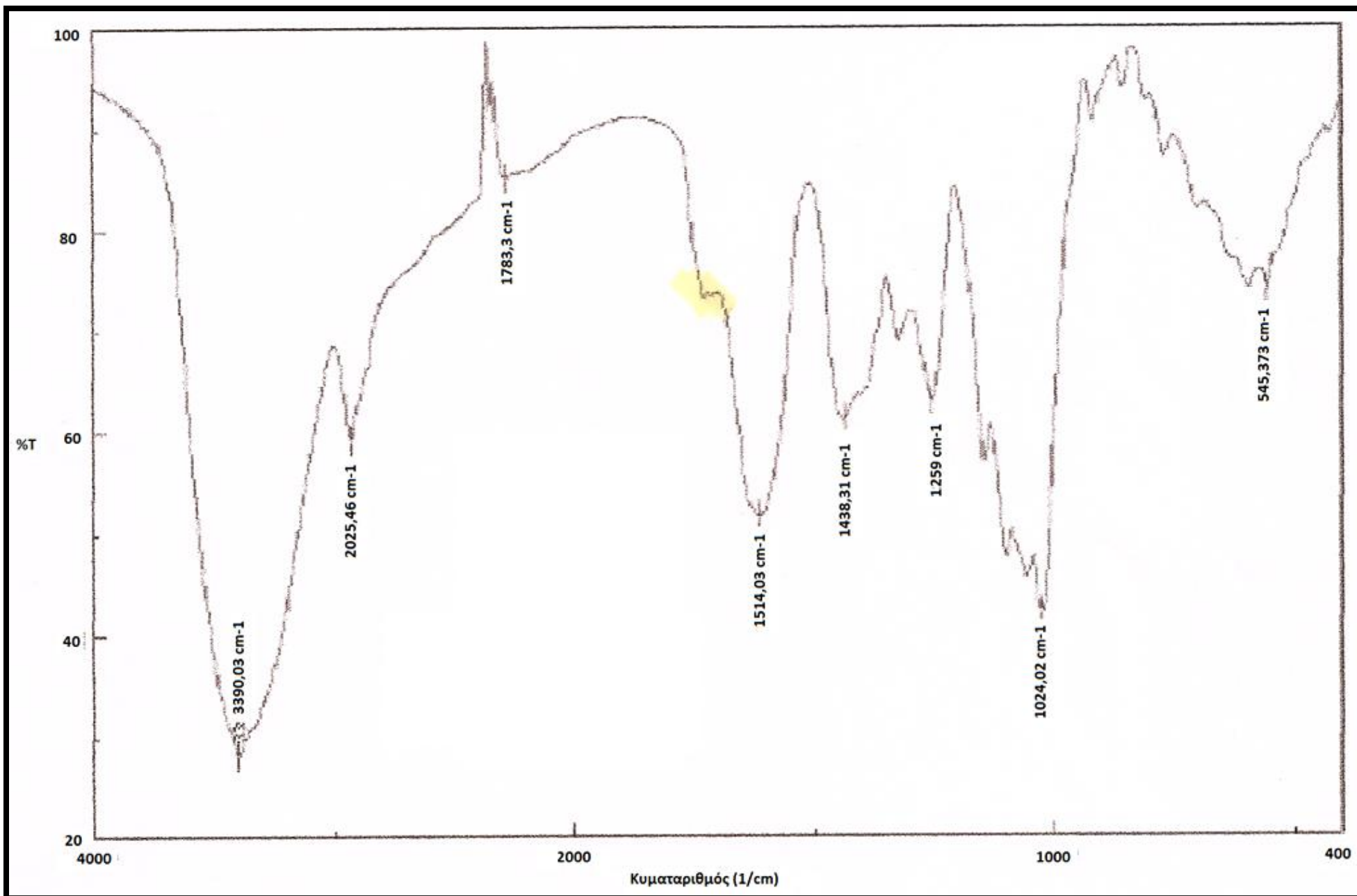




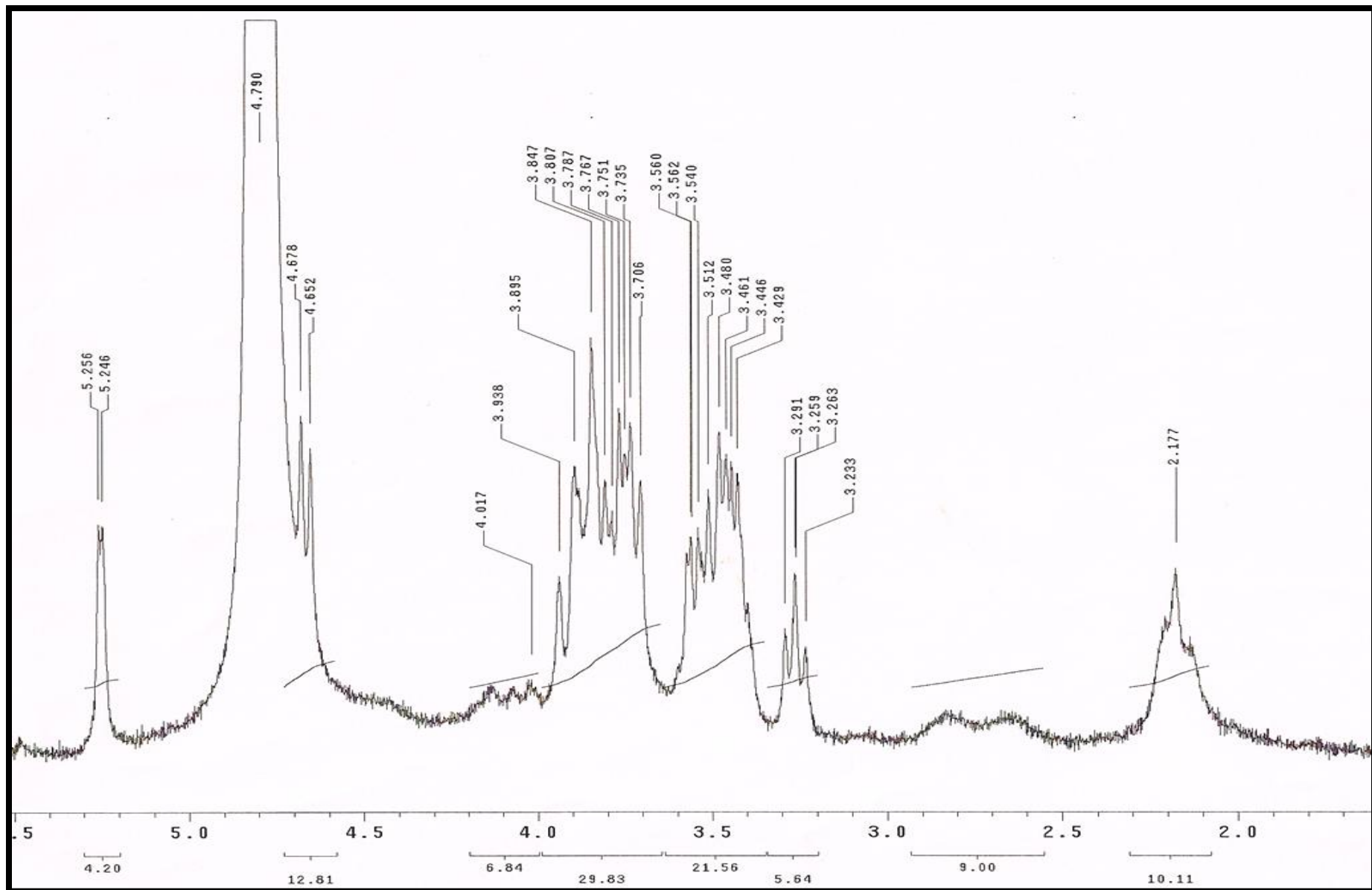
**Διάγραμμα 1α:** Φάσμα FTIR λυοφιλωμένης σκόνης *Aloe barbadensis* Miller



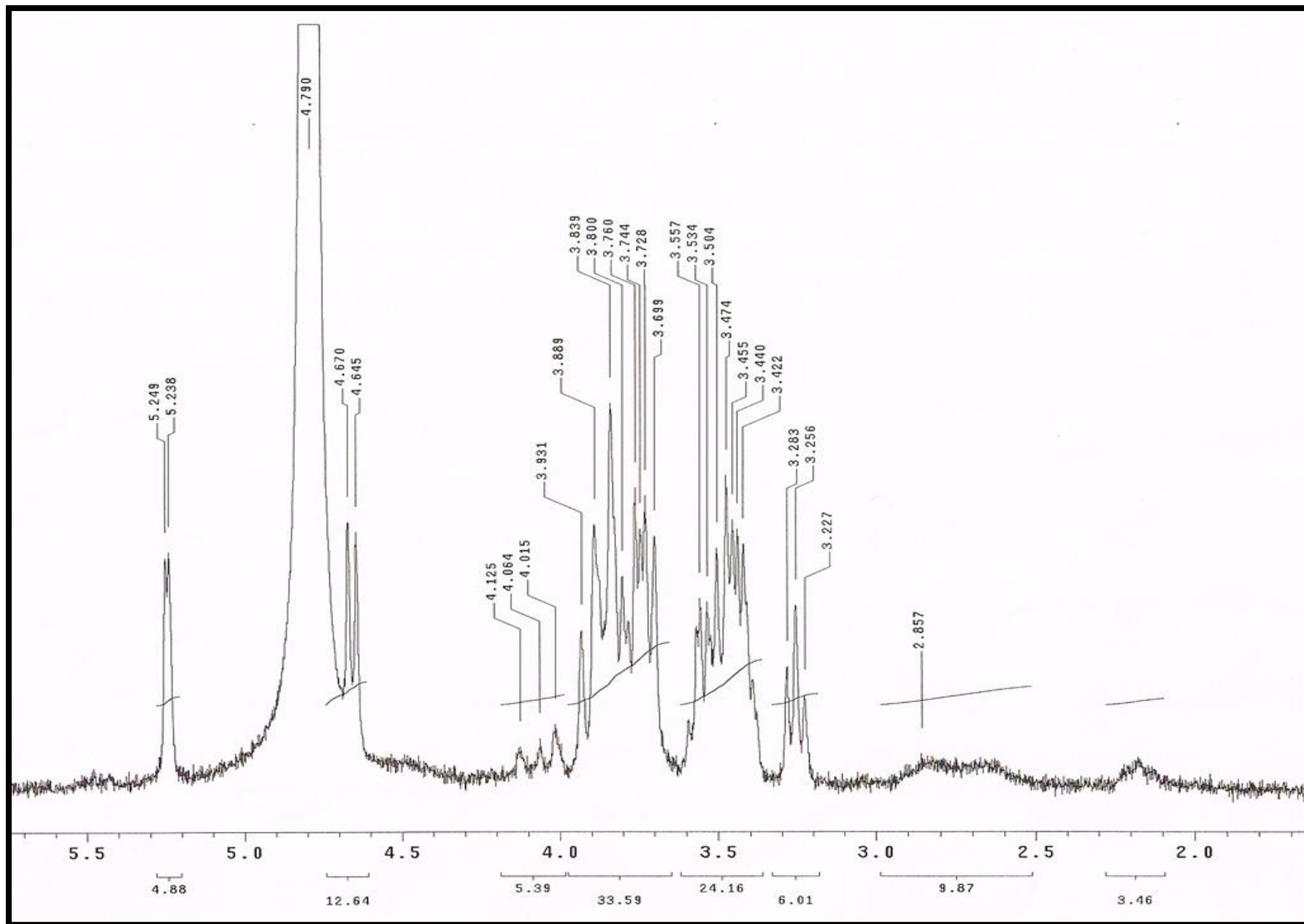
**Διάγραμμα 1β:** Φάσμα FTIR σκόνης *Aloe barbadensis* Miller σε ξήρανση υπό αέρα



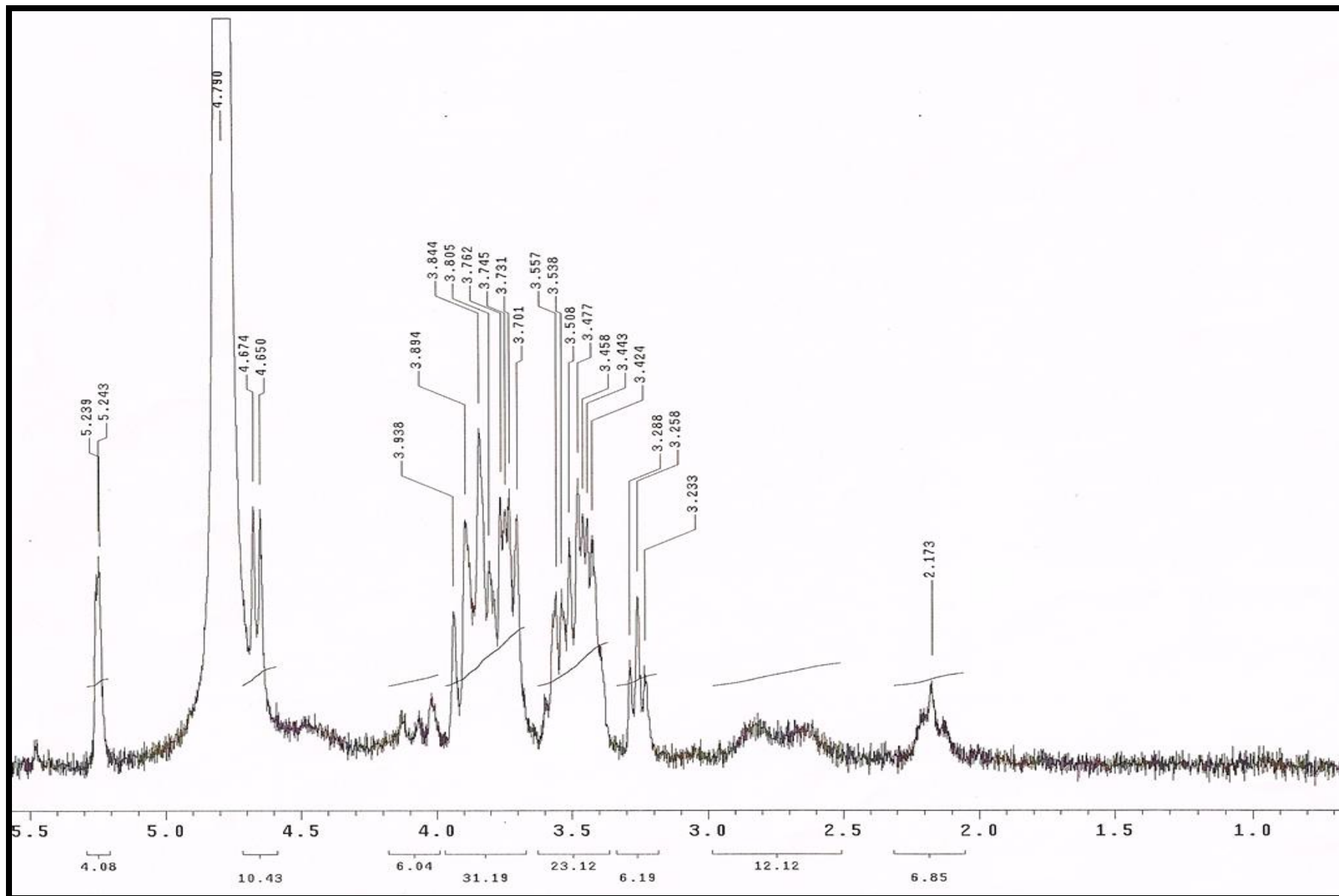
**Διάγραμμα 1γ:** Φάσμα FTIR σκόνης *Aloe barbadensis* Miller σε ξήρανση υπό κενό



**Διάγραμμα 2α:** Φάσμα NMR λυοφιλωμένης σκόνης *Aloe barbadensis* Miller



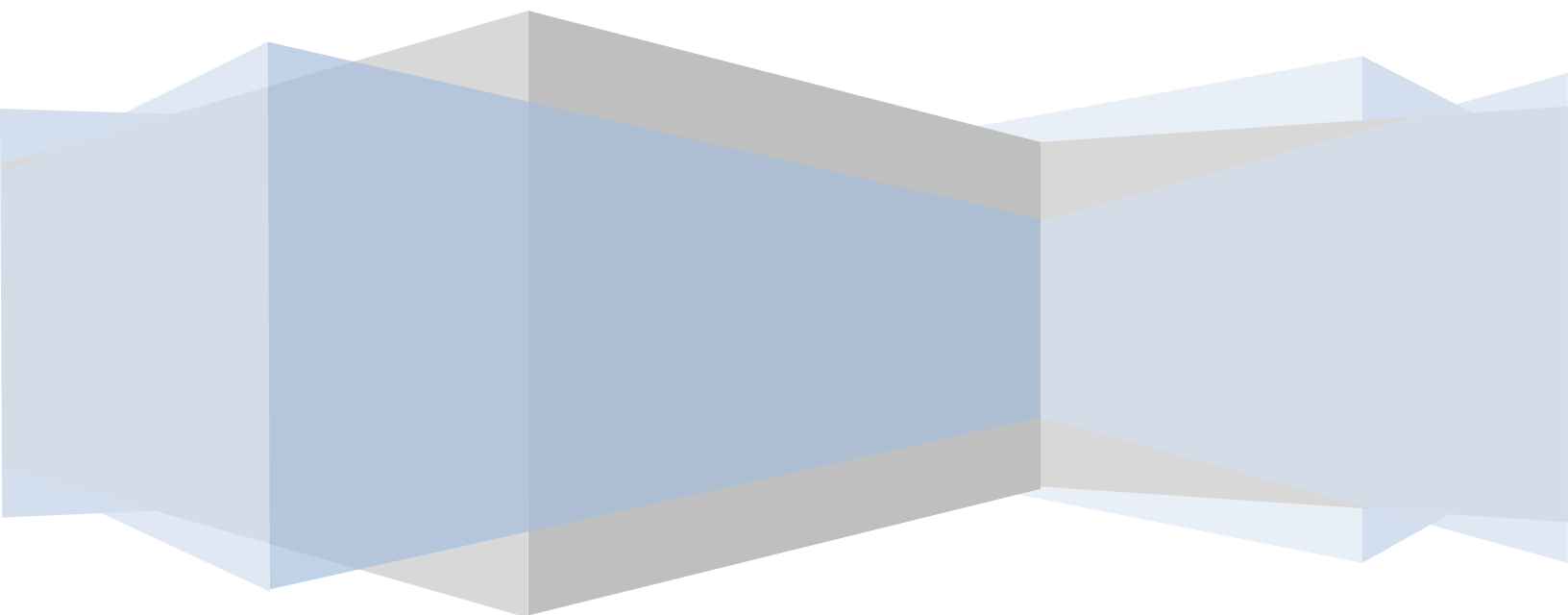
**Διάγραμμα 2β:** Φάσμα NMR σκόνης *Aloe barbadensis* Miller σε ξήρανση υπό αέρα



**Διάγραμμα 2γ:** Φάσμα NMR σκόνης *Aloe barbadensis* Miller σε ξήρανση υπό κενό

# Παράρτημα 2

Οργανολογία-Διαλύτες-Αντιδραστήρια



## 1. Όργανα

- Για την ξήρανση και παραγωγή των σκονών χρησιμοποιήθηκαν:

Ξηραντήρας υπό κατάψυξη	GT2 Leybold Heraeus
Ξηραντήρας κενού	Gallenkamp Vacuum Oven
Ξηραντήρας αέρα	Thermowatt
Επιχρυσωτής	Emitech SC7620 Sputer Coater
Ζυγός	Kern

- Για την ενόργανη ανάλυση ήταν τα εξής:

FTIR	Jasco FTIR 4200
Πρέσα	Specac
ICP-AES	Perkin Elmer Optical Emission Spectrometer Optima 7200 DV
NMR	Varian Gemini 300 MHz
SEM	Quanta 200 της FEI συνδυασμένο με φασματόμετρο ακτινών X ενεργειακής διασποράς-EDAX
Οπτικό μικροσκόπιο	Leica Microsystems

- Για τα αντιοξειδωτικά:

Φασματόμετρο αντιοξειδωτικών	Helios UV Visible Spectrophotometer
Αναλυτικός ζυγός	Precisa 160 A
Φυγόκεντρος	Thermo Scientific Heraeus, Megafuge 16 R Centrifuge

- Για την παρασκευή χυμών:

Αναδευτήρες	Velp Scientifica APE Heating Magnetic Stirrer
Διαθλασίμετρο (ολικά στερεά)	Abbe Refractometer

## 2. Διαλύτες- Αντιδραστήρια

Τα υλικά γενικά ήταν :

Methanol	Sigma-Aldrich, 603-001-00-X, 67-56-1
DPPH-radical	Aldrich, 257621
KBr	Sigma-Aldrich, 221864